

ALTERNATIVA DE PROTOCOLO PARA OBTENÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) EM EQUINOS

Ana Luísa Moreira Carneiro ¹

Gabriela Dowich ²

Geórgia Camargo Góss ³

Luís Felipe Jaenisch Lagreca ⁴

Caroline Frizzo Bataglin ⁵

Claudia Acosta Duarte ⁶

Resumo:

O plasma rico em plaquetas (PRP) é um concentrado plaquetário que tem uma concentração de plaquetas acima do normal. Ele vem sendo utilizado cada vez mais devido aos satisfatórios resultados na terapia regenerativa de lesões tendíneas e ligamentares em equinos, uma vez que as plaquetas exercem função indispensável na cicatrização através dos diversos fatores de crescimento. Para o protocolo alternativo de PRP com dupla centrifugação foram utilizados dois animais com lesões tendíneas e ligamentares. Primeiramente, foi coletado sangue para hemograma para realização de contagem de plaquetas no sangue total. O sangue coletado para o procedimento de PRP ficou descansando por cinco minutos previamente a primeira centrifugação de dez minutos. Após a primeira centrifugação, a amostra ficou descansando por mais dez minutos e, em seguida, foi pipetado 2/3 do plasma superior (pobre em plaquetas), que foi desprezado. O terço restante foi pipetado para outro tubo e encaminhado novamente a centrifuga por dez minutos. A metade superior do plasma foi descartada, a quantidade que ficou no tubo passou por contagem de plaquetas, considerada como aceitável quando o resultado for três a cinco vezes maior do que a contagem plaquetária obtida no sangue total. Com a realização deste novo protocolo, os resultados obtidos foram satisfatórios, ambas amostras superaram os valores necessários para aplicação. Presumiu-se que o tempo de descanso do centrifugado e o tempo de centrifugação de cada ciclo, foram etapas importantes para obtenção do resultado satisfatório. Assim, além de ser facilmente exequível, em comparação com outros protocolos complexos e que demandam maior tecnificação, foram obtidos bons resultados, vislumbrando sua aplicabilidade na Medicina Veterinária.

Palavras-chave: PRP, EQUINO, PROTOCOLO

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

ALTERNATIVA DE PROTOCOLO PARA OBTENÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) EM EQUINOS

¹ Aluno de graduação. analumoreiravet@gmail.com. Autor principal

² Outro. dowichgabriela@gmail.com. Co-autor

³ Outro. gecagoss@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de graduação. luisfelipelagreca@gmail.com. Co-autor

⁵ Aluno de graduação. carolinefrizzob@gmail.com. Co-autor

⁶ Docente. claudiaduarte@unipampa.edu.br. Orientador



ALTERNATIVA DE PROTOCOLO PARA OBTENÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) EM EQUINOS

1. INTRODUÇÃO

O plasma rico em plaquetas (PRP) é, por definição, um volume de uma fração de plasma de sangue autólogo que tem uma concentração de plaquetas acima dos níveis normais (Marx, 2001). As plaquetas são fragmentos celulares, anucleadas, originadas da linha megacariocítica da medula através da trombopoiese. Na circulação, sua vida média é de oito a onze dias. Essas células possuem diversas funções e, uma delas é atuar frente a lesões, liberando fatores de crescimento presentes nos alfa-grânulos plaquetários que, são proteínas com função de estimular a proliferação celular (Marx, 2004). Sendo os principais, o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento insulínico tipo 1 (IGF-1), fibroblástico (FGF) e fator de crescimento transformador beta 1 (TGF – BETA 1). O uso do PRP visa potencializar e acelerar a regeneração e a cicatrização tecidual (Jann et al., 2004), pois nele pode conter cerca de três a cinco vezes mais plaquetas que os níveis fisiológicos (Marx, 2000). A utilização dessa biotécnica vem crescendo devido a sua alta capacidade regenerativa devido aos fatores de crescimento liberados pelas plaquetas e ao baixo custo do procedimento, além de ser minimamente invasivo e de fácil obtenção. Por isso, vários protocolos vêm sendo elaborados. O objetivo do presente trabalho foi de descrever um protocolo alternativo para o processamento de PRP, utilizado como terapia regenerativa no tratamento de lesões.

2. METODOLOGIA

Neste protocolo de obtenção do PRP, foram utilizados dois equinos machos, adultos, um da raça Crioula (Animal 1) e outro da raça Puro Sangue Inglês (Animal 2), ambos pacientes do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Pampa com lesões ligamentares e tendíneas, respectivamente. A primeira etapa consistiu em coletar 4ml de sangue dos animais em tubos de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), para realização de contagem de plaquetas no sangue total. A segunda etapa consistiu em coletar 25 ml de sangue em tubos de citrato de sódio. As amostras foram levadas ao laboratório de análises clínicas e ficaram descansando durante cinco minutos previamente a primeira centrifugação. Este processo foi realizado em uma centrífuga Novatecnica NT 812 800g por dez minutos a 120g, com o objetivo de separar o sangue em três partes, o plasma, a capa leucocitária e a massa eritrocitária. Após a primeira centrifugação, o sangue permaneceu descansando por dez minutos e, em seguida, foi pipetado cerca de 2/3 do plasma superior (plasma pobre em plaquetas), que foi desprezado. O terço restante foi

pipetado para outro tubo sem anticoagulante. Nesta etapa tomou-se cuidado para pegar o mínimo de hemácias possível. A segunda centrifugação foi realizada a partir deste novo tubo por dez minutos a 240g. Foi retirada a metade superior do plasma que foi descartada. A metade restante foi homogeneizada para que fosse realizada a contagem de plaquetas, considerada como aceitável quando esta for três a cinco vezes maior do que a contagem de plaquetas obtidas no hemograma.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi utilizado o PRP como terapia regenerativa nestes animais por este ser um método bastante eficaz na aceleração da reparação tecidual e por possuir baixo custo (Nikodales & Janses, 2008). Esta terapia tem ampla aplicabilidade, sendo indicada em casos de animais com lesões tendíneas e ligamentares e no tratamento de feridas. Também há relatos de sua utilização na terapia da laminite equina e em patologias reprodutivas da fêmea equina (Maia, 2008; Carter et al, 2003; Carmona et al., 2012; Reghini 2013). Nos animais utilizados neste estudo, o PRP foi aplicado em lesões de origem tendínea e ligamentar, afecções incluídas nas indicações do uso dessa biotécnica.

Mesmo considerando suas vantagens e os inúmeros estudos desta terapia na medicina equina, não há descrição de um protocolo padrão para esta espécie, pois variações individuais e de técnica podem interferir no valor final do concentrado de plaquetas (Carmona, 2011). Os resultados obtidos foram satisfatórios. No animal 1, o número de plaquetas do sangue total foi de 200.000g/dl e no valor do PRP foi de 1.600.000g/dl. Já no animal 2, o valor de plaquetas no sangue total foi de 97.000g/dl, obtendo-se 347.000g/dl de plaquetas no concentrado. A biotécnica obteve os resultados esperados, onde os valores do concentrado plaquetário superaram os valores necessários para poder ser realizada a aplicação, que deve ser de três a cinco vezes maior que a quantidade de plaquetas do sangue total (Reghini, 2013).

Para obtenção do PRP, deve ser utilizado sangue total coletado em tubos de citrato de sódio, uma vez que esse anticoagulante preserva a integridade da membrana das plaquetas (Marx, 2000). A escolha de utilizar plasma e não o soro sanguíneo se deve ao fato de que o soro é uma porção líquida translúcida do sangue que sobra após a remoção dos eritrócitos e proteínas do coágulo e que é pobre em plaquetas (FOSTER et al., 2009). As lesões onde o PRP obtido através desta técnica foi aplicado cicatrizaram e as propriedades biomecânicas do local lesionado foram restauradas de forma satisfatória, permitindo que os animais tratados retornassem ao trabalho e ao esporte. A melhora no prognóstico esportivo de equinos tratados com PRP concorda com Maia et al. (2009), Oyama et al. (2004), que utilizaram de técnica com duas centrifugações

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não há um método padrão para a obtenção do PRP no sangue equino havendo protocolos complexos e que demandam muita tecnificação. Este protocolo com dupla centrifugação teve uma contagem plaquetária adequada, provavelmente, devido ao tempo de duração de cada ciclo e do período de descanso ao qual o centrifugado foi submetido. Assim, além de ser facilmente exequível, foi obtido bons resultados, vislumbrando sua ampla aplicabilidade na Medicina Veterinária.

5. REFERÊNCIAS

CARMONA, J.U. et al . Use of autologous platelet concentrates for the treatment of musculoskeletal injuries in the horse. 2006. 91f. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária. Universidade Autônoma de Barcelona

FANTINI, P. Plasma rico em plaquetas: padronização em equídeos, criopreservação e efeito terapêutico na desmite do ligamento supraespinhoso de equinos. Tese de Doutorado apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 83p, 2014.

PARDO, M.; SACCO, S.R.; SURIAN, C.R.S.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. Principais usos do plasma rico em plaquetas na Medicina Veterinária. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Ano IX, n.18, 2012.

RAJÃO, M.D. Influência da ativação do plasma rico em plaquetas no tratamento de tendinite em equinos. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 65p, 2012.

SALIM, D.P.V. Plasma rico em plaquetas: uso em lesões tendíneas em equinos. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 28p, 2012.