

PADRONIZAÇÃO DE TÉCNICAS BIOQUÍMICAS PARA AVALIAÇÃO DE CONCENTRADO DE PLAQUETAS CANINO



paz no plural



CECILIA CAPACCHI DALL'AGNOL, FÉLIX H. D. GONZÁLEZ

Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO

A hemoterapia veterinária tem evoluído muito nos últimos anos. A transfusão de concentrado de plaquetas (CP) tem sido cada vez mais requisitada em medicina veterinária, porém, ainda são escassas as pesquisas com CP canino. O CP é utilizado principalmente na prevenção e tratamento de hemorragias espontâneas em pacientes com trombocitopenia severa, e também em casos de intervenção cirúrgica em pacientes com risco de sangramentos devido ao baixo número de plaquetas^{1,2}. Dentre as vantagens da administração de CP está principalmente o menor volume em relação ao sangue total fresco ou ao plasma rico em plaquetas (PRP). Durante o período de estoque, as plaquetas mantêm seu metabolismo de forma ativa, resultando em mudanças estruturais e funcionais que culminam em perda de viabilidade e baixo sucesso transfusional^{3,4}. Não existe um teste único que possa avaliar com precisão a qualidade e viabilidade plaquetária, de modo que atualmente são utilizados diversos testes em conjunto na tentativa de assegurar que o banco de sangue disponha de um produto de qualidade⁵⁻⁷. Para fins de validação, qualificação e composição do CP são recomendados testes adicionais aos comumente utilizados antes da utilização da bolsa, que revelem alterações na morfologia celular, no metabolismo e na ativação plaquetária, como expressão de marcadores de ativação, função e apoptose plaquetária⁸.

OBJETIVO!

Padronizar técnicas de avaliação do CP canino relatando as mudanças observadas durante 5 dias de armazenamento.

MATERIAIS E MÉTODOS

N= 22



CP avaliados nos dias 1, 3 e 5 após a coleta

TESTES:

- Controle de qualidade (volume, contagem de leucócitos, de plaquetas, de eritrócitos e hematócrito);
- Avaliação do metabolismo plaquetário (pO₂, pCO₂, pH, bicarbonato, glicose, lactato, ATP);
- Morfologia plaquetária (MPV, PDW, *swirling*);
- Função plaquetária (agregometria);
- Ativação plaquetária (CD62P);
- Apoptose e necrose celular (Anexina V, Caspase, lactato desidrogenase);
- Lesão mitocondrial (Mitotracker, JC-1);
- Análise microbiológica (dia 5).

RESULTADOS

Tabela 1. Metabolismo plaquetário (média ± desvio padrão) in vitro de plaquetas caninas armazenadas por 5 dias.

Parâmetros	Dia 1	Dia 3	Dia 5
PQT (x 10 ¹⁰ /unidade)	7,4882 ± 2,39	7,6877 ± 2,39	7,4191 ± 2,79
MPV (fL)	11,5136 ± 1,22 a	12,4818 ± 4,53 a	13,1682 ± 6,58 b
PDW (fL)	12,9609 ± 7,90 a	13,9500 ± 5,46 a	15,0936 ± 1,98 b
pH (22°C)	6,9682 ± 0,38 a*	6,4511 ± 0,55 b	5,9445 ± 0,66 c*
pO ₂ (mm Hg ⁻¹)	107,6 ± 32,19 a	115,9091 ± 30,99 a	140,1364 ± 21,84 b
pCO ₂ (mm Hg ⁻¹)	43,7 ± 43,7 a*	25,4864 ± 25,48 b*	9,5045 ± 9,50 c*
Bicarbonato (mmol L ⁻¹)	11,88 ± 1,66 a*	3,53 ± 2,77 b*	0,595 ± 1,16 c*
Glicose (mg/dL)	456,772 ± 41,38 a*	338,045 ± 79,63 b*	247,272 ± 100,46 c*
Lactato (mg/dL)	6,2818 ± 2,59 a*	16,3455 ± 7,17 b	25,4227 ± 11,20 c*
ATP (umol10 ¹¹ plaqL ⁻¹)	1,7268 ± 0,64 a*	1,2431 ± 0,33 b	0,9658 ± 0,32 c*
CD61 (%)	91,4677 ± 4,75	93,3850 ± 4,32	91,8436 ± 5,69
CD62P (%)	2,7245 ± 1,50	2,6145 ± 3,58	2,6386 ± 2,22
LDH (U/L)	237,9091 ± 159,07	404,6818 ± 98,49	630,0 ± 162,07
Anexina V (%)	2,3618 ± 2,49	1,5721 ± 1,12	3,549 ± 4,21
Caspase (%)	10,1745 ± 11,45	6,6564 ± 5,89	12,0295 ± 13,86
ΔΨm MT Red (%)	82,0486 ± 10,30 a*	76,7168 ± 15,23 a	51,1068 ± 32,45 b*
MT Green (%)	9,4691 ± 6,07 a	14,4136 ± 9,31 a	34,2309 ± 32,25 b
ΔΨm JC-1 (%)	91,8209 ± 3,90 a	84,2395 ± 20,48 a	55,3773 ± 37,29 b

PQT: número de plaquetas; ΔΨm: potencial de membrana mitocondrial; MT: Mitotracker; ATP: trifosfato de adenina; LDH: lactato desidrogenase; MPV: volume médio plaquetário.

Letras minúsculas diferentes na mesma linha representam valores significativamente diferentes (p < 0,05).

*Representa valores significativamente diferentes na mesma linha (p < 0,001).

Todas as bolsas apresentaram-se negativas quanto ao isolamento de micro-organismos e tiveram diminuição significativa do *swirling* no final do período estudado. Não foram observadas mudanças nos testes de exposição de fosfatidilserina e caspase durante o período avaliado.

CONCLUSÃO

De maneira geral, as plaquetas caninas sob condições de armazenamento apresentam comportamento similar àquele observado em plaquetas humanas, como diminuição do pH, glicose, ATP, *swirling* e aumento da concentração de lactato; além das mudanças no ΔΨm e *swelling* mitocondrial, esta nunca antes descritas em plaquetas caninas. As sondas MitoTracker Green e MitoTracker Red podem ser utilizadas na avaliação de lesão mitocondrial de plaquetas com resultados fidedignos. Com este trabalho, é possível ter dados concretos a respeito das alterações metabólicas ocorridas ao longo do período de armazenamento e propor parâmetros de qualidade de CP mais apropriados e viáveis de serem aplicados na rotina hemoterápica.

REFERÊNCIAS

- 1 CALLAN, M. B.; APPLEMAN, E. H.; SACHAIS, B. S. Canine platelet transfusions. J Vet Emerg Crit Care (San Antonio), v. 19, n. 5, p. 401-15, Oct 2009. ISSN 1476-4431.
- 2 SCHUBERT, P.; DEVINE, D. V. Towards targeting platelet storage lesion-related signaling pathways. Blood Transfus, v. 8 Suppl 3, p. s69-72, Jun 2010. ISSN 1723-200.
- 3 TYNNGARD, N. Preparation, storage and quality control of platelet concentrates. Transfusion and Apheresis Science, v. 41, n. 2, p. 97-104, 10// 2009. ISSN 1473-0502.
- 4 OHTO, H.; NOLLET, K. E. Overview on platelet preservation: Better controls over storage lesion. Transfusion and Apheresis Science, v. 44, n. 3, p. 321-325, 6// 2011. ISSN 1473-0502.
- 5 TYNNGARD, N. et al. The quality of platelet concentrates produced by COBE Spectra and Trima Accel cell separators during storage for 7 days as assessed by in vitro methods. Transfusion, v. 48, n. 4, p. 715-22, Apr 2008. ISSN 0041-1132.
- 6 ZHANG, J. G. et al. Buffy-coat platelet variables and metabolism during storage in additive solutions or plasma. Transfusion, v. 48, n. 5, p. 847-56, May 2008. ISSN 0041-1132.
- 7 DEVINE, D. V.; SERRANO, K. The Platelet Storage Lesion. Clinics in Laboratory Medicine, v. 30, n. 2, p. 475-487, 6// 2010. ISSN 0272-2712.
- 8 MAURER-SPUREJ, E.; CHIPPERFIELD, K. Past and future approaches to assess the quality of platelets for transfusion. Transfus Med Rev, v. 21, n. 4, p. 295-306, Oct 2007. ISSN 0887-7963.