

PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS EM EQUÍDEOS

Resumo

Em função das dificuldades encontradas em alguns casos clínicos para a cicatrização adequada de feridas, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) caracteriza terapêutica promissora para acelerar e estimular o processo de cura em lesões cutâneas. Este tratamento consiste na utilização de um concentrado de plaquetas obtido através da centrifugação do sangue e posterior obtenção de plasma do paciente, e possui as vantagens de estimular a cicatrização, sem toxicidade, sendo inclusive incapaz de promover imunorreação.

Palavras-chave: ferida; reparação; terapia

Introdução/Justificativa

O interesse de desenvolver uma pesquisa nessa área está na relevante casuística de lesões cutâneas em animais atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, e pelo fato de que as pesquisas que trazem o uso do plasma rico em plaquetas (PRP) nas reparações teciduais, têm apresentado excelentes resultados, além de tratar-se de uma alternativa de baixo custo e fácil preparo.

O plasma rico em plaquetas (PRP) é um produto biológico, utilizado para a promoção de melhor reparo tecidual, por meio dos fatores de crescimento presentes em sua composição. Essa terapia possui diversas vantagens sobre os tratamentos convencionais, por proporcionar um tratamento personalizado, pouco invasivo e com aceleração da recuperação funcional, além de oferecer baixo risco devido a sua natureza autóloga (Anitua et al., 2012; Textor e Tablin, 2013).

É um hemoderivado, utilizado terapeuticamente, de fácil obtenção, com boa relação custo/benefício para se obter altas concentrações de fatores de crescimento, melhorando a reparação e regeneração de tecidos (Nikolidakis & Janses 2008). Adicionalmente tem sido bastante estudado na medicina equina, sendo empregado principalmente em enfermidades como tendinite (Maia et al. 2009), desmiste, osteoartrite (Carmona et al. 2009) e cicatrização de feridas (De Rossi et al. 2009), entretanto, ainda não foi estabelecido um protocolo padrão para a sua obtenção através da centrifugação do sangue total em todos os equídeos.

As plaquetas armazenam fatores de crescimento, que são peptídeos sinalizadores responsáveis pela regulação do metabolismo celular. Esta regulação ocorre pelas vias de sinalização intracelular através da interação com um complexo de receptores de superfície celular. Isto resultará no aumento da transcrição dos fatores e produção de proteínas que desencadeiam a proliferação e diferenciação celular, além do aumento da produção da matriz extracelular (Dahlgren et al. 2001) e estimulam ainda a angiogênese facilitando o processo de reparação tecidual (Bosch et al. 2011).

Por fim, foi elaborado um estudo prévio para aquisição de informações acerca dos diferentes protocolos e preparo do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) em equinos e, com base nessas referências, selecionou-se um desses protocolos, que deverá ser adotado neste estudo, sendo de relevância primordial para a execução do projeto, ademais, o trabalho auxiliará discentes da graduação em Medicina Veterinária e pós-graduandos a melhor compreender o processo de cicatrização de feridas cutâneas em equídeos com componentes do próprio indivíduo, a partir das análises laboratoriais propostas.

Objetivos

Geral:

Analisar a eficácia do PRP (Plasma Rico em Plaquetas) na cicatrização de feridas cutâneas em equídeos.

Específicos:

Traçar perfil epidemiológico de dados dos animais atendidos no HOVET, com lesões de pele, para estabelecer uma relação causal;

Determinar se os protocolos adotados para obtenção de PRP, nos equinos, são eficazes para asininos e muars.

Observar se há aceleração na reparação tecidual de lesões cutâneas em todas as espécies de equídeos quando se utiliza o PRP.

Metodologia:

ANIMAIS E LOCAL DE ANÁLISES

Para este estudo, serão utilizados equídeos alocados ou atendidos no setor de grandes animais do Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), sob os cuidados dos médicos veterinários residentes e corpo técnico. O material coletado será analisado no laboratório de Patologia Clínica situado no Hospital Veterinário e Laboratório Didático de Patologia Clínica e Farmacologia Geral da UFERSA.

Serão utilizados, ao todo, vinte animais (n=20) divididos, de acordo com a casuística de atendimento, e que possuam lesões cutâneas, entre as espécies equina, asinina e muar, para verificação da eficiência do PRP na melhor cicatrização.

EXAME FÍSICO

Os animais serão avaliados em local apropriado, utilizando brete de contenção. Serão analisados os valores de frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR) com auxílio de estetoscópio, grau de desidratação por meio da avaliação da exsiccose, tempo de preenchimento capilar (TPC) por pressão na mucosa oral (gengiva) e temperatura retal (TR) utilizando termômetro clínico digital.

COLETA DE SANGUE

Os animais serão submetidos à venopunção jugular para obtenção de 30 ml de sangue total, por animal, que serão subdivididos em seis frascos, contendo citrato de sódio a 3,2%, para a centrifugação e obtenção do plasma rico em plaquetas. Os frascos serão identificados e encaminhados ao laboratório.

ANÁLISE LABORATORIAL

As amostras de sangue obtidas em tubos com citrato de sódio serão levadas à centrífuga para a obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP).

Dentre os diversos tipos de anticoagulantes o citrato de sódio foi o escolhido por preservar a integridade da membrana das plaquetas, sendo o mais adequado no preparo do PRP (Marx, R.E., 2000, Trindade-Suedam et al. 2007).

As amostras serão obtidas em tubos com citrato de sódio e serão submetidas à centrifugação, por dois momentos, e com forças de centrifugação relativa (FCR) diferentes. Com uma força de 120g no primeiro momento, e 240g no segundo momento, ambos com duração de 5 minutos, levando em consideração que esse foi o protocolo ideal para a obtenção do plasma rico em plaquetas

(PRP) mais concentrado e com a menor concentração de leucócitos possível, a fim de evitar seus efeitos catabólicos *in vivo*, em se comparado a outros protocolos, segundo Carmona et. al 2007.

Ao fim da primeira centrifugação será descartado o botão leucocitário e as hemácias sedimentadas e, após cinco minutos de descanso ao abrigo da luz, o plasma remanescente será novamente centrifugado conforme a FCR e tempo estabelecidos no protocolo supracitado. Após a segunda centrifugação será descartado 50% do plasma da porção superior, ou seja, plasma pobre em plaquetas (PPP). Será realizada a quantificação em câmara hematimétrica de Neubauer utilizando o líquido de Brecher (Oxalato de amônio a 1%) como diluente para a contagem de plaquetas e líquido de Türk para a contagem de leucócitos (Thrall, M.A., 2007).

Após o preparo será realizada a aplicação do PRP, a cada três dias, sobre a lesão e estabelecido um protocolo padrão para tratamento dessas lesões, que se aplicará a todos os indivíduos. O acompanhamento e evolução da cicatrização serão devidamente registrados para posterior análise quanto à eficiência do tratamento com PRP.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística, será utilizado o teste comparação de médias. Permitindo comparar resultados de tratamento dos animais entre si. Se ocorrer distribuição não-paramétrica dos dados, os mesmos serão analisados pelo Teste de Kruskal-Wallis. A significância adotada será $p < 0,05$.

REFERÊNCIAS

ANITUA, E.; ALKHRAISAT, M. H.; ORIVE, G. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. J of Control Rel, v. 157, p. 29-38, 2012.

BOSCH G., MOLEMAN M., BARNEVELD A., VAN WEEREN P.R. & VAN SCHIE H.T.M. The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions. Scandinavian journal of medicine & science in sports, v. 21, n. 4, p. 554-561, 2011.

CARMONA J.U., ARGÜELLES D., CLIMENT F. & PRADES M. Autologous platelet concentrates as a treatment of horses with osteoarthritis: a preliminary pilot clinical study. J. Equine Vet. Sci. 27(4):167-170, 2007.

CARMONA J.U., LÓPEZ C. & PRADES M. Uso de concentrados autólogos de plaquetas obtenidos mediante el método del tubo como tratamiento de artropatías en caballos. Arch. Med. Vet. 41:175-179, 2009.

DAHLGREN L.A., NIXON A.J. & BROWER-TOLAND B.D. Effect of betaaminopropionitrile on equine tendon metabolism in vitro and on effects of insulin-like growth factor-I on matrix production by equine tenocytes. Am. J. Vet. Res. 62(10):1557-1562, 2001.

DE ROSSI R., COELHO A.C.A.O., MELLO G.S., FRAZÍLIO F.O., LEAL C.R.B., FACCO G.G. & BRUM K.B. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. Acta Cirur. Bras. 24:276-281, 2009.

MAIA L., SOUZA M.V., JÚNIOR J.I.R., OLIVEIRA A.C., ALVES G.E.S., BENJAMIN L.A. & MOREIRA J.C.L. Platelet-Rich plasma in the treatment of induced tendinopathy in horses: Histologic Evaluation. J. Equine Vet. Sci. 29(8):618-626, 2009.

MARX, R.E. Quantiication of growth factor levels using simpliied method of platelet-rich plasma gel preparation. J. Oral Maxillofac. Surg. 58:300-301, 2000.

NIKOLIDAKIS D. & JANSES J.A. The biology of platelet-rich plasma and it application in oral surgery: literature review. Tissue Eng. B, Rev. 14(3):249-258, 2008.

TEXTOR J. A., TABLIN F. Intra-articular use of a platelet-rich product in normal horses: clinical signs and cytologic responses. Vet Surg. v.42, p. 499-510, 2013.

THRALL M.A. Diagnóstico dos distúrbios hemorrágicos, p.170-187. In: Ibid. (Ed.), Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo, 2007.

TRINDADE-SUEDAM I.K., LEITE F.R.M., MORAIS J.A.N.D., LEITE E.R.M., MARCANTONIO E. & LEITE A.A. Avoiding leukocyte contamination and early platelet activation in platelet-rich plasma. J. Oral Implant. 33:334-339, 2007.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

Av. Francisco Mota, 572 – C. Postal 137 – Bairro Pres. Costa e Silva – Mossoró – RN – CEP: 59.625-900

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS EM EQUÍDEOS

Pesquisador responsável: Michelly Fernandes de Macedo

Telefone para contato: (84) 3317-8540 (ramal 1439) / (84) 99169-3100

Instituição/Departamento: Universidade Federal Rural do Semi-Árido/Departamento de Ciências Animais

Local da coleta de dados: Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia (HOVET)/UFERSA

Prezado(a) Senhor(a) _____,

- Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa de forma totalmente voluntária.
- Antes de concordar em participar desta pesquisa, é muito importante que você compreenda as informações e instruções que lhe foram repassadas.
- Os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas antes de você decidir participar.
- Você tem o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade e sem perder os benefícios aos quais tenha direito.

Objetivo do estudo: Analisar se o Plasma Rico em Plaquetas é eficiente na cicatrização de feridas cutâneas em equídeos.

Procedimentos: Sua participação nesta pesquisa consistirá apenas em autorizar a coleta de amostras de sangue para análises hematológicas e preparação do plasma rico em plaquetas, que auxiliarão no tratamento das lesões, além de responder aos questionamentos sobre histórico, sinais clínicos que o seu animal está e/ou esteve manifestando, bem como, possíveis tratamentos a que este esteja sendo ou foi submetido.

Benefícios: Esta pesquisa tentará determinar se o Plasma Rico em Plaquetas trará benefícios ao processo de tratamento e cicatrização de feridas cutâneas em equídeos. Esta conduta terapêutica irá auxiliar o clínico médico veterinário para acelerar o processo de cicatrização, bem como, resolução da lesão inicial, diminuindo assim o tempo de internação e tratamento do seu animal. A pesquisa não trará benefício direto para você.

Riscos: A participação nesta pesquisa não representará qualquer risco de ordem física ou psicológica para você ou para o seu animal. Para ele, pode haver um desconforto mínimo durante a realização da coleta de amostras, e manipulação da lesão para limpeza e cuidados diários, caso o animal fique agitado.

Custos/Reembolso para os participantes: Os participantes da pesquisa não arcarão com nenhum gasto decorrente da sua participação (questionário, exames laboratoriais e preparação do plasma rico em plaquetas do seu animal), assim como não receberão qualquer espécie de reembolso ou gratificação devido à participação na pesquisa. Os custos para tratamento e limpeza das lesões previamente estabelecidos pelo clínico médico veterinário, não serão modificados, no que diz respeito à técnica propriamente dita, nem tampouco no dispendio financeiro que teria independentemente do uso do PRP.

Sigilo: As informações fornecidas por você serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Os dados dos equídeos da pesquisa não serão divulgados de forma individual, mas sim como grupo, no que se refere a espécie, sexo, raça, idade e resultados obtidos ao final da pesquisa por meio de publicação de artigos científicos.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-
ÁRIDO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

Av. Francisco Mota, 572 – C. Postal 137 – Bairro Pres. Costa e Silva – Mossoró – RN – CEP:
59.625-900

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG _____, CPF _____, declaro que li as informações contidas nesse documento e fui devidamente informado(a) dos procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes e confidencialidade da pesquisa.

Concordo em participar da pesquisa e, portanto, autorizo a coleta das amostras de sangue do meu animal ESPÉCIE _____, NOME _____, IDADE _____, SEXO _____ e RAÇA _____.

Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade. Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo de Consentimento.

Mossoró/RN, _____ de _____ de _____

Assinatura do responsável