

Introdução

As plaquetas desempenham um papel importante na patogênese da trombose e da aterosclerose. Quando ativadas, as plaquetas interagem com o endotélio e células inflamatórias por ação da glicoproteína P-selectina (CD62p), contribuindo para os eventos isquêmicos trombo-embólicos. A ativação das plaquetas é seguida pela rápida expressão de CD62p na membrana citoplasmática e alterações no volume da plaqueta. O aumento do volume médio plaquetário (VPM) é um dos indicadores da ativação da plaqueta nas doenças vasculares, como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (AVC). As plaquetas reticuladas (PRs) são plaquetas jovens contendo retículo endoplasmático grosseiro e RNAm. A determinação do número de PRs é útil para monitorar a trombopoiese e o turnover das plaquetas. Em nosso estudo com pacientes dislipidêmicos, os resultados preliminares mostraram uma elevação na porcentagem de macroplaquetas (P-LCR*) em pacientes com altos níveis séricos de colesterol e/ou triglicérides.

Objetivo

Avaliar a alteração no volume e no grau de ativação das plaquetas (maduras e PRs) em pacientes dislipidêmicos.

Casuística e Métodos

Grupo 1 (n=9): colesterol total 240 mg/dL e/ou colesterol LDL >160 mg/dL

Grupo 2 (n=23): triglicérides >150 mg/dL

Grupo 3 (n=14): colesterol total 240 mg/dL e triglicérides >150 mg/dL

Grupo de controle: 26 indivíduos normolipidêmicos.

Contagem de plaquetas e determinação da porcentagem de macroplaquetas (P-LCR*): foram realizadas nas amostras de sangue coletadas com K₃EDTA pelo método de corrente direta, usando o analisador hematológico Sysmex XE-2100 (Sysmex, Japão). (Figura 1)

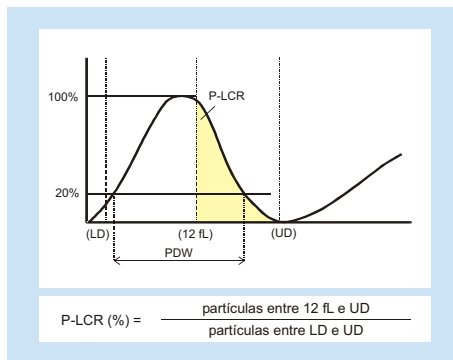


Figura 1. Determinação de P-LCR.

* Parâmetro disponível em todos os analisadores hematológicos Sysmex (Sysmex, Kobe, Japão).

* OBS: Apresentação oral no 41º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial e I Panamerican Congress of Atherosclerosis

Determinação de PRs: por citometria de fluxo as PRs foram determinadas em plasma rico em plaquetas (PRP) coletados com citrato de sódio (3,2%). As plaquetas foram marcadas usando anticorpos monoclonais anti CD41a- CyChrome (PE-Cy5) (Caltag, USA) e o *Thiazole Orange* (TO) como marcador do conteúdo de RNA (BD Biosciences, USA).

Determinação de PRs ativadas: foram determinadas por citometria de fluxo com uso dos anticorpos monoclonais anti CD62p ficoeritrina (RPE) (Caltag, USA), anti CD41a (CD41a-CyChrome (PE-Cy5) (Caltag, USA) e do TO. Os valores dos resultados foram relatados em porcentagem de eventos e pela intensidade média de fluorescência (IMF), de acordo com a expressão de P-selectina (CD62p⁺) e conteúdo de RNA (TO⁺).

Estatística: Foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis para identificar diferenças. Um valor de p<0,05 foi considerado significativo.

Resultados e Comentários

- A Tabela 1 mostra os resultados (mediana e intervalo) e a comparação entre os grupos. Nós não observamos diferença no número de plaquetas, mas os valores de VPM, PDW e P-LCR (Tabela 1 e Figura 2) foram significativamente mais elevados no grupo dislipidêmico do que no grupo controle (GC). Quando os pacientes foram analisados segundo o perfil lipídico, observou-se diferença entre o GC e os Grupos 1, 2 e 3, mas não entre os grupos de pacientes.
- A porcentagem de plaquetas ativadas mostrou-se elevada nos Grupos 1, 2 e 3 do que no GC. Entretanto, não houve diferença entre os grupos de pacientes (Tabela 1 e Figura 3).
- A porcentagem de PR foi mais alta nos Grupos 1, 2 e 3 do que no GC (Tabela 1 e Figura 4).
- Quando o grau de ativação de PR foi avaliado através do IMF das plaquetas CD62p⁺/ TO⁺, não foi observada diferença entre o GC e os pacientes dislipidêmicos (Tabela 1).
- Um maior número de macroplaquetas, PRs e plaquetas ativadas (CD62p⁺) nos pacientes com anomalias no perfil lipídico, sugere que o excesso de lipoproteínas pode promover a ativação celular e hiperagregação das plaquetas, aumentando o risco de eventos arterotrombóticos.

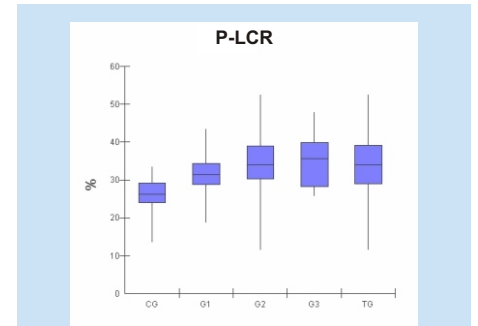


Figura 2. "Box plot" (mediana e quartis) da distribuição de P-LCR no controle e nos grupos de pacientes.

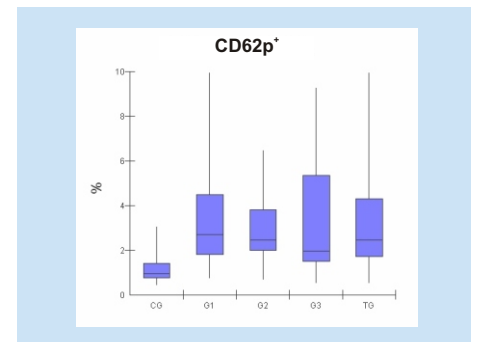


Figura 3. "Box plot" (mediana e quartis) da distribuição de plaquetas ativadas (%) no controle e nos grupos de pacientes.

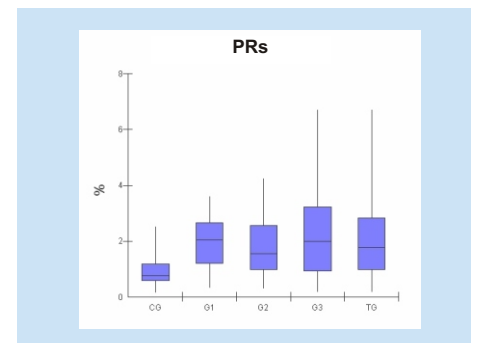


Figura 4. "Box plot" (mediana e quartis) da distribuição de plaquetas reticuladas (%) no grupo de controle e nos grupos de pacientes.

Parâmetros	CG (n=26) Mediana (Min.-Máx.)	GT (n=46) Mediana (Min.-Máx.)	G1 (n=9) Mediana (Min.-Máx.)	G2 (n=23) Mediana (Min.-Máx.)	G3 (n=14) Mediana (Min.-Máx.)
PLT (x 10 ⁹ /l)	232 (181-341)	230 (115-410)	249 (208-410)	220 (115-324)	237 (168-378)
VPM (fl)	10.2 (8.7-11.0)	11.0 * (8.4-13.3)	10.8 (9.3-12.1)	11.1 * (8.4-13.3)	11.2 * (10.1-12.6)
PDW (%)	11.2 (9.2-14.3)	13.6 * (8.9-19.0)	13.4 (10.0-15.4)	13.7 * (8.9-19.0)	14.8 (11.6-16.9)
P-LCR (%)	26.2 (13.6-33.5)	33.9 * (11.5-52.4)	31.5 (18.7-43.4)	34.0 * (11.5-52.4)	35.6 (25.7-47.9)
PRs%	0.76 (0.15-2.51)	1.78 * (0.19-6.69)	2.05 * (0.32-3.60)	1.55 * (0.31-4.23)	2.00 * (0.19-6.69)
IMF- PRs	608 (253-1945)	511 (167-3284)	508 (167-3284)	555 (234-2070)	508 (219-1971)
CD62p ⁺	0.97 (0.44-3.04)	2.47 * (0.52-9.95)	2.72 * (0.75-9.95)	2.47 * (0.70-6.47)	1.98 * (0.52-9.26)
IMF- CD62p ⁺	1212 (294-3087)	1633 * (677-9066)	1852 (820-3206)	1574 * (677-3017)	1768 * (1096-9066)
TO/CD62p ⁺ %	18.5 (10.8-58.8)	15.5 (2.8-48.2)	14.7 (2.8-28.5)	16.9 (6.2-48.2)	15.3 (4.1-40.5)
IMF-TO/CD62p ⁺	4021 (2022-6411)	3992 (2612-5311)	3931 (2732-4810)	3998 (2612-4726)	4002 (3165-5311)

Tabela 1.

Dados sobre os parâmetros plaquetários no grupo controle e pacientes.

GC: grupo controle; GT: total de pacientes; G1: colesterol total > 240 mg/dL e/ou LDL-colesterol > 160 mg/dL; G2: triglicérides > 150 mg/dL; G3: colesterol total > 240 mg/dL e triglicérides > 150 mg/dL; PLT: contagem de plaquetas; VPM: volume plaquetário médio; PDW: distribuição do volume das plaquetas; P-LCR: porcentagem de macroplaquetas; PRs: plaquetas reticuladas; IMF-PRs: índice médio de fluorescência das plaquetas reticuladas; CD62p⁺: plaquetas ativadas; IMF-CD62p⁺: índice médio de fluorescência das plaquetas ativadas; TO/CD62p⁺: plaquetas reticuladas e ativadas; IMF-TO/CD62p⁺: índice médio de fluorescência das plaquetas reticuladas e ativadas.

**diferença significativa (p < 0,05) quando comparado ao GC.