A Ciência e os caminhos do desenvolvimento

SEPARAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE PINOCÍTICA DE TROMBÓCITOS DE SANGUE PERIFÉRICO DE GALINHAS

Frederico Nolasco Cerqueira, Gisela Garcia Cabral Galaxe de Almeida, Barbarella de Matos Macchi, Renato Augusto DaMatta

Trombócitos são células sanguíneas de vertebrados não mamíferos que possuem homologia funcional a plaquetas de mamíferos, atuando principalmente na hemostasia e coagulação. No entanto, tem sido demonstrado o envolvimento desse tipo celular em processos infectivos. A pinocitose é um tipo de endocitose na qual células captam líquidos ou pequenas partículas do meio extracelular via vesícula originárias da membrana plasmática. As metodologias publicadas de separação de trombócitos do sangue periférico de galinhas não resultam em cultura contendo 100% desse tipo celular, tendo contaminação principalmente de monócitos e de outros tipos celulares, dificultando a interpretação de resultado. O objetivo desse projeto foi identificar o melhor método de separação de trombócitos e avaliar sua capacidade pinocítica. Três protocolos de separação de trombócitos foram testados: uso de Percoll (55, 60, 65%), decantação de células, e coleta de plasma rico em trombócitos. Rendimento e análise diferencial das células foram avaliados. Com 3 ml de sangue, o uso de 55, 60 e 65% de Percoll gerou $1,1 \times 10^7$, $4,4 \times 10^7$, e $5,9 \times 10^7$ células, respectivamente. Independente da porcentagem de Percoll usada obteve-se 78% de trombócitos e 19% de monócitos. Na preparação por decantação, obteve-se $6,6 \times 10^6$ células, sendo 68% trombócitos e 26% monócitos. O plasma rico em trombócitos rendeu $9,3 \times 10^6$ células com a proporção de 67% de trombócitos, e 20% de monócitos. Constatou-se que o uso de Percoll 60% foi o método de separação com melhor rendimento de trombócitos. Esse método foi utilizado para obter trombócitos para a realização da capacidade pinocítica. A avaliação da pinocitose foi realizada após incubação das células com vermelho neutro por 0 (controle), 30, 60 e 90 minutos, obtendo-se 0,0475; 0,0770; 0,165 e 0,200 μg de vermelho neutro captado, respectivamente. Os resultados de pinocitose de vermelho neutro mostram aumento em relação ao tempo até 90 minutos de incubação. Estabelecemos a melhor forma de purificar trombócitos e estamos no momento trabalhando a técnica de pinocitose para iniciar a caracterização funcional de trombócitos de galinhas normais e infectadas com *Plasmodium gallinaceum*.

Palavras-chave: Trombócitos, Pinocitose, Percoll

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF