ReGeo
ISSN: 2177-3246

PUREZA LEUCOCITÁRIA E QUALIDADE DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS: REVISÃO DE LITERATURA SOBRE OS DETERMINANTES BIOFÍSICOS E O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA DO TUBO DE PROCESSAMENTO

LEUKOCYTE PURITY AND PLATELET-RICH PLASMA QUALITY: A LITERATURE REVIEW ON BIOPHYSICAL DETERMINANTS AND THE ROLE OF INTERNAL PROCESSING TUBE SURFACE

PUREZA LEUCOCITARIA Y CALIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS: REVISIÓN DE LITERATURA SOBRE LOS DETERMINANTES BIOFÍSICOS Y EL PAPEL DE LA SUPERFICIE INTERNA DEL TUBO DE PROCESAMIENTO

https://doi.org/10.56238/revgeov17n8-098

Data de submissão: 09/07/2026 **Data de publicação:** 09/08/2026

Anderson Soares de Souza
Mestre em Biotecnologia
Instituição: Iasis Regen Healthcare Ltda.
E-mail: Biocience@gmail.com
Orcid: https://orcid.org/0009-0008-4996-0471

RESUMO

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) consolidou-se como uma ferramenta terapêutica central na medicina regenerativa, fundamentada na liberação de fatores de crescimento e citocinas que modulam a cicatrização tecidual. No entanto, a eficácia clínica do PRP é frequentemente limitada pela heterogeneidade dos protocolos de obtenção, que resultam em variações significativas na concentração plaquetária e, crucialmente, na pureza leucocitária. Esta revisão de literatura objetiva analisar os determinantes biofísicos que regem a separação celular, com foco na influência da superfície interna dos tubos de processamento e na estabilidade coloidal mediada pelo potencial zeta. A literatura demonstra que a presença excessiva de granulócitos (neutrófilos) pode induzir respostas pró-inflamatórias deletérias, enquanto a preservação de agranulócitos (monócitos e linfócitos) favorece a modulação regenerativa. A análise dos parâmetros de centrifugação revela que a aplicação de forças centrífugas relativas (RCF) moderadas por tempos prolongados otimiza a captura de plaquetas senescentes e jovens, minimizando a ativação precoce por estresse de cisalhamento. Conclui-se que a padronização dos protocolos, fundamentada em princípios de biofísica e engenharia de superfícies, é imperativa para garantir a reprodutibilidade e a segurança biológica do PRP em aplicações clínicas multidisciplinares.

Palavras-chave: Plasma Rico em Plaquetas. Potencial Zeta. Pureza Leucocitária. Centrifugação. Medicina Regenerativa.

ABSTRACT

Platelet-Rich Plasma (PRP) has established itself as a central therapeutic tool in regenerative medicine, based on the release of growth factors and cytokines that modulate tissue healing. However, the clinical efficacy of PRP is often limited by the heterogeneity of preparation protocols, which result in significant variations in platelet concentration and, crucially, leukocyte purity. This literature review aims to analyze the biophysical determinants governing cell separation, focusing on the influence of the internal surface of processing tubes and the colloidal stability mediated by the zeta potential. The literature demonstrates that the excessive presence of granulocytes (neutrophils) can induce deleterious

pro-inflammatory responses, while the preservation of agranulocytes (monocytes and lymphocytes) favors regenerative modulation. The analysis of centrifugation parameters reveals that the application of moderate relative centrifugal forces (RCF) for prolonged periods optimizes the capture of senescent and young platelets, minimizing early activation by shear stress. It is concluded that the standardization of protocols, based on principles of biophysics and surface engineering, is imperative to ensure the reproducibility and biological safety of PRP in multidisciplinary clinical applications.

Keywords: Platelet-rich Plasma. Zeta Potential. Leukocyte Purity. Centrifugation. Regenerative Medicine.

RESUMEN

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se ha establecido como una herramienta terapéutica central en la medicina regenerativa, basada en la liberación de factores de crecimiento y citocinas que modulan la cicatrización tisular. Sin embargo, la eficacia clínica del PRP a menudo se ve limitada por la heterogeneidad de los protocolos de preparación, que resultan en variaciones significativas en la concentración de plaquetas y, crucialmente, en la pureza leucocitaria. Esta revisión de literatura tiene como objetivo analizar los determinantes biofísicos que rigen la separación celular, enfocándose en la influencia de la superficie interna de los tubos de procesamiento y la estabilidad coloidal mediada por el potencial zeta. La literatura demuestra que la presencia excesiva de granulocitos (neutrófilos) puede inducir respuestas proinflamatorias perjudiciales, mientras que la preservación de agranulocitos (monocitos y linfocitos) favorece la modulación regenerativa. El análisis de los parámetros de centrifugación revela que la aplicación de fuerzas centrífugas relativas (RCF) moderadas durante períodos prolongados optimiza la captura de plaquetas senescentes y jóvenes, minimizando la activación temprana por estrés de corte. Se concluye que la estandarización de protocolos, basada en principios de biofísica e ingeniería de superficies, es imperativa para garantizar la reproducibilidad y seguridad biológica del PRP en aplicaciones clínicas multidisciplinarias.

Palabras clave: Plasma Rico en Plaquetas. Potencial Zeta. Pureza Leucocitaria. Centrifugación. Medicina Regenerativa.

1 INTRODUÇÃO

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) representa uma das abordagens mais promissoras da medicina regenerativa contemporânea, fundamentando-se na premissa de que a concentração supra-fisiológica de plaquetas em um volume reduzido de plasma pode acelerar os processos de reparo tecidual. Desde sua introdução inicial, o PRP tem sido aplicado em diversas especialidades, incluindo ortopedia, dermatologia, odontologia e cirurgia plástica, devido à sua capacidade de liberar uma pletora de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento transformador beta (TGF-β) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) [9]. No entanto, apesar do entusiasmo clínico, a literatura científica aponta para uma variabilidade substancial nos resultados terapêuticos, o que é frequentemente atribuído à falta de padronização nos métodos de processamento e na caracterização do produto final.

A composição celular do PRP não se restringe apenas às plaquetas; a presença e a concentração de leucócitos desempenham um papel determinante na resposta biológica pós-aplicação. A dicotomia entre o PRP rico em leucócitos (LR-PRP) e o PRP pobre em leucócitos (LP-PRP) tem sido objeto de intenso debate, uma vez que diferentes subpopulações leucocitárias podem exercer efeitos antagônicos no microambiente tecidual [3]. Enquanto os granulócitos, como os neutrófilos, estão associados à liberação de metaloproteinases de matriz (MMPs) e espécies reativas de oxigênio (EROs) que podem exacerbar a inflamação, os agranulócitos, como os monócitos, são essenciais para a transição da fase inflamatória para a fase proliferativa da cicatrização [4].

Neste contexto, a compreensão dos determinantes biofísicos que regem a separação celular durante a centrifugação torna-se fundamental. Variáveis como a força centrífuga relativa (RCF), o tempo de processamento, a viscosidade do meio e a estabilidade coloidal mediada pelo potencial zeta das membranas celulares influenciam diretamente a eficiência de captura e a pureza do concentrado [1]. Além disso, evidências recentes sugerem que as propriedades físico-químicas da superfície interna dos dispositivos de coleta e processamento, incluindo o nanopolimento e a composição polimérica, podem interferir na adesão e na ativação plaquetária prematura, comprometendo a viabilidade do biológico [11]. Esta revisão busca sintetizar o conhecimento atual sobre esses mecanismos, oferecendo uma base científica para a otimização de protocolos clínicos.

2 METODOLOGIA

Para a elaboração desta revisão de literatura, foi realizada uma busca sistemática nas bases de dados PubMed/MEDLINE, PubMed Central (PMC), SciELO e LILACS, abrangendo o período de janeiro de 2018 a julho de 2026. A estratégia de busca utilizou combinações de descritores controlados

(MeSH/DeCS) e termos livres, incluindo: “platelet-rich plasma”, “leukocyte-poor”, “leukocyte-rich”, “platelet activation”, “zeta potential”, “centrifugation” e “biophysical determinants”. A seleção dos estudos priorizou revisões sistemáticas, meta-análises e estudos experimentais revisados por pares que abordassem especificamente os mecanismos de separação celular, a influência da composição leucocitária e as propriedades de interface dos dispositivos de processamento.

Os critérios de inclusão compreenderam artigos publicados em língua portuguesa e inglesa que apresentassem dados quantitativos ou qualitativos sobre a otimização de protocolos de PRP e a caracterização biofísica das populações celulares. Foram excluídos estudos que utilizassem metodologias de ativação plaquetária não padronizadas ou que não descrevessem detalhadamente os parâmetros de centrifugação empregados. A análise dos dados seguiu uma abordagem narrativa, sintetizando as evidências em seções temáticas que discutem desde a heterogeneidade plaquetária até as implicações clínicas da pureza leucocitária, fundamentando-se em referências verificáveis e de alto impacto científico.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 COMPOSIÇÃO E HETEROGENEIDADE DO PRP: PLAQUETAS JOVENS VS. SENESCENTES

A população plaquetária circulante não é homogênea, consistindo em uma mistura complexa de células em diferentes estágios de maturação e senescência. Plaquetas jovens, frequentemente denominadas plaquetas reticuladas, possuem maior volume celular, maior densidade de grânulos alfa e uma capacidade metabólica superior em comparação com as plaquetas senescentes [12]. Estudos proteômicos e transcriptômicos revelam que as plaquetas senescentes sofrem alterações significativas em seu perfil de RNA mensageiro e na expressão de proteínas de superfície, o que impacta diretamente sua funcionalidade regenerativa [14]. A captura integral de ambas as frações é essencial para maximizar o potencial terapêutico do PRP, uma vez que a perda da fração senescente durante o processamento pode reduzir a diversidade de citocinas liberadas [13].

A densidade celular é o principal determinante físico para a separação dessas populações durante a centrifugação. Plaquetas jovens tendem a ser mais densas (aprox 1,070 g/mL) devido ao seu conteúdo granular e RNA residual, enquanto plaquetas senescentes apresentam densidades menores (aprox 1,040 g/mL) [12]. Protocolos que utilizam forças centrífugas excessivamente altas em tempos curtos frequentemente falham em capturar a fração menos densa, que permanece em suspensão no plasma pobre em plaquetas (PPP). Portanto, a otimização do tempo de centrifugação é necessária para

permitir que as plaquetas de menor densidade atinjam a zona de coleta, garantindo um perfil celular completo e funcionalmente robusto [1].

Além da densidade, o tamanho das plaquetas influencia sua velocidade de sedimentação. Plaquetas maiores sedimentam mais rapidamente, seguindo a Lei de Stokes, o que pode levar a uma estratificação indesejada dentro da coluna de plasma se os parâmetros de centrifugação não forem calibrados. A compreensão desta heterogeneidade é o primeiro passo para o desenvolvimento de protocolos que não apenas concentrem plaquetas, mas que preservem a integridade biológica de todas as subpopulações presentes no sangue total, evitando a seleção inadvertida de apenas uma fração celular [13].

3.2 PUREZA LEUCOCITÁRIA: IMPACTO DOS GRANULÓCITOS E AGRANULÓCITOS

A presença de leucócitos no PRP é um dos fatores mais controversos na literatura científica. A diferenciação entre o PRP rico em leucócitos (LR-PRP) e o PRP pobre em leucócitos (LP-PRP) é fundamental, pois as subpopulações leucocitárias exercem efeitos distintos na sinalização celular e na inflamação tecidual [3]. Os granulócitos, predominantemente representados pelos neutrófilos, possuem alta densidade de grânulos citoplasmáticos contendo enzimas proteolíticas. Quando presentes em altas concentrações no PRP, os neutrófilos podem liberar metaloproteinases de matriz (MMPs) que degradam o colágeno e exacerbam a resposta inflamatória local, o que pode ser prejudicial em tratamentos de tendinopatias crônicas ou osteoartrite [4].

Por outro lado, os agranulócitos, que incluem linfócitos e monócitos, desempenham papéis cruciais na modulação da cicatrização. Os monócitos, em particular, são precursores de macrófagos que podem se polarizar para o fenótipo M2 (anti-inflamatório e pró-regenerativo), coordenando a síntese de matriz extracelular e a angiogênese [10]. O Índice de Pureza Leucocitária, definido pela razão entre agranulócitos e granulócitos, surge como uma métrica de qualidade superior à simples contagem total de glóbulos brancos. Um PRP com alto índice de pureza favorece um ambiente biológico indutor de reparo, minimizando os efeitos adversos associados à infiltração neutrofílica excessiva [6].

A seletividade na captura leucocitária é alcançada através do ajuste fino da força centrífuga. Devido à maior densidade dos granulócitos (aprox 1,085 g/mL) em comparação com os agranulócitos (aprox 1,075 g/mL), é possível criar uma zona de exclusão durante a centrifugação. Protocolos que utilizam RCF moderada permitem que os neutrófilos sedimentem para a interface com as hemácias, enquanto os monócitos e linfócitos permanecem na camada de plasma rico, otimizando o perfil imunomodulador do concentrado final [5].

3.3 BIOFÍSICA DA SEPARAÇÃO CELULAR: LEI DE STOKES E DINÂMICA DE SEDIMENTAÇÃO

A separação dos componentes sanguíneos durante a centrifugação é regida por princípios fundamentais da mecânica de fluidos, especificamente pela Lei de Stokes. Esta lei estabelece que a velocidade de sedimentação (v) de uma partícula esférica em um fluido viscoso é proporcional ao quadrado do seu diâmetro (d), à diferença de densidade entre a partícula (ρp) e o meio (ρm), e à aceleração aplicada (g ou RCF), sendo inversamente proporcional à viscosidade do meio (η). Matematicamente, a relação é expressa como

No contexto do processamento do PRP, pequenas variações em qualquer uma dessas variáveis podem alterar drasticamente a composição do produto final [1].

A viscosidade do plasma é um fator crítico que frequentemente é negligenciado. A temperatura ambiente e o uso de anticoagulantes influenciam a viscosidade dinâmica, afetando a velocidade com que as células atravessam a coluna de plasma. Em temperaturas mais baixas, a viscosidade aumenta, exigindo tempos de centrifugação maiores para que as plaquetas atinjam a zona de concentração. Por outro lado, o aquecimento excessivo da centrífuga pode reduzir a viscosidade, acelerando a sedimentação e potencialmente causando a peletização das plaquetas no fundo do tubo, o que dificulta sua resuspensão e preservação funcional [9].

A relação entre a força centrífuga relativa (RCF) e o tempo de processamento é o cerne da padronização de protocolos. A aplicação de uma RCF elevada por um curto período pode resultar em uma separação incompleta ou na ativação mecânica das células devido ao estresse de cisalhamento. Em contraste, o uso de RCF moderada por tempos prolongados favorece uma sedimentação mais equilibrada, permitindo que as plaquetas de diferentes tamanhos e densidades se organizem de acordo com suas propriedades biofísicas, minimizando a contaminação por hemácias e granulócitos densos [5].

3.4 POTENCIAL ZETA E ESTABILIDADE COLOIDAL: PREVENÇÃO DA ATIVAÇÃO PRECOCE

As plaquetas em suspensão comportam-se como um sistema coloidal, onde a estabilidade é mantida pelo equilíbrio entre forças de atração e repulsão. O potencial zeta (ζ) é a medida do potencial elétrico na camada de deslizamento da partícula, refletindo a carga superficial líquida das plaquetas, que é predominantemente negativa devido à presença de resíduos de ácido siálico em glicoproteínas de membrana [15]. De acordo com a teoria DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek), a

estabilidade de uma suspensão celular depende da barreira de repulsão eletrostática ser suficiente para superar as forças de atração de Van der Waals [8].

Um potencial zeta elevado (em valor absoluto) garante que as plaquetas permaneçam individualizadas e não agreguem prematuramente durante o processamento. Fatores como o pH do meio, a força iônica do anticoagulante e a temperatura influenciam diretamente o potencial zeta. A acidificação leve do meio, comum no uso de anticoagulantes como o citrato-dextrose (ACD), ajuda a manter o potencial zeta em níveis que favorecem a repulsão, impedindo a degranulação precoce dos grânulos alfa e a liberação prematura de fatores de crescimento antes da aplicação clínica [14].

Durante a centrifugação, as células são forçadas a se aproximar. Se a energia cinética fornecida pela RCF superar a barreira de repulsão eletrostática, as plaquetas entrarão na zona de atração de Van der Waals, resultando em agregação irreversível e ativação. Este fenômeno é visualmente identificável por técnicas de difração de luz, onde a perda da estabilidade coloidal se manifesta como a formação de grumos ou “clumps” celulares. Portanto, a manutenção de um potencial zeta estável é um pré-requisito biofísico para a produção de um PRP de alta qualidade, onde as plaquetas retêm sua capacidade funcional plena até o momento do contato com o tecido lesado [8].

3.5 INFLUÊNCIA DO MATERIAL E DA SUPERFÍCIE INTERNA DO TUBO DE PROCESSAMENTO

A interface entre o sangue e a superfície interna do tubo de processamento desempenha um papel crítico na ativação plaquetária extrínseca. Superfícies rugosas ou com alta energia superficial podem atuar como sítios de nucleação para a adesão plaquetária, disparando a cascata de coagulação e a liberação de fatores de crescimento ainda dentro do dispositivo. A engenharia de superfícies aplicada a tubos de processamento busca minimizar essas interações através do uso de polímeros biocompatíveis e técnicas de nanopolimento que reduzem a rugosidade superficial [11].

Estudos comparativos demonstram que tubos de vidro ou plásticos contendo aditivos como a sílica podem induzir uma ativação plaquetária significativamente maior do que tubos com superfícies tratadas ou nanopolidas. A presença de sílica, frequentemente utilizada para acelerar a coagulação em exames laboratoriais, é altamente deletéria para a preparação de PRP, pois promove a formação de redes de fibrina prematuras que aprisionam as plaquetas e impedem sua recuperação eficiente [7]. O uso de superfícies internas com propriedades hidrofóbicas controladas ajuda a manter as plaquetas em um estado quiescente, preservando sua morfologia discoide original [2].

Além da composição química, a geometria do tubo e a suavidade da transição entre as paredes e o fundo influenciam o fluxo hidrodinâmico durante a centrifugação. Superfícies que minimizam o

atrito aerodinâmico e mecânico reduzem a geração de calor local, o que é essencial para manter a integridade do potencial zeta e a viscosidade do plasma. A inovação em dispositivos de coleta foca agora na criação de interfaces “inertes” que funcionam apenas como recipientes de separação, sem interferir na biologia intrínseca das células concentradas [11].

3.6 PARÂMETROS DE CENTRIFUGAÇÃO E QUALIDADE DO PRODUTO FINAL

A definição dos parâmetros de centrifugação — RCF, tempo e curvas de aceleração/frenagem — é o determinante final da qualidade do PRP. Evidências robustas sugerem que protocolos de centrifugação única com RCF moderada (600-700 G) por tempos mais longos (12-15 minutos) são superiores aos protocolos de dupla centrifugação rápida para a obtenção de PRP pobre em leucócitos e rico em plaquetas íntegras [5]. A centrifugação lenta minimiza o estresse de cisalhamento, que é uma causa primária de ativação plaquetária mecânica e lise celular [1].

O controle térmico durante o processo é igualmente vital. O calor gerado pelo motor da centrífuga e pelo atrito do rotor com o ar pode elevar a temperatura da amostra acima dos níveis fisiológicos, alterando a permeabilidade da membrana celular e acelerando a degradação metabólica. Sistemas de processamento que garantem a manutenção da temperatura entre 18°C e 22°C preservam melhor o fenótipo plaquetário e a estabilidade das citocinas [2]. Além disso, a utilização de rotores oscilantes (*swing-out*) em vez de rotores de ângulo fixo favorece uma separação mais nítida das camadas celulares, facilitando a coleta precisa do *buffy coat* sem a ressuspensão indesejada de hemácias [9].

A fase de desaceleração deve ser conduzida sem a aplicação de freios bruscos. A frenagem rápida cria turbulências na interface plasma-hemácia, o que pode levar à contaminação do PRP com granulócitos densos que estavam previamente sedimentados. A parada por inércia total preserva a estratificação alcançada durante a fase de platô da centrifugação, garantindo que o índice de pureza leucocitária planejado seja mantido no produto final coletado [6].

3.7 IMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA PUREZA LEUCOCITÁRIA

As implicações clínicas da composição celular do PRP são evidenciadas em diversas revisões sistemáticas e meta-análises. No tratamento da osteoartrite de joelho, por exemplo, o uso de LP-PRP tem demonstrado resultados superiores em termos de redução de dor e melhora funcional, com uma incidência significativamente menor de reações adversas locais, como sinovite pós-injeção, em comparação com o LR-PRP [4]. A ausência de neutrófilos no LP-PRP reduz a liberação de citocinas

pró-inflamatórias como IL-1β e TNF-α no espaço articular, favorecendo um ambiente de anabolismo cartilaginoso [3].

Em contrapartida, em aplicações onde a resposta inflamatória inicial é desejada, como em feridas infectadas ou certas úlceras crônicas, a presença controlada de leucócitos pode ser benéfica devido às suas propriedades antimicrobianas. No entanto, para a maioria das aplicações em medicina esportiva e regeneração de tecidos moles, a pureza leucocitária com foco em agranulócitos é preferida [10]. A variabilidade nos desfechos clínicos reportados na literatura é, em grande parte, um reflexo da falha em caracterizar adequadamente o tipo de PRP utilizado, reforçando a necessidade de que os clínicos compreendam os princípios biofísicos por trás do equipamento que utilizam [9].

A padronização baseada na pureza leucocitária permite uma medicina personalizada, onde a composição do PRP pode ser ajustada de acordo com a patologia e o estágio da lesão. O Índice de Pureza Leucocitária torna-se, assim, um biomarcador de qualidade essencial para a prática clínica, permitindo a comparação objetiva entre diferentes sistemas comerciais e protocolos laboratoriais, garantindo que o paciente receba o biológico mais adequado para sua condição específica [6].

3.8 DINÂMICA DE FLUIDOS E A INTERFACE PLASMA-HEMÁCIA

A estabilidade da interface entre o plasma e a camada de hemácias (sedimento) é um dos pontos mais críticos para a manutenção da pureza leucocitária. Durante a centrifugação, a formação do *buffy coat* ocorre em uma zona de transição onde as forças de empuxo e a força centrífuga se equilibram para diferentes tipos celulares. A integridade desta interface depende diretamente da linearidade da aceleração e, principalmente, da ausência de vibrações mecânicas no rotor. Vibrações harmônicas, causadas por desbalanceamento ou desgaste de componentes da centrífuga, induzem micro-turbulências que rompem a estratificação celular, promovendo a ressuspensão de granulócitos densos na coluna de plasma rico em plaquetas [9].

A geometria do tubo de processamento também exerce influência sobre a dinâmica de fluidos interna. Tubos com diâmetros internos maiores reduzem a altura da coluna de sangue, o que diminui o tempo necessário para a sedimentação, mas aumenta a área da interface, tornando-a mais suscetível a perturbações durante a frenagem. Em contrapartida, tubos mais estreitos e longos estabilizam a interface por meio de uma maior tensão superficial relativa nas paredes, facilitando a coleta seletiva das frações celulares localizadas nos milímetros finais da coluna de plasma. A engenharia de fluidos aplicada a esses dispositivos visa otimizar a razão entre o diâmetro e a altura para maximizar a recuperação plaquetária sem comprometer a seletividade leucocitária [11].

Além disso, o fenômeno de “arrasto” celular deve ser considerado. Quando as hemácias sedimentam em alta velocidade (RCF elevada), elas podem capturar mecanicamente plaquetas e agranulócitos, levando-os para o fundo do tubo e reduzindo o rendimento final do PRP. O uso de uma RCF moderada permite que as células menores e menos densas tenham tempo de “escapar” da rede de hemácias em sedimentação, migrando para a zona de concentração superior. Este comportamento reforça a necessidade de protocolos que priorizem a qualidade da separação em detrimento da rapidez do processamento, garantindo que a interface permaneça nítida e estável para a aspiração final [5].

3.9 O PAPEL DA VISCOSIDADE DINÂMICA NA EFICIÊNCIA DE CAPTURA

A viscosidade dinâmica do sangue total e do plasma é uma variável biofísica que dita a resistência ao movimento celular durante a centrifugação. De acordo com a Lei de Stokes, a velocidade de sedimentação é inversamente proporcional à viscosidade do meio. Em pacientes com hematócrito elevado ou desidratação, a viscosidade sanguínea aumenta significativamente, o que retarda a migração das plaquetas senescentes e jovens em direção ao *buffy coat*. Se o tempo de centrifugação não for ajustado para compensar essa resistência, uma fração considerável da população plaquetária permanecerá dispersa na coluna de plasma, resultando em um fator de concentração subótimo [1].

A temperatura desempenha um papel regulador fundamental na viscosidade. O aquecimento da amostra durante o processamento reduz a viscosidade do plasma, o que, embora acelere a sedimentação, pode comprometer a precisão da separação celular. Temperaturas acima de 24°C alteram a fluidez da membrana plasmática das plaquetas, tornando-as mais sensíveis à ativação mecânica. A manutenção da temperatura controlada entre 18°C e 22°C garante que a viscosidade permaneça em níveis previsíveis, permitindo que os cálculos de tempo e força centrífuga sejam aplicados com maior reprodutibilidade clínica [2].

O uso de anticoagulantes também interfere na reologia do meio. O citrato de sódio, ao quelar o cálcio, não apenas impede a cascata de coagulação, mas também altera a força iônica do plasma, o que pode influenciar a conformação de proteínas plasmáticas e, consequentemente, a viscosidade. A proporção padrão de 9:1 (sangue para anticoagulante) deve ser rigorosamente mantida para evitar diluições excessivas que reduzam a viscosidade a ponto de permitir a sedimentação indesejada de plaquetas para dentro da camada de hemácias, o que prejudicaria o Índice de Eficiência de Captura (IEC) [9].

3.10 ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA POR ESTRESSE DE CISALHAMENTO (SHEAR STRESS)

O estresse de cisalhamento é uma força mecânica que atua tangencialmente à membrana celular durante o movimento rotacional da centrifugação. Quando as plaquetas são submetidas a gradientes de velocidade elevados, as forças de cisalhamento podem induzir a abertura de canais iônicos mecanossensíveis, levando ao influxo de cálcio e à subsequente degranulação. Este processo de ativação mecânica é uma das principais causas de falha terapêutica, pois resulta na liberação prematura de fatores de crescimento que serão degradados por proteases plasmáticas antes mesmo da aplicação no paciente [1].

A magnitude do estresse de cisalhamento é diretamente proporcional à RCF aplicada e à viscosidade do meio. Protocolos que utilizam "centrifugação pesada" (acima de 1000 G) expõem as plaquetas a níveis de cisalhamento que frequentemente ultrapassam o limiar de tolerância biológica. A transição para protocolos de "centrifugação suave" (600-700 G) visa manter o cisalhamento dentro de limites fisiológicos, preservando a morfologia discoide das plaquetas e a integridade de seus grânulos alfa. A preservação do estado quiescente é essencial para que a liberação de citocinas ocorra de forma sustentada e localizada no sítio da lesão [2].

Além da RCF, a rugosidade da superfície interna do tubo de processamento contribui para o cisalhamento local. Superfícies com irregularidades microscópicas criam micro-turbulências no fluxo de plasma durante a rotação, aumentando o atrito entre as células e a parede do tubo. O emprego de tubos com nanopolimento interno reduz drasticamente esses pontos de atrito, permitindo que as células deslizem suavemente ao longo da parede durante a sedimentação. Esta sinergia entre parâmetros físicos moderados e engenharia de superfície avançada é o que define os sistemas de processamento de alta performance na medicina regenerativa atual [11].

3.11 TEORIA DLVO E A ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES CELULARES

A aplicação da teoria DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek) ao estudo do PRP permite compreender por que certas amostras agregam espontaneamente enquanto outras permanecem estáveis. Esta teoria postula que a energia total de interação entre duas células é a soma das forças de atração de Van der Waals e das forças de repulsão eletrostática da dupla camada elétrica. Para que o PRP seja considerado de alta qualidade, a barreira de repulsão deve ser mantida em níveis que impeçam as células de atingirem o "primeiro mínimo de energia", onde a agregação se torna irreversível [8].

O potencial zeta é o parâmetro experimental que valida a aplicação da teoria DLVO na prática laboratorial. Plaquetas com potencial zeta inferior a -15 mV (em módulo) apresentam uma barreira de repulsão frágil, sendo facilmente induzidas à agregação por variações térmicas ou mecânicas. O

monitoramento do potencial zeta por meio de técnicas de espalhamento de luz laser permite identificar amostras com risco de ativação precoce. Fatores extrínsecos, como a adsorção de proteínas plasmáticas (ex: fibrinogênio) na superfície plaquetária, podem "blindar" as cargas negativas, reduzindo o potencial zeta e desestabilizando a suspensão [15].

A manipulação do ambiente químico do PRP, através do ajuste do pH e da concentração iônica, é uma estratégia eficaz para reforçar a estabilidade DLVO. A manutenção de um pH levemente ácido (entre 6.5 e 7.0) otimiza a ionização de grupos carboxílicos na membrana celular, maximizando a carga negativa superficial. Esta estabilização eletrostática é o que permite que o PRP seja processado por tempos mais longos (15 minutos) sem que ocorra a formação de grumos, garantindo que o produto final seja uma suspensão homogênea de células viáveis e prontas para a sinalização biológica [8].

3.12 IMPACTO DA GEOMETRIA DO ROTOR: ÂNGULO FIXO VS. SWING-OUT

A escolha do tipo de rotor na centrífuga é um determinante biofísico crítico para a nitidez da separação celular. Em rotores de ângulo fixo, as células são forçadas contra a parede externa do tubo antes de deslizarem em direção ao fundo. Este movimento cria um trajeto de sedimentação inclinado, onde as células colidem frequentemente com a superfície do tubo, aumentando o risco de ativação por atrito e dificultando a formação de camadas horizontais nítidas. Além disso, a interface plasma-hemácia em rotores fixos torna-se inclinada, o que aumenta a probabilidade de contaminação leucocitária durante a aspiração manual [9].

Os rotores oscilantes (*swing-out* ou caçapa móvel) permitem que os tubos assumam uma posição horizontal durante a rotação. Neste sistema, a força centrífuga atua paralelamente ao eixo longitudinal do tubo, resultando em um trajeto de sedimentação direto e uniforme. As camadas celulares se organizam em planos horizontais perfeitos, perpendiculares à força aplicada. Esta configuração é superior para a obtenção de PRP com alto índice de pureza, pois permite que o operador visualize e colete o *buffy coat* com precisão milimétrica, minimizando a perturbação das camadas adjacentes [5].

A estabilidade mecânica do rotor oscilante também contribui para a preservação do potencial zeta. Ao evitar as colisões laterais típicas dos rotores fixos, o sistema *swing-out* reduz o estresse mecânico sobre a membrana plaquetária. Para protocolos que visam a captura de plaquetas senescentes e jovens (que exigem tempos maiores de centrifugação), a linearidade do movimento no rotor oscilante é essencial para evitar a ressuspensão celular causada por correntes de convecção interna ou vibrações durante a desaceleração [9].

3.13 NANOPOLIMENTO E ENGENHARIA DE SUPERFÍCIE EM DISPOSITIVOS DE COLETA

A superfície interna dos tubos de processamento não é meramente um recipiente passivo, mas uma interface biologicamente ativa. O nanopolimento é uma técnica de acabamento superficial que reduz a rugosidade média (Ra) para níveis nanométricos, eliminando picos e vales microscópicos onde as plaquetas poderiam se ancorar. Superfícies com baixo Ra apresentam menor energia livre superficial, o que dificulta a adsorção de proteínas de adesão, como o fator de von Willebrand, prevenindo a ativação plaquetária extrínseca [11].

Além do polimento mecânico, a aplicação de revestimentos poliméricos hidrofóbicos tem sido explorada para melhorar a biocompatibilidade dos dispositivos. Superfícies que mimetizam o endotélio vascular, mantendo uma carga negativa constante, reforçam a repulsão eletrostática das plaquetas, complementando o efeito do potencial zeta intrínseco das células. Esta abordagem de "superfície inteligente" é fundamental para garantir que o PRP processado mantenha as mesmas características funcionais do sangue circulante, evitando a liberação de grânulos alfa induzida pelo contato com materiais sintéticos [2].

A comparação entre tubos de vidro convencionais e tubos poliméricos nanopolidos revela diferenças drásticas na recuperação plaquetária. O vidro, por ser naturalmente pró-coagulante e possuir alta afinidade por proteínas plasmáticas, induz uma ativação rápida que pode reduzir a concentração de plaquetas livres no plasma em até 40% devido à formação de micro-coágulos. O uso de dispositivos projetados especificamente para a medicina regenerativa, que integram princípios de engenharia de superfície, é, portanto, um requisito indispensável para a padronização e o sucesso clínico das terapias com PRP [7].

3.14 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO DE LEUCÓCITOS E A ZONA DE EXCLUSÃO

A separação seletiva de leucócitos baseia-se na sutil diferença de densidade e tamanho entre as subpopulações. Os granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) possuem diâmetros maiores (12-15 um) e densidades superiores (1,085 g/mL) devido à complexidade de seus núcleos lobulados e grânulos citoplasmáticos. Pela Lei de Stokes, essas características conferem aos granulócitos uma velocidade de sedimentação significativamente maior do que a das plaquetas e dos agranulócitos. Em um protocolo de 650 G, os granulócitos atingem a interface com as hemácias nos primeiros minutos de centrifugação [10].

Os agranulócitos (linfócitos e monócitos) apresentam densidades intermediárias (1,075 g/mL) e tamanhos menores que os granulócitos. Esta sobreposição parcial de densidade com as plaquetas jovens cria o desafio técnico de concentrar monócitos sem arrastar neutrófilos. A solução reside na

criação de uma “zona de exclusão” milimétrica. Ao final de 15 minutos de centrifugação a 650 G, os neutrófilos formam uma camada densa e compacta imediatamente acima das hemácias, enquanto os monócitos permanecem em uma suspensão mais fluida logo acima desta camada [5].

A precisão na coleta desta zona é o que determina o Índice de Pureza Leucocitária. A utilização de agulhas de bisel longo e sistemas de aspiração controlada permite que o operador colete o plasma rico até 1 mm acima da interface visível. Esta margem de segurança é necessária para evitar a aspiração da “franja” superior de granulócitos, que é facilmente perturbada pelo fluxo de sucção. O domínio desta técnica de coleta, fundamentado no conhecimento da cinética de sedimentação, é o que diferencia o PRP terapêutico de alta pureza de um concentrado leucocitário inflamatório [6].

3.15 O FENÔMENO DA PELETIZAÇÃO E A RESSUSPENSÃO CELULAR

A peletização ocorre quando as forças centrífugas são tão elevadas que as plaquetas são compactadas contra o fundo do tubo ou contra a camada de hemácias, formando um agregado sólido ou “pellet”. Este fenômeno é altamente indesejável, pois a compactação física força as membranas celulares a uma proximidade que dispara a ativação por contato. Além disso, a ressuspensão de um pellet plaquetário exige agitação mecânica vigorosa (vortex), o que pode causar lise celular e fragmentação, comprometendo a viabilidade do biológico [1].

Protocolos de centrifugação suave (650 G) visam manter as plaquetas em um estado de “nuvem” ou suspensão concentrada, evitando a formação de um pellet sólido. Nesta condição, as plaquetas permanecem individualizadas e protegidas por suas nuvens iônicas (potencial zeta), facilitando a coleta e garantindo que os fatores de crescimento permaneçam confinados nos grânulos alfa até o momento da ativação intencional no tecido. A facilidade de ressuspensão é um indicador prático de que a barreira de repulsão eletrostática foi preservada durante o processo [2].

A análise microscópica de amostras peletizadas frequentemente revela a presença de “fantasmas plaquetários” e debris celulares, resultantes do estresse mecânico da compactação e ressuspensão. Em contraste, amostras processadas sob parâmetros biofísicos otimizados apresentam plaquetas com morfologia preservada e ausência de agregados. A prevenção da peletização é, portanto, uma estratégia fundamental para garantir que o PRP entregue ao paciente contenha células funcionalmente íntegras e capazes de responder aos estímulos biológicos do microambiente lesado [9].

3.16 TERMODINÂMICA E O IMPACTO DO CALOR NA ESTABILIDADE DO PRP

A termodinâmica do processo de centrifugação é frequentemente negligenciada, mas exerce um impacto direto na estabilidade coloidal do PRP. O calor gerado pelo motor da centrífuga e,

principalmente, pelo atrito aerodinâmico do rotor com o ar dentro da câmara, pode elevar a temperatura da amostra em até 10°C em ciclos longos. Este aumento térmico incrementa a energia cinética das células, facilitando que elas vençam a barreira de repulsão do potencial zeta e colidam, resultando em agregação térmica induzida [2].

Além do efeito direto sobre a agregação, o calor altera a constante dielétrica do plasma e a espessura da dupla camada elétrica que envolve as plaquetas. Temperaturas elevadas promovem a compressão da nuvem iônica, reduzindo a eficácia da repulsão eletrostática. A manutenção da temperatura interna da centrífuga abaixo de 22°C é essencial para garantir que as forças de Van der Waals permaneçam sob controle. Centrífugas com sistemas de ventilação ativa ou refrigeração são preferíveis para protocolos que exigem tempos de processamento de 15 minutos ou mais [9].

A monitoração da temperatura da amostra imediatamente após a centrifugação deve ser um padrão de controle de qualidade. Amostras que atingem temperaturas superiores a 25°C apresentam um risco significativamente maior de ativação precoce e liberação de citocinas pró-inflamatórias. A estabilidade térmica, portanto, não é apenas uma questão de viabilidade celular, mas um requisito para a manutenção da assinatura bioquímica do PRP, garantindo que o perfil de fatores de crescimento permaneça inalterado durante toda a fase pré-analítica [11].

3.17 PH E FORÇA IÔNICA: MODULADORES QUÍMICOS DO POTENCIAL ZETA

O ambiente químico do plasma, definido pelo pH e pela força iônica, é o principal modulador extrínseco do potencial zeta das plaquetas. O pH fisiológico do sangue é mantido em torno de 7.4, mas, após a coleta e adição de anticoagulantes, este valor pode sofrer variações. A redução do pH para valores próximos a 6.8 aumenta a densidade de carga negativa na superfície plaquetária, pois influencia o estado de ionização dos resíduos de ácido siálico e grupos fosfato da membrana. Esta acidificação controlada é uma estratégia biofísica para reforçar a estabilidade coloidal durante o estresse da centrifugação [14].

A força iônica do meio, determinada pela concentração de sais dissolvidos, dita a espessura da dupla camada elétrica (comprimento de Debye). Uma força iônica excessivamente alta causa a "blindagem" das cargas superficiais, reduzindo o alcance da repulsão eletrostática e permitindo que as forças de Van der Waals predominem. O uso de citrato de sódio a 3.2% ou 3.8% deve ser padronizado para garantir que a força iônica permaneça dentro de uma janela que favoreça a estabilidade coloidal sem interferir na morfologia celular [8].

Variações no pH também afetam a solubilidade de proteínas plasmáticas e a afinidade de receptores de superfície. Um pH excessivamente alcalino pode induzir a mudança conformacional do

receptor GPIIb/IIIa, facilitando a ligação do fibrinogênio e a subsequente agregação plaquetária. Portanto, o controle rigoroso do equilíbrio ácido-básico durante todas as etapas de processamento do PRP é fundamental para garantir que as plaquetas permaneçam em um estado de repouso estável, preservando seu potencial zeta e sua funcionalidade regenerativa [13].

3.18 HETEROGENEIDADE PLAQUETÁRIA E A CAPTURA DE PLAQUETAS RETICULADAS

As plaquetas reticuladas, ou plaquetas jovens, representam a fração mais metabolicamente ativa da população plaquetária. Elas são caracterizadas por um maior conteúdo de RNA mensageiro e um retículo endoplasmático residual, o que lhes confere uma capacidade superior de síntese proteica e liberação de fatores de crescimento em resposta à ativação. Devido ao seu maior volume e densidade, as plaquetas reticuladas possuem uma cinética de sedimentação distinta, tendendo a se localizar na porção inferior do *buffy coat*, próximas à interface leucocitária [12].

A captura eficiente desta fração jovem é um dos maiores desafios dos protocolos rápidos de centrifugação. Em RCFs elevadas, as plaquetas reticuladas podem ser rapidamente arrastadas para dentro da camada de hemácias devido ao seu maior coeficiente de sedimentação. O uso de RCF moderada (650 G) por tempos prolongados permite uma separação mais fina, onde as plaquetas reticuladas conseguem se concentrar na base da coluna de plasma sem serem perdidas no sedimento eritrocitário. Esta preservação é crucial, pois as plaquetas jovens são as principais responsáveis pela sinalização angiogênica inicial no sítio da lesão [14].

Estudos de citometria de fluxo demonstram que o PRP obtido por centrifugação lenta possui uma proporção significativamente maior de plaquetas reticuladas em comparação com o PRP obtido por métodos de centrifugação rápida. Esta diferença na composição celular traduz-se em uma maior concentração de fatores de crescimento como o PDGF e o TGF-beta no produto final. A valorização da heterogeneidade plaquetária e o ajuste dos parâmetros biofísicos para capturar a fração jovem são, portanto, pilares essenciais para a produção de um PRP de alta performance clínica [13].

3.19 O PAPEL DOS MONÓCITOS NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA REGENERATIVA

Os monócitos são componentes celulares vitais do PRP que atuam como maestros da resposta imune e regenerativa. Ao serem recrutados para o tecido lesado, os monócitos se diferenciam em macrófagos, que podem assumir diferentes estados de ativação. Enquanto os macrófagos M1 promovem a limpeza de debris e a defesa contra patógenos, os macrófagos M2 são essenciais para a resolução da inflamação e a indução da proliferação de fibroblastos e células-tronco mesenquimais. O

PRP que preserva a viabilidade dos monócitos favorece a transição precoce para o fenótipo M2, acelerando a cura tecidual [10].

A preservação dos monócitos no PRP exige um controle rigoroso da pureza leucocitária. Como os monócitos possuem densidades muito próximas às dos neutrófilos, qualquer imprecisão no protocolo de centrifugação ou na técnica de coleta pode resultar em uma contaminação neutrofílica que anula os benefícios dos monócitos. A presença de neutrófilos cria um ambiente oxidativo e proteolítico que pode induzir a diferenciação dos monócitos para o fenótipo M1, prolongando a fase inflamatória e retardando a regeneração. O Índice de Pureza Leucocitária, ao priorizar agranulócitos, garante que o potencial imunomodulador dos monócitos seja plenamente explorado [6].

Além da diferenciação em macrófagos, os monócitos presentes no PRP liberam citocinas como a IL-10 e o antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra), que possuem potentes efeitos anti-inflamatórios. Esta sinalização parácrina é fundamental para o tratamento de condições degenerativas crônicas, onde a inflamação persistente impede a reparação tecidual. A inclusão deliberada de monócitos viáveis, através de protocolos biofísicos otimizados, transforma o PRP de um simples concentrado de plaquetas em uma terapia celular complexa e altamente eficaz [3].

3.20 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A LIBERAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS

O estresse de cisalhamento excessivo durante a centrifugação não apenas ativa as plaquetas, mas também induz a formação de micropartículas plaquetárias (PMPs). As PMPs são pequenas vesículas de membrana (0.1 a 1.0 um) que carregam receptores de superfície e citocinas. Embora as PMPs desempenhem papéis na sinalização intercelular, sua formação excessiva e descontrolada durante o processamento pré-analítico é um indicador de dano celular e pode levar a uma resposta inflamatória sistêmica indesejada após a aplicação [1].

A concentração de micropartículas no PRP é inversamente proporcional à estabilidade do potencial zeta e à suavidade do protocolo de centrifugação. Em sistemas onde a RCF ultrapassa os limites de segurança, observa-se um aumento drástico na contagem de PMPs, o que correlaciona-se com a perda de integridade dos grânulos alfa. A preservação da integridade da membrana plaquetária, minimizando a geração de micropartículas extrínsecas, é essencial para garantir que a carga de fatores de crescimento seja entregue de forma organizada e fisiológica no sítio alvo [2].

Técnicas avançadas de caracterização, como a citometria de fluxo de alta resolução, permitem quantificar a presença de micropartículas e avaliar o grau de estresse mecânico sofrido pela amostra. A padronização de protocolos que visam a redução do cisalhamento, através do uso de RCF moderada e superfícies nanopolidas, resulta em um PRP com baixos níveis de micropartículas e alta viabilidade

celular. Este controle de qualidade em nível subcelular é o que define a nova fronteira da medicina regenerativa de precisão [9].

3.21 O IMPACTO DA FRENAGEM E A RESSUSPENSÃO DA CAMADA LEUCOCITÁRIA

A fase final da centrifugação, a desaceleração, é frequentemente o momento onde a pureza do PRP é comprometida. A aplicação de freios eletrônicos ou mecânicos cria um gradiente de desaceleração brusco que gera correntes de inércia dentro do tubo. Essas correntes promovem a ressuspensão de células que já haviam sedimentado, misturando granulócitos e hemácias com o plasma rico em plaquetas. Este fenômeno, conhecido como "efeito de mistura", pode reduzir drasticamente o índice de pureza leucocitária, mesmo que a fase de platô da centrifugação tenha sido perfeita [6].

Para evitar a ressuspensão, o uso da função "Brake OFF" (desaceleração por inércia total) é imperativo. Nesta configuração, o rotor para suavemente, permitindo que a estratificação celular seja mantida intacta. A parada inercial preserva a interface nítida entre o plasma e o sedimento, facilitando a coleta seletiva do *buffy coat*. Estudos comparativos mostram que a desativação do freio pode aumentar a pureza do PRP em até 30%, reduzindo significativamente a contaminação por neutrófilos e hemácias [9].

Além da pureza, a desaceleração suave protege as plaquetas contra o estresse de cisalhamento reverso. Mudanças bruscas na velocidade angular induzem forças de torção no fluido que podem ativar as plaquetas localizadas próximas às paredes do tubo. A padronização da técnica de parada inercial é, portanto, um componente essencial de qualquer protocolo que vise a produção de um biológico de alta qualidade e reprodutibilidade [5].

3.22 ENGENHARIA DE SUPERFÍCIE E A PREVENÇÃO DA ADESÃO PLAQUETÁRIA

A adesão plaquetária à superfície do tubo de processamento é um processo mediado pela adsorção de proteínas plasmáticas, como o fibrinogênio e a fibronectina, que formam uma ponte entre o material sintético e os receptores de membrana. Uma vez aderida, a plaqueta sofre espalhamento e degranulação, liberando seu conteúdo e ativando as plaquetas adjacentes. A engenharia de superfície busca interromper este ciclo através da criação de interfaces que inibem a adsorção proteica inicial [11].

O uso de nanopolimento reduz a área de superfície disponível para a adsorção proteica e elimina os sítios de ancoragem mecânica. Além disso, o tratamento químico das superfícies para torná-las mais hidrofílicas ou a aplicação de camadas de polietilenoglicol (PEG) cria uma barreira de hidratação que repele as proteínas plasmáticas. Estas superfícies "anti-fouling" garantem que as plaquetas

permaneçam em suspensão, maximizando a recuperação celular e evitando a perda de fatores de crescimento por ativação de contato [2].

A eficácia dessas tecnologias de superfície é comprovada pela análise da morfologia plaquetária após o processamento. Em tubos convencionais, é comum observar plaquetas com pseudópodes estendidos, indicando ativação parcial. Em tubos com engenharia de superfície avançada, as plaquetas mantêm sua forma discoide lisa, característica do estado de repouso. Este nível de preservação é fundamental para que o PRP mantenha sua potência terapêutica total até o momento da aplicação clínica [7].

3.23 O PAPEL DO PH NA VIABILIDADE E FUNÇÃO PLAQUETÁRIA

O pH do PRP não influencia apenas o potencial zeta, mas também o metabolismo intrínseco e a viabilidade das plaquetas. Durante o processamento e armazenamento, as plaquetas continuam metabolicamente ativas, consumindo glicose e produzindo lactato por meio da glicólise anaeróbica. O acúmulo de lactato leva à acidificação progressiva do meio. Se o pH cair abaixo de 6.2, as plaquetas sofrem danos estruturais irreversíveis, perdem sua morfologia discoide e tornam-se funcionalmente inertes [15].

A manutenção do pH dentro da janela ideal (6.8 a 7.2) é essencial para preservar a integridade dos grânulos alfa e a capacidade de resposta aos agonistas de ativação. O uso de sistemas de processamento que permitem a troca gasosa ou que utilizam anticoagulantes com capacidade tamponante ajuda a estabilizar o pH durante o período pré-analítico. A monitoração do pH deve ser integrada aos protocolos de controle de qualidade, servindo como um indicador indireto da saúde metabólica da amostra [9].

Além disso, o pH influencia a biodisponibilidade dos fatores de crescimento liberados. Muitos desses fatores, como o TGF-β, são armazenados em formas latentes que exigem variações de pH para sua ativação biológica. Um ambiente químico controlado garante que os fatores de crescimento permaneçam protegidos até que as condições do tecido-alvo induzam sua liberação e ativação fisiológica. O controle do pH é, portanto, uma variável biofísica que conecta o processamento laboratorial ao desfecho clínico regenerativo [15].

3.24 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A CAPTURA DE PLAQUETAS DE BAIXA DENSIDADE

As plaquetas de baixa densidade, que incluem as frações senescentes e certas subpopulações de plaquetas pequenas, possuem velocidades de sedimentação extremamente baixas. Em protocolos de

centrifugação rápida, essas células não têm tempo suficiente para atravessar a coluna de plasma e se concentrar no *buffy coat*, permanecendo dispersas no plasma pobre em plaquetas (PPP). Esta perda é clinicamente relevante, pois as plaquetas senescentes carregam um perfil distinto de citocinas e RNAs que contribuem para a modulação da fase tardia da cicatrização [12].

A extensão do tempo de centrifugação para 15 minutos, sob uma RCF moderada, é a estratégia biofísica para garantir a captura dessas frações leves. Este tempo adicional permite que mesmo as células com menor coeficiente de sedimentação atinjam a zona de coleta. O resultado é um PRP com perfil celular mais completo e representativo da fisiologia do paciente. A valorização das plaquetas de baixa densidade reflete uma mudança de paradigma: a busca não é apenas por "mais plaquetas", mas por "todas as plaquetas" [14].

A análise do PPP após o processamento pode validar a eficiência desta captura. Protocolos otimizados apresentam um PPP quase acelular, indicando que a vasta maioria das plaquetas, independentemente de sua densidade, foi concentrada no PRP. Este alto Índice de Eficiência de Captura (IEC) é um indicador de excelência técnica e garante que o potencial regenerativo total da amostra de sangue do paciente seja aproveitado [13].

3.25 O IMPACTO DA VIBRAÇÃO HARMÔNICA NA PUREZA DO PRP

Vibrações harmônicas são oscilações mecânicas que ocorrem quando a frequência de rotação da centrífuga coincide com a frequência natural de ressonância do sistema. Essas vibrações são transmitidas ao tubo de processamento, criando ondas de pressão no fluido que desestabilizam a interface plasma-hemácia. Em níveis críticos, a vibração harmônica pode causar a mistura completa das camadas celulares, invalidando o processo de separação por densidade [9].

A redução da vibração é alcançada através do balanceamento rigoroso do rotor e da manutenção dos componentes de amortecimento da centrífuga. Além disso, a remoção de suportes de tubos desnecessários e a simetria da carga são práticas essenciais para minimizar a excentricidade do rotor. Uma centrífuga operando de forma estável e silenciosa é um pré-requisito para a obtenção de um PRP com alto índice de pureza leucocitária, pois garante que a sedimentação ocorra em um ambiente de micro-estagnação relativa [11].

A monitoração da vibração pode ser feita por meio de sensores de aceleração integrados ao equipamento. Níveis elevados de vibração durante a fase de aceleração ou desaceleração são particularmente prejudiciais, pois é nestes momentos que a interface celular está mais vulnerável. A estabilidade mecânica, portanto, é uma variável biofísica invisível que dita a precisão da separação celular e a qualidade final do biológico regenerativo [5].

3.26 POTENCIAL ZETA E A PREVENÇÃO DA ATIVAÇÃO POR CONTATO

A ativação por contato ocorre quando as plaquetas tocam superfícies estranhas ou umas às outras, disparando a sinalização intracelular. O potencial zeta atua como um "escudo" eletrostático que previne este contato físico. Quando o potencial zeta é mantido em níveis ótimos, a distância de separação entre as células é maior que o alcance das forças de adesão molecular. Esta proteção é vital durante a fase de concentração, onde a densidade celular aumenta drasticamente e as chances de colisão são elevadas [14].

A perda do potencial zeta durante o processamento é frequentemente causada por erros pré-analíticos, como a exposição a temperaturas extremas ou o uso de anticoagulantes inadequados. Sem a repulsão eletrostática, as plaquetas aderem umas às outras, formando microagregados que são ineficazes para a sinalização tecidual. A preservação do potencial zeta garante que as plaquetas cheguem ao sítio da lesão em um estado de "prontidão", capazes de aderir especificamente ao colágeno exposto e liberar seus fatores de crescimento de forma coordenada [8].

Técnicas de análise coloidal, como a mobilidade eletroforética, permitem quantificar o potencial zeta e validar a estabilidade da suspensão de PRP. A integração deste parâmetro no controle de qualidade laboratorial eleva o padrão de segurança e eficácia das terapias regenerativas. Um PRP zeta-estável é sinônimo de um biológico preservado, onde a energia celular é conservada para o processo de cura, e não desperdiçada em ativações espúrias durante o processamento [13].

3.27 O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA NA HEMOCOMPATIBILIDADE

A hemocompatibilidade de um dispositivo de processamento de PRP é definida pela sua capacidade de entrar em contato com o sangue sem induzir reações adversas, como ativação plaquetária, hemólise ou ativação do sistema complemento. A superfície interna do tubo é o principal determinante desta propriedade. Superfícies que apresentam nanopolimento e tratamentos químicos específicos minimizam a ativação da via intrínseca da coagulação (fator XII), garantindo que o plasma permaneça fluido e as células íntegras [11].

A rugosidade superficial em nível microscópico pode causar a ruptura mecânica das hemácias (hemólise) durante a centrifugação. A liberação de hemoglobina livre e debris de membrana eritrocitária no plasma é altamente indesejável, pois esses componentes possuem efeitos pró-inflamatórios e podem interferir na sinalização dos fatores de crescimento plaquetários. O uso de tubos com superfícies internas ultra-lisas protege as hemácias contra o dano mecânico, garantindo um PRP limpo e biologicamente puro [7].

Além disso, a hemocompatibilidade superficial influencia a formação da "coroa de proteínas" (*protein corona*) ao redor das células. Em superfícies biocompatíveis, a adsorção de proteínas é seletiva e organizada, o que ajuda a manter a identidade biológica das plaquetas. Em superfícies não tratadas, a adsorção caótica de proteínas pode mascarar receptores celulares e induzir respostas imunes indesejadas. A engenharia de superfície é, portanto, uma ferramenta essencial para garantir a segurança imunológica do PRP [2].

3.28 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE LINFÓCITOS

Os linfócitos, embora menores que os monócitos e granulócitos, possuem uma densidade relativamente alta (1,077 g/mL) devido ao seu grande núcleo e citoplasma escasso. Esta densidade os posiciona em uma zona de sedimentação muito próxima à das plaquetas jovens e dos monócitos. A captura seletiva de linfócitos no PRP é desejável, pois essas células participam da regulação da resposta imune e podem secretar citocinas moduladoras que auxiliam no processo regenerativo [10].

A separação precisa de linfócitos exige um controle rigoroso da RCF. Se a força centrífuga for muito baixa, os linfócitos não sedimentarão o suficiente para se concentrarem no *buffy coat*, permanecendo dispersos na coluna de plasma. Se for muito alta, eles serão compactados junto com os granulócitos e hemácias. O protocolo de 650 G por 15 minutos oferece a janela ideal para que os linfócitos se organizem na camada superior do sedimento leucocitário, facilitando sua inclusão no PRP agranulocitário [5].

A presença de linfócitos no PRP contribui para a longevidade da resposta terapêutica. Diferente dos neutrófilos, que possuem vida curta e liberam enzimas destrutivas, os linfócitos podem persistir no tecido lesado e coordenar a sinalização celular por períodos mais longos. A valorização desta subpopulação agranulocitária, através de parâmetros biofísicos refinados, é um dos pilares para a obtenção de um PRP com perfil imunomodulador superior [6].

3.29 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A INTEGRIDADE DOS GRÂNULOS ALFA

Os grânulos alfa são as organelas de armazenamento dos fatores de crescimento nas plaquetas. A integridade desses grânulos é fundamental para a eficácia do PRP. O estresse de cisalhamento excessivo pode causar a permeabilização da membrana granular ou a exocitose prematura do seu conteúdo. Uma vez liberados no plasma durante o processamento, os fatores de crescimento ficam expostos a enzimas degradativas e perdem sua atividade biológica rapidamente [1].

A proteção dos grânulos alfa é alcançada através da minimização do estresse mecânico. Isso envolve não apenas o uso de RCF moderada, mas também a eliminação de turbulências e pontos de

atrito no sistema de processamento. O uso de tubos com nanopolimento interno e a desaceleração suave (Brake OFF) garantem que as plaquetas sofram o mínimo de perturbação física, mantendo seus grânulos alfa intactos até o momento da aplicação clínica [2].

A quantificação de proteínas específicas dos grânulos alfa no plasma (como a P-selectina solúvel ou o fator plaquetário 4) serve como um biomarcador de ativação indesejada. Amostras processadas sob condições biofísicas ideais apresentam níveis mínimos dessas proteínas no sobrenadante, confirmando que a carga regenerativa permanece confinada dentro das células. Este nível de controle pré-analítico é o que garante a potência e a reprodutibilidade dos desfechos clínicos [9].

3.30 O PAPEL DA FORÇA IÔNICA NA ESPESSURA DA DUPLA CAMADA ELÉTRICA

A força iônica do plasma dita a eficácia da repulsão eletrostática entre as plaquetas através da modulação da espessura da dupla camada elétrica, conhecida como comprimento de Debye. De acordo com a teoria DLVO, a força de repulsão decai exponencialmente com a distância, e a taxa desse decaimento é controlada pela força iônica. Em meios com baixa força iônica, a dupla camada elétrica é extensa, proporcionando uma barreira de repulsão de longo alcance que mantém as células bem separadas [8].

O uso de anticoagulantes altera a força iônica do sangue total. O citrato de sódio, ao se dissociar, aumenta a concentração de íons no plasma, o que tende a comprimir a dupla camada elétrica. Se a concentração de citrato for excessiva, a barreira de repulsão torna-se tão curta que as plaquetas podem colidir devido ao movimento browniano ou ao fluxo centrífugo, resultando em agregação. A padronização da concentração de anticoagulante é, portanto, um ajuste biofísico necessário para equilibrar a prevenção da coagulação com a manutenção da estabilidade coloidal [15].

Além da estabilidade, a força iônica influencia a conformação de proteínas de membrana e a atividade de enzimas plasmáticas. Um ambiente iônico controlado preserva a funcionalidade dos receptores plaquetários, garantindo que as células mantenham sua capacidade de responder aos sinais químicos do tecido lesado. O entendimento da relação entre força iônica e potencial zeta permite o refinamento dos protocolos de processamento, transformando a preparação do PRP em um procedimento de alta precisão físico-química [8].

3.31 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE MONÓCITOS

Os monócitos são as maiores células entre os agranulócitos (15-20 um) e possuem uma densidade de aproximadamente 1,072 a 1,075 g/mL. Esta combinação de tamanho grande e densidade

moderada confere aos monócitos uma velocidade de sedimentação que os posiciona estrategicamente no topo da camada leucocitária, logo abaixo das plaquetas jovens. Esta localização privilegiada facilita sua captura seletiva no PRP, desde que o protocolo de centrifugação seja calibrado para evitar a mistura com os neutrófilos subjacentes [10].

A captura de monócitos é essencial para a eficácia do PRP em patologias crônicas. Os monócitos secretam uma ampla gama de citocinas e fatores de crescimento que complementam a ação das plaquetas, além de coordenarem a remodelação tecidual através da diferenciação em macrófagos M2. O uso de RCF moderada (650 G) garante que os monócitos não sejam compactados excessivamente, mantendo sua viabilidade e capacidade de migração após a aplicação [5].

A análise do índice de pureza leucocitária foca na maximização da recuperação de monócitos enquanto minimiza a presença de granulócitos. Um PRP rico em monócitos e pobre em neutrófilos representa o "padrão ouro" para a modulação regenerativa. A obtenção deste perfil celular exige não apenas o equipamento correto, mas um profundo entendimento da cinética de sedimentação e a aplicação rigorosa de parâmetros biofísicos durante o processamento [6].

3.32 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A ATIVAÇÃO DO RECEPTOR GPIIB/IIIA

O receptor GPIIb/IIIa é a principal molécula responsável pela agregação plaquetária. Em estado de repouso, este receptor encontra-se em uma conformação de baixa afinidade. O estresse de cisalhamento excessivo durante a centrifugação pode induzir uma mudança conformacional direta no GPIIb/IIIa, ativando-o mecanicamente. Uma vez ativado, o receptor liga-se ao fibrinogênio plasmático, promovendo a formação de pontes entre as plaquetas e resultando em agregação irreversível [1].

A prevenção da ativação mecânica do GPIIb/IIIa é um dos principais objetivos dos protocolos de centrifugação suave. Ao manter a RCF em níveis moderados (650 G), as forças de cisalhamento permanecem abaixo do limiar necessário para induzir a mudança conformacional do receptor. Isso garante que as plaquetas permaneçam individualizadas e funcionais. A integridade do receptor GPIIb/IIIa é um indicador crítico de qualidade, pois sua ativação prematura esgota a capacidade de agregação da plaqueta no sítio da lesão [2].

Além da RCF, o pH e a temperatura também influenciam a estabilidade do receptor GPIIb/IIIa. Ambientes alcalinos ou temperaturas elevadas facilitam a transição para a conformação de alta afinidade. A sinergia entre controle térmico, ajuste de pH e redução do cisalhamento mecânico é o que permite a produção de um PRP com plaquetas em estado de repouso verdadeiro, maximizando a eficácia terapêutica da intervenção [9].

3.33 O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA NA PREVENÇÃO DA HEMÓLISE

A hemólise, ou ruptura das hemácias, é um evento indesejável que pode ocorrer durante a centrifugação devido ao impacto mecânico das células contra as paredes do tubo ou devido ao estresse de cisalhamento no fluido. A liberação de hemoglobina e outros componentes intracelulares das hemácias no plasma rico em plaquetas altera a cor da amostra (plasma rosado) e introduz substâncias pró-inflamatórias e oxidantes que podem danificar as plaquetas e os leucócitos agranulócitos [11].

Superfícies internas rugosas ou com imperfeições microscópicas aumentam drasticamente o risco de hemólise mecânica. As hemácias, ao serem forçadas contra essas irregularidades pela força centrífuga, sofrem deformações extremas que levam à ruptura da membrana. O uso de tubos com nanopolimento interno cria uma interface ultra-lisa que protege as hemácias contra o dano por impacto, garantindo a integridade da série vermelha e a pureza do plasma sobrenadante [7].

A prevenção da hemólise é fundamental para a manutenção da estabilidade do potencial zeta. Os debris de membrana eritrocitária e as proteínas liberadas podem adsorver-se à superfície das plaquetas, alterando sua carga líquida e facilitando a agregação. Um PRP livre de hemólise, obtido através de dispositivos com engenharia de superfície avançada, apresenta maior estabilidade coloidal e um perfil bioquímico mais limpo, favorecendo desfechos clínicos superiores [2].

3.34 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE PLAQUETAS SENESCENTES

As plaquetas senescentes, embora menos ativas metabolicamente que as jovens, possuem um papel importante na sinalização de “limpeza” e resolução da inflamação. Elas apresentam densidades menores (1,040 g/mL) e volumes reduzidos, o que resulta em velocidades de sedimentação muito baixas. Em protocolos de centrifugação rápida, essas plaquetas frequentemente não atingem o *buffy coat*, permanecendo dispersas na porção superior da coluna de plasma [12].

A captura de plaquetas senescentes exige um tempo de centrifugação estendido. Ao rodar a amostra por 15 minutos a 650 G, permite-se que essas células leves percorram a distância necessária para se concentrarem na zona de coleta. Esta abordagem garante que o PRP contenha o espectro total da população plaquetária do paciente, respeitando a diversidade funcional intrínseca ao sistema hematológico. A inclusão das plaquetas senescentes contribui para uma resposta regenerativa mais equilibrada e fisiológica [14].

A análise da distribuição de tamanho plaquetário (MPV - *Mean Platelet Volume*) no PRP comparado ao sangue total pode indicar a eficiência da captura de diferentes subpopulações. Protocolos que capturam tanto as plaquetas grandes (jovens) quanto as pequenas (senescentes) apresentam um MPV similar ao basal, indicando que não houve seleção inadvertida por tamanho durante o

processamento. Este equilíbrio celular é um indicador de um protocolo biofisicamente robusto e clinicamente eficaz [13].

3.35 O IMPACTO DA ACELERAÇÃO PROGRESSIVA NA INTEGRIDADE CELULAR

A fase inicial da centrifugação, a aceleração, submete as células a um aumento rápido da força inercial. Se a aceleração for muito brusca, as células localizadas no fundo do tubo podem ser esmagadas pelo peso da coluna de sangue acima delas antes mesmo de iniciarem seu movimento de sedimentação. Além disso, acelerações rápidas induzem turbulências iniciais que podem causar colisões violentas entre as células, disparando a ativação precoce [9].

O uso de curvas de aceleração progressiva (rampas suaves) permite que as células se organizem gradualmente de acordo com suas densidades à medida que a força centrífuga aumenta. Isso minimiza o estresse mecânico inicial e preserva a integridade das membranas celulares. A aceleração controlada é particularmente importante para a preservação do potencial zeta, pois evita que as células sejam forçadas a uma proximidade crítica antes que a estratificação por densidade comece a atuar como um mecanismo de separação natural [11].

A padronização da curva de aceleração (ex: nível 3 em uma escala de 1 a 10) garante que a transição do estado de repouso para a velocidade de platô ocorra de forma harmônica. Este cuidado técnico reduz a incidência de ativação mecânica e contribui para a obtenção de um PRP com alta viabilidade celular. A aceleração progressiva é, portanto, um componente vital da “centrifugação suave”, focada na preservação da biologia celular em detrimento da velocidade de processamento [5].

3.36 POTENCIAL ZETA E A INFLUÊNCIA DO ANTICOAGULANTE

O tipo e a concentração do anticoagulante utilizado na coleta do sangue total influenciam diretamente o potencial zeta das plaquetas. O citrato de sódio é o padrão ouro para a preparação de PRP, pois preserva a morfologia plaquetária e permite a reversibilidade da anticoagulação. No entanto, a força iônica resultante da adição de citrato pode comprimir a dupla camada elétrica, reduzindo o potencial zeta se a proporção não for respeitada [14].

O uso de ACD-A (Ácido Citrato Dextrose) oferece uma vantagem biofísica adicional: a dextrose fornece substrato metabólico para as plaquetas, enquanto o ácido cítrico livre ajuda a manter o pH levemente ácido. Como discutido anteriormente, um pH em torno de 6.8 maximiza a carga negativa superficial, elevando o potencial zeta e reforçando a estabilidade coloidal contra a agregação induzida pela centrifugação. Esta sinergia química e física é o que permite o processamento de amostras por tempos prolongados sem perda de qualidade [8].

Anticoagulantes como o EDTA são contraindicados para a preparação de PRP terapêutico, pois causam danos irreversíveis à membrana plaquetária e alteram drasticamente o potencial zeta, levando à ativação e fragmentação celular. A escolha criteriosa do anticoagulante e a manutenção da proporção 9:1 são, portanto, os primeiros passos para garantir que as variáveis biofísicas permaneçam sob controle durante todo o processo de obtenção do PRP [15].

3.37 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE NEUTRÓFILOS

Os neutrófilos representam a vasta maioria dos granulócitos e são os principais responsáveis pela resposta inflamatória aguda. Devido ao seu núcleo denso e citoplasma rico em grânulos, eles possuem uma densidade de aproximadamente 1,085 g/mL. Pela Lei de Stokes, esta alta densidade, combinada com um tamanho considerável (12 um), resulta em uma velocidade de sedimentação muito superior à das plaquetas e agranulócitos. Em um campo centrífugo de 650 G, os neutrófilos migram rapidamente para a base da coluna de plasma [10].

A separação eficiente de neutrófilos é o que define o PRP pobre em leucócitos (LP-PRP). Se a centrifugação for interrompida precocemente, os neutrófilos ainda estarão em trânsito na coluna de plasma, contaminando o PRP. O tempo de 15 minutos é calculado para garantir que a vasta maioria dos neutrófilos atinja o sedimento eritrocitário, deixando o plasma sobrenadante livre dessas células inflamatórias. Esta seletividade temporal é fundamental para a segurança biológica do produto final [5].

A presença de neutrófilos no PRP pode ser detectada por contagem diferencial ou por marcadores enzimáticos como a mieloperoxidase (MPO). Um protocolo biofisicamente otimizado deve resultar em uma redução de pelo menos 80% na concentração de neutrófilos em relação ao sangue total. Esta pureza garante que o PRP atue como um agente regenerativo puro, minimizando o risco de dor e inflamação excessiva após a aplicação clínica [6].

3.38 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO

O processamento do PRP pode induzir a ativação do sistema complemento através da via alternativa, disparada pelo contato do plasma com superfícies artificiais e pelo estresse mecânico. A ativação do complemento leva à formação de anafilatoxinas (C3a, C5a) que são potentes mediadores inflamatórios e podem induzir a degranulação de mastócitos e a quimiotaxia de neutrófilos. O estresse de cisalhamento elevado durante a centrifugação acelera este processo de ativação extrínseca [9].

A minimização da ativação do complemento é alcançada através do uso de materiais biocompatíveis e da redução da RCF. Superfícies nanopolidas e revestimentos hidrofóbicos reduzem a

adsorção de proteínas do complemento e a subsequente ativação em cascata. Manter o processamento sob parâmetros de “centrifugação suave” protege a integridade das proteínas plasmáticas, garantindo que o PRP mantenha seu perfil imunomodulador original [11].

A ativação do complemento no PRP é um fator frequentemente ignorado que pode explicar reações inflamatórias inesperadas em alguns pacientes. O controle das variáveis biofísicas (RCF, tempo, superfície) visa não apenas proteger as células, mas também preservar a estabilidade das proteínas plasmáticas. Um PRP com baixa ativação do complemento é biologicamente mais seguro e apresenta uma melhor integração tecidual após a aplicação [2].

3.39 O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA NA ESTABILIDADE DO FIBRINOGÊNIO

O fibrinogênio é uma proteína plasmática chave que atua como ligante para a agregação plaquetária e como precursor da fibrina. O contato do fibrinogênio com superfícies artificiais rugosas ou de alta energia pode induzir mudanças conformacionais que expõem sítios de ligação crípticos, facilitando a adesão plaquetária e a formação de micro-coágulos. A estabilidade do fibrinogênio durante o processamento é, portanto, essencial para manter o PRP em estado fluido e as plaquetas em repouso [11].

Superfícies internas nanopolidas minimizam a interação direta com o fibrinogênio, preservando sua conformação nativa. Além disso, a ausência de picos microscópicos reduz o estresse mecânico sobre as moléculas de proteína durante o fluxo centrífugo. Esta preservação proteica complementa a estabilidade eletrostática fornecida pelo potencial zeta, criando um ambiente duplamente protegido contra a ativação indesejada [7].

A formação de redes de fibrina prematuras dentro do tubo de processamento é um sinal de falha na hemocompatibilidade da superfície ou de estresse mecânico excessivo. Essas redes aprisionam plaquetas e fatores de crescimento, reduzindo a eficiência de recuperação e alterando a cinética de liberação das citocinas. O uso de dispositivos com engenharia de superfície avançada garante que o fibrinogênio permaneça solúvel e funcional, permitindo a formação de um coágulo de fibrina organizado apenas após a ativação intencional no sítio cirúrgico [2].

3.40 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE EOSINÓFILOS E BASÓFILOS

Eosinófilos e basófilos são granulócitos presentes em menores concentrações no sangue total, mas que possuem densidades elevadas (1,088 g/mL e 1,079 g/mL, respectivamente). Devido à sua alta densidade, essas células seguem uma cinética de sedimentação similar à dos neutrófilos, migrando

rapidamente para a base da coluna de plasma durante a centrifugação. A exclusão dessas células do PRP é desejável para evitar respostas alérgicas ou inflamatórias inespecíficas [10].

O protocolo de 650 G por 15 minutos é eficaz na remoção de eosinófilos e basófilos da zona de coleta do PRP. O tempo prolongado garante que mesmo os basófilos, que são ligeiramente menos densos que os neutrófilos, atinjam a interface com as hemácias. Esta purificação granulocitária completa é o que caracteriza um PRP de alta pureza. A manutenção de uma RCF moderada impede que essas células sofram degranulação mecânica durante a sedimentação, o que poderia liberar histamina e outras aminas vasoativas no plasma rico [5].

A análise da pureza leucocitária deve idealmente incluir a contagem diferencial de todas as subpopulações de granulócitos. Um PRP de qualidade superior apresenta níveis indetectáveis de eosinófilos e basófilos. Este rigor na seletividade celular, fundamentado no conhecimento das densidades celulares, garante a segurança biológica do procedimento e minimiza o risco de complicações pós-operatórias relacionadas à resposta imune inata [6].

3.41 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A ATIVAÇÃO DO FATOR DE VON WILLEBRAND

O fator de von Willebrand (vWF) é uma glicoproteína multimérica essencial para a adesão plaquetária em condições de alto fluxo. O estresse de cisalhamento elevado durante a centrifugação pode induzir o desenrolamento das moléculas de vWF, expondo seus domínios de ligação às plaquetas (domínio A1). Uma vez desenrolado, o vWF pode mediar a formação de agregados plaquetários mesmo na ausência de dano vascular, um fenômeno conhecido como agregação induzida pelo cisalhamento [1].

A prevenção do desenrolamento do vWF é alcançada através da manutenção da RCF em níveis moderados. Ao evitar picos de cisalhamento mecânico, preserva-se a conformação globular inativa do vWF, garantindo que ele não dispare a ativação plaquetária dentro do tubo de processamento. Este controle biofísico é fundamental para manter a estabilidade coloidal do PRP e a viabilidade das plaquetas concentradas [2].

Além da RCF, a presença de íons cálcio influencia a estabilidade do vWF. A anticoagulação eficiente com citrato de sódio ajuda a estabilizar a conformação do vWF, mas o estresse mecânico pode superar este efeito protetor. A sinergia entre uma anticoagulação correta e um protocolo de centrifugação suave é o que garante que o vWF permaneça funcional e pronto para atuar apenas no momento da lesão tecidual, onde o cisalhamento fisiológico e a exposição de colágeno dispararão sua ação natural [9].

3.42 O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA NA PREVENÇÃO DA ADSORÇÃO DE IGG

A adsorção de imunoglobulinas (IgG) à superfície do tubo de processamento pode levar à exposição de seus domínios Fc, que podem interagir com receptores nas plaquetas, disparando a ativação e agregação. Este mecanismo de ativação imune-mediada por superfície é uma causa comum de perda de qualidade em dispositivos de processamento de baixo custo. A engenharia de superfície visa criar interfaces que minimizem a adsorção inespecífica de anticorpos plasmáticos [11].

Superfícies nanopolidas e tratadas com polímeros biocompatíveis reduzem a afinidade por imunoglobulinas, mantendo-as em solução e em sua conformação nativa. Isso evita a sinalização espúria através dos receptores Fc plaquetários, preservando o estado de repouso das células. A hemocompatibilidade superficial, portanto, envolve a proteção contra a ativação imune, além da proteção contra a coagulação e a ativação mecânica [2].

A análise da ativação plaquetária via receptores Fc pode ser feita por marcadores de fosforilação intracelular. Amostras processadas em tubos com superfícies otimizadas apresentam níveis basais de sinalização, indicando que a interface do dispositivo não interferiu na biologia imune das plaquetas. Este nível de sofisticação tecnológica é essencial para a produção de um PRP que seja verdadeiramente inerte até o momento da sua aplicação terapêutica [7].

3.43 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE PLAQUETAS RETICULADAS GRANDES

As plaquetas reticuladas grandes representam a subpopulação mais jovem e funcionalmente potente. Devido ao seu maior volume e densidade, elas possuem coeficientes de sedimentação significativamente maiores que as plaquetas maduras. Em protocolos de centrifugação rápida ou com RCF elevada, essas plaquetas “pesadas” são as primeiras a serem arrastadas para dentro da camada de hemácias, resultando em um PRP empobrecido na sua fração mais regenerativa [12].

O uso de RCF moderada (650 G) permite que as plaquetas reticuladas grandes sedimentem de forma controlada, concentrando-se na porção inferior do *buffy coat* sem penetrar no sedimento eritrocitário. O tempo de 15 minutos garante que essas células tenham tempo de se organizar nesta camada de alta densidade plaquetária. A preservação desta fração é o que confere ao PRP sua alta capacidade de liberação de fatores de crescimento e resposta angiogênica [14].

A quantificação de plaquetas reticuladas por citometria de fluxo (usando corantes de RNA como o tiazol laranja) é o método definitivo para validar a eficiência de captura desta subpopulação. Protocolos biofisicamente otimizados apresentam uma recuperação de plaquetas reticuladas superior a

90%. Este alto rendimento garante que o PRP entregue ao paciente possua a máxima potência biológica permitida pela fisiologia individual do doador [13].

3.44 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A ATIVAÇÃO DA VIA EXTRÍNSECA DA COAGULAÇÃO

O estresse de cisalhamento elevado pode causar micro-danos às membranas celulares, levando à exposição de fosfolipídeos procoagulantes (como a fosfatidilserina) e à liberação de fator tecidual (TF) de monócitos ou debris celulares. Esses eventos disparam a via extrínseca da coagulação ainda dentro do tubo de processamento, resultando na formação de trombina. A trombina é o mais potente ativador plaquetário conhecido, e sua presença, mesmo em níveis traço, causa a degranulação completa das plaquetas [1].

A prevenção da geração de trombina mecânica é alcançada através da redução do cisalhamento e do uso de superfícies hemocompatíveis. Ao manter a RCF em 650 G e utilizar tubos nanopolidos, minimiza-se o dano à membrana celular e a exposição de sítios procoagulantes. Isso garante que a cascata de coagulação permaneça bloqueada pelo anticoagulante citratado, preservando a fluidez do plasma e a integridade das plaquetas [2].

A monitoração de complexos trombina-antitrombina (TAT) no PRP serve como um indicador sensível de ativação da coagulação durante o processamento. Níveis elevados de TAT correlacionam-se com a perda de qualidade do biológico e com a redução da eficácia clínica. A padronização de protocolos biofísicos visa manter os níveis de TAT próximos ao basal, garantindo que o PRP seja um concentrado de células quiescentes e não um coágulo em formação [9].

3.45 O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA NA ESTABILIDADE DA ALBUMINA PLASMÁTICA

A albumina é a proteína mais abundante no plasma e desempenha um papel fundamental na manutenção da pressão oncótica e no transporte de moléculas. Além disso, a albumina exerce um efeito protetor sobre as plaquetas, adsorvendo-se fracamente à sua superfície e ajudando a manter o potencial zeta. O contato da albumina com superfícies artificiais inadequadas pode levar à sua desnaturação, perdendo seu efeito protetor e facilitando a adesão plaquetária [11].

Superfícies internas com nanopolimento e tratamentos hidrofílicos preservam a conformação nativa da albumina, permitindo que ela continue a exercer sua função estabilizadora sobre as células em suspensão. Esta “passivação” natural da superfície pela albumina nativa é um mecanismo importante para a hemocompatibilidade dos dispositivos de processamento. A engenharia de superfície visa

favorecer esta adsorção organizada e reversível da albumina em detrimento da adsorção de proteínas pró-coagulantes [2].

A integridade das proteínas plasmáticas no PRP é essencial para a sinalização celular pós-aplicação. A albumina atua como um carreador para muitos fatores de crescimento e citocinas, protegendo-os contra a degradação proteolítica. Um PRP processado em dispositivos que respeitam a estabilidade proteica apresenta maior longevidade dos fatores de crescimento no sítio da lesão, potencializando os desfechos regenerativos [7].

3.46 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE HEMÁCIAS JOVENS (RETICULÓCITOS)

Os reticulócitos, ou hemácias jovens, possuem densidades ligeiramente menores que as hemácias maduras (1,090 g/mL vs 1,100g/mL). Devido a esta diferença, os reticulócitos tendem a se localizar na porção superior do sedimento eritrocitário, muito próximos ao *buffy coat*. A contaminação do PRP com reticulócitos é comum em protocolos de alta RCF, onde a interface celular é comprimida e desestabilizada [10].

O uso de RCF moderada (650 G) e tempo prolongado permite uma separação mais clara entre a série branca e a série vermelha jovem. A manutenção de uma interface estável garante que os reticulócitos permaneçam confinados no sedimento, resultando em um PRP com baixíssima contagem de hemácias. A ausência de hemácias no PRP é desejável, pois o ferro livre e os debris eritrocitários podem induzir estresse oxidativo e prejudicar a viabilidade das células-tronco mesenquimais no sítio da lesão [5].

A pureza do PRP em relação à série vermelha é avaliada pelo índice de contaminação eritrocitária. Um protocolo biofisicamente robusto deve apresentar uma redução de pelo menos 95% na contagem de hemácias em relação ao sangue total. Esta limpeza celular é o que permite a obtenção de um concentrado de cor amarela límpida, característico de um PRP de alta qualidade e segurança biológica [6].

3.47 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A ATIVAÇÃO DA VIA INTRÍNSECA (FATOR XII)

A via intrínseca da coagulação é disparada pelo contato do fator XII (fator de Hageman) com superfícies carregadas negativamente ou rugosas. O estresse de cisalhamento elevado acelera a ativação do fator XII, iniciando uma cascata que leva à geração de bradicinina e trombina. A bradicinina é um potente mediador de dor e inflamação, e sua presença no PRP pode causar desconforto significativo ao paciente após a aplicação [9].

A minimização da ativação da via intrínseca é alcançada através do uso de superfícies internas com baixa energia superficial e nanopolimento. Ao eliminar os sítios de ativação do fator XII, preserva-se a estabilidade do plasma e evita-se a geração de mediadores inflamatórios espúrios. Este controle é essencial para a produção de um PRP "silencioso", que atua na regeneração sem causar exacerbação da dor local [11].

A monitoração da ativação do fator XII pode ser feita por ensaios de tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) ou pela quantificação de calicreína plasmática. Amostras processadas sob condições biofísicas ideais mantêm a via intrínseca inativa, garantindo que o potencial regenerativo do PRP não seja ofuscado por efeitos colaterais inflamatórios. A engenharia de superfície e a redução do cisalhamento são, portanto, fundamentais para a tolerabilidade clínica do procedimento [2].

3.48 O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA NA PREVENÇÃO DA ADSORÇÃO DE COMPLEMENTO C3

A adsorção da proteína C3 do sistema complemento à superfície do tubo de processamento pode levar à sua clivagem e ativação, gerando C3a e C3b. O C3b depositado na superfície pode atuar como uma opsonina, facilitando a adesão e ativação de leucócitos e plaquetas através de receptores de complemento. Este mecanismo de ativação mediada por complemento é uma causa importante de inflamação pré-analítica em sistemas de processamento de biológicos [9].

Superfícies internas com nanopolimento e tratamentos de passivação química reduzem drasticamente a adsorção e ativação do C3. Ao manter o sistema complemento inativo, preserva-se a integridade imunológica do PRP e evita-se a geração de anafilatoxinas. Esta proteção é vital para garantir que o PRP mantenha seu perfil de segurança, especialmente em aplicações intra-articulares ou em tecidos sensíveis [11].

A análise da ativação do complemento no PRP pode ser feita pela quantificação de complexos de ataque à membrana (sC5b-9) no sobrenadante. Níveis baixos de ativação do complemento são um indicador de alta hemocompatibilidade do dispositivo de processamento. A integração de princípios de engenharia de superfície na fabricação de tubos para PRP é, portanto, uma necessidade para a evolução da terapia celular regenerativa [2].

3.49 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE PLAQUETAS AGREGADAS

Plaquetas que sofrem agregação parcial durante a coleta ou processamento formam complexos de maior tamanho e densidade. Pela Lei de Stokes, esses agregados possuem velocidades de sedimentação muito superiores às das plaquetas individuais, migrando rapidamente para o sedimento

eritrocitário. A perda de agregados plaquetários reduz o rendimento final do PRP e indica uma falha na estabilidade coloidal da amostra [1].

A manutenção do potencial zeta elevado e a redução do estresse mecânico visam impedir a formação desses agregados. Um protocolo biofisicamente robusto garante que as plaquetas permaneçam individualizadas, permitindo que elas sedimentem de forma previsível e se concentrem na zona de coleta. A presença de agregados no sedimento de hemácias, identificável por análise histológica ou citometria de imagem, é um sinal de processamento inadequado e perda de potência terapêutica [14].

A eficiência de recuperação plaquetária é o parâmetro que valida a ausência de agregação indesejada. Protocolos que atingem recuperações superiores a 85% demonstram que a estabilidade coloidal foi mantida, permitindo que a vasta maioria das plaquetas fosse capturada como unidades funcionais isoladas. Este controle é essencial para garantir a dose terapêutica correta de fatores de crescimento no sítio da lesão [8].

3.50 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A ATIVAÇÃO DA VIA DA CICLOOXIGENASE (COX-1)

O estresse de cisalhamento elevado pode induzir a ativação da via da ciclooxigenase-1 (COX-1) nas plaquetas, levando à produção de tromboxano A2 (TXA2). O TXA2 é um potente vasoconstritor e ativador plaquetário que amplifica a resposta de agregação e degranulação. A ativação da via da COX-1 durante a centrifugação resulta em um PRP “pré-ativado”, onde a capacidade de resposta fisiológica das plaquetas está comprometida [1].

A prevenção da ativação da COX-1 mecânica é alcançada através da redução da RCF e do controle térmico. Temperaturas elevadas aceleram a atividade enzimática da COX-1, exacerbando os efeitos do cisalhamento. Ao manter o processamento a 650 G e 17-20°C, minimiza-se a produção de TXA2, preservando a integridade funcional das plaquetas. Este controle é fundamental para garantir que a ativação plaquetária ocorra apenas de forma controlada após a aplicação clínica [2].

A quantificação de metabólitos do tromboxano (como o TXB2) no PRP serve como um indicador sensível de estresse bioquímico durante o processamento. Níveis baixos de TXB2 correlacionam-se com uma melhor preservação da morfologia plaquetária e uma maior eficácia regenerativa. A padronização de protocolos biofísicos visa manter a via da COX-1 em estado basal, garantindo a qualidade e a segurança do biológico [9].

3.51 O PAPEL DA SUPERFÍCIE INTERNA NA PREVENÇÃO DA ADSORÇÃO DE FATOR V

O fator V da coagulação é um cofator essencial para o complexo protrombinase, que gera trombina. O fator V pode adsorver-se a superfícies artificiais, onde pode ser ativado para fator Va, acelerando a coagulação local. A engenharia de superfície busca minimizar a adsorção do fator V para prevenir a formação de focos de geração de trombina na parede do tubo de processamento [11].

Superfícies internas com nanopolimento e tratamentos de passivação reduzem a afinidade por fatores de coagulação, mantendo-os em sua forma inativa no plasma. Isso garante que a fluidez da amostra seja preservada mesmo durante centrifugações longas. A hemocompatibilidade superficial, portanto, envolve o controle fino da adsorção de múltiplos fatores da cascata de coagulação, garantindo a integridade do biológico [2].

A análise da atividade dos fatores de coagulação no PRP processado pode validar a inércia química do dispositivo. Amostras que mantêm os tempos de coagulação (TP e TTPa) dentro da normalidade indicam que a superfície do tubo não interferiu no equilíbrio hemostático da amostra. Este nível de controle é essencial para a produção de um PRP que seja biologicamente estável e clinicamente confiável [7].

3.52 CINÉTICA DE SEDIMENTAÇÃO E A SEPARAÇÃO DE PLAQUETAS GIGANTES (MACROPLAQUETAS)

As macroplaquetas são plaquetas de grande volume (12-20 fL) que frequentemente aparecem em estados de regeneração medular acelerada. Devido ao seu grande tamanho, elas possuem velocidades de sedimentação muito elevadas, similares às dos linfócitos. A captura de macroplaquetas é desejável, pois elas carregam uma carga proporcionalmente maior de fatores de crescimento e organelas [12].

A separação precisa de macroplaquetas exige uma RCF moderada para evitar que elas sejam compactadas precocemente no sedimento eritrocitário. O protocolo de 650 G por 15 minutos permite que as macroplaquetas se organizem na base do *buffy coat*, facilitando sua inclusão no PRP concentrado. A preservação desta subpopulação contribui para a potência regenerativa do produto final, garantindo que as células mais ricas em citocinas sejam aproveitadas [14].

A monitoração do histograma de volume plaquetário permite verificar a presença de macroplaquetas no PRP. Protocolos que preservam a cauda direita do histograma (volumes elevados) demonstram uma alta eficiência de captura de todas as subpopulações plaquetárias. Este rigor biofísico é o que permite a obtenção de um PRP verdadeiramente representativo da capacidade regenerativa do paciente [13].

3.53 ESTRESSE DE CISALHAMENTO E A ATIVAÇÃO DA VIA DA ADENILATO CICLASE

A via da adenilato ciclase regula os níveis intracelulares de AMP cíclico (cAMP), que é um potente inibidor da ativação plaquetária. O estresse de cisalhamento elevado pode interferir nesta via, levando à queda dos níveis de cAMP e facilitando a ativação celular. A manutenção de níveis elevados de cAMP é uma estratégia biológica para manter as plaquetas em estado de repouso [1].

A redução do cisalhamento mecânico através de protocolos de centrifugação suave ajuda a preservar a atividade da adenilato ciclase e os níveis de cAMP. Isso reforça a estabilidade intrínseca das plaquetas contra a ativação espúria. A sinergia entre a estabilidade eletrostática (potencial zeta) e a estabilidade bioquímica (cAMP) é o que garante a máxima qualidade do PRP [2].

A quantificação de cAMP intracelular pode servir como um marcador avançado de preservação celular. Amostras processadas sob condições biofísicas ideais mantêm níveis de cAMP similares aos das plaquetas circulantes, indicando que o processamento não induziu estresse bioquímico significativo. Este nível de detalhamento no controle de qualidade é o que define a excelência na produção de biológicos regenerativos [9].

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente revisão de literatura demonstra de forma inequívoca que a qualidade do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) transcende a simples concentração numérica de plaquetas, sendo o resultado de uma complexa interação de determinantes biofísicos, químicos e mecânicos. A transição de protocolos empíricos para metodologias fundamentadas na ciência de fronteira revela que variáveis como a força centrífuga relativa (RCF) moderada, o tempo de processamento estendido e o controle rigoroso da termodinâmica são essenciais para a preservação da integridade celular. A aplicação da Lei de Stokes e o monitoramento do potencial zeta emergem não apenas como conceitos teóricos, mas como ferramentas práticas indispensáveis para garantir a estabilidade coloidal e evitar a ativação plaquetária precoce, que compromete a eficácia terapêutica do biológico.

A compreensão da heterogeneidade plaquetária e das diferenças de densidade entre granulócitos e agranulócitos permite o desenvolvimento de protocolos de centrifugação mais seletivos e menos agressivos. A análise detalhada da pureza leucocitária reforça a importância da seletividade celular, onde a exclusão de granulócitos pró-inflamatórios e a preservação de agranulócitos imunomoduladores definem o potencial regenerativo do concentrado. Este nível de precisão é alcançado através do entendimento da cinética de sedimentação e da implementação de zonas de exclusão milimétricas durante a coleta, garantindo que o PRP permaneça em um estado funcional estável, livre de ativação precoce e agregação deletéria.

Paralelamente, a engenharia de superfície dos dispositivos de processamento revela-se um pilar fundamental na preservação da integridade celular. O uso de nanopolimento e materiais hemocompatíveis minimiza a ativação por contato e o estresse de cisalhamento, protegendo a carga de fatores de crescimento confinada nos grânulos alfa. A transição para materiais biocompatíveis e superfícies nanopolidas é, portanto, essencial para minimizar a ativação extrínseca e garantir a reprodutibilidade dos resultados.

Apesar dos avanços, persistem lacunas na literatura, especialmente no que diz respeito à padronização universal de protocolos e à influência de variáveis individuais do paciente, como o uso de hormônios e medicamentos, na reologia sanguínea. Direções futuras devem focar na integração de tecnologias de monitoramento em tempo real durante o processamento e na realização de estudos clínicos multicêntricos que correlacionem o Índice de Pureza Leucocitária com desfechos terapêuticos a longo prazo.

Em conclusão, a padronização dos protocolos de PRP deve integrar todos esses determinantes biofísicos para superar a variabilidade clínica histórica e garantir resultados reproduzíveis. O futuro da medicina regenerativa reside na capacidade de produzir biológicos “sob medida”, onde a composição celular e a estabilidade bioquímica são rigorosamente controladas desde a coleta até a aplicação. A síntese das evidências aqui apresentadas oferece um roteiro científico para clínicos e pesquisadores, consolidando o PRP como uma terapia de precisão, fundamentada no respeito à biologia celular e na excelência dos processos biofísicos de separação.

REFERÊNCIAS

[1] Söderström A, Nybo M, Nielsen C, Vinholt PJ. The effect of centrifugation speed and time on pre-analytical platelet activation. Clin Chem Lab Med. 2016. doi: 10.1515/cclm-2016-0079.

[2] Cheng L, Wang L, Wang S, Liu Q, Diao R, Yao C. The effect of physical cues on platelet storage lesion. Hematology. 2025. doi: 10.1080/16078454.2025.2450573.

[3] Leukocyte-rich versus leukocyte-poor platelet-rich plasma for osteoarthritis: a systematic review. Regen Ther. 2026;31:101078. doi: 10.1016/j.reth.2026.101078.

[4] Adverse reactions and clinical outcomes for leukocyte-poor versus leukocyte-rich platelet-rich plasma in knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. 2021. (PMC8255589).

[5] Marín Fermín T, Al-Dolaymi AAM, Díaz Heredia J, Álvarez Villar S, Papakostas E, Ruiz Ibán MÁ. How to extract leucocyte-poor platelet-rich plasma using a commercial platelet concentration system developed to obtain leucocyte-rich platelet-rich plasma: a pilot study. J Exp Orthop. 2026. doi: 10.1002/jeo2.70597.

[6] Optimization of leukocyte-poor platelet-rich plasma preparation: a validation study of leukocyte-poor platelet-rich plasma obtained using different preparer, storage, and activation methods. J Exp Orthop. 2019;6. doi: 10.1186/s40634-019-0190-8.

[7] Tsujino T, Masuki H, Nakamura M, Isobe K, Kawabata H, Aizawa H, *et al.* Striking differences in platelet distribution between advanced-platelet-rich fibrin and concentrated growth factors: effects of silica-containing plastic tubes. J Funct Biomater. 2019;10(3):43.

[8] Ai H, Fang M, Jones SA, Lvov Y. Electrostatic layer-by-layer nanoassembly on biological microtemplates: platelets. Biomacromolecules. 2002;3(3):560-4. doi: 10.1021/bm015659r.

[9] Technical procedures for preparation and administration of platelet-rich plasma and related products: a scoping review. Front Cell Dev Biol. 2020;8:598816. doi: 10.3389/fcell.2020.598816.

[10] Comparative characterization of leukocyte-rich platelet-rich plasma (L-PRP) and injectable platelet-rich fibrin (i-PRF): a laboratory study. Cells. 2026;15(10):886.

[11] Blood collection device components: issues, innovations, and recommendations for clinical laboratories and manufacturers. J Lab Precis Med. 2025;10:11. doi: 10.21037/jlpm-25-5.

[12] Martínez-Botía P, *et al.* Not all platelets are created equal: a review on platelet aging and functional quality in regenerative medicine. Cells. 2025;14(15):1206.

[13] Tassi Yunga S, *et al.* What can we learn from senescent platelets, their transcriptomes and proteomes? Platelets. 2023;34(1):2200838. doi: 10.1080/09537104.2023.2200838.

[14] Tatsumi N, Tsuda I, Masaoka M, Imai K. Measurement of the zeta potential of human platelets by the use of laser-light scattering. Thromb Res. 2015.