

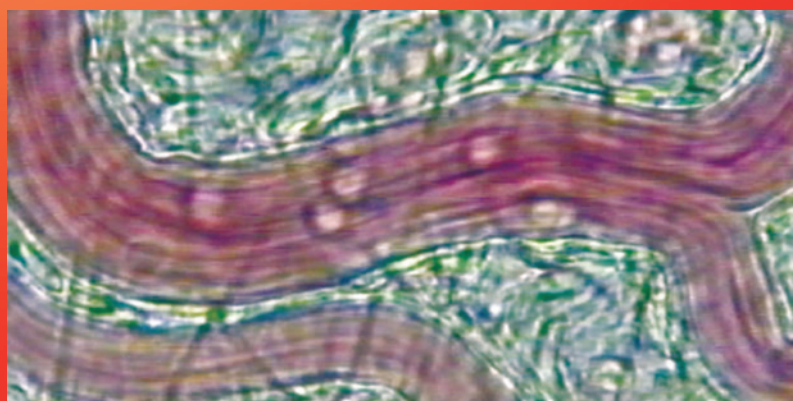


publicação semestral

Janeiro-Junho

vol. 36 n.º 1 2021

BSPHM



www.hemorreologia.com

Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Bulletin of the Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

BOLETIM

Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Bulletin of the Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

Editor Principal/Editor-in-Chief: Ana S. Silva-Herdade **Editor Associado/Associated Editor:** Alberto Escalda **Conselho Editorial Internacional/International Editorial Board:** PORTUGAL: J. M. Braz Nogueira, Victor Oliveira, Luís Mendes Pedro, Fausto J. Pinto, João Martins e Silva, Carlota Saldanha
OUTROS PAÍSES: Friedrich Jung (Alemanha), Jean-Frederic Brun (França), Greet Schmid-Schoenbein (EUA), Nadia Antonova (Bulgária), Thomas Korff (Alemanha) **Coordenador Editorial:** Carlota Saldanha.

Vol. 36 n.º 1 Janeiro-Junho 2021

Sumário / Summary

NOTA DE ABERTURA / EDITORIAL

- E chegou o Verão!
Ana Silva-Herdade

3

ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

- INR vs. doseamento de fator X cromogénico e fator II:C em doentes com síndrome antifosfolipídica sob anticoagulação oral clássica
 - INR vs. chromogenic factor X and factor II:C assays in patients with antiphospholipid syndrome taking classical oral anticoagulants
- Maria Manuel Campos, João Manuel Lopes, Maria José Marques, Fabián Rincón, Ana Isabel Fernandes, Maria Elisabete Ribeiro, Ana Cristina Silva*

4

ARTIGO DE REVISÃO / REVIEW ARTICLE

- Introduction to hemorheology in microcirculation
- Paulo Luiz Farber*

11

Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Presidentes Honorário: Prof.^a Doutora Carlota Saldanha e Prof. Doutor João Martins e Silva

ÓRGÃOS SOCIAIS DA SPHM / BOARDS (2020-2022)

Direção

Presidente

Prof.^a Doutora Ana Santos Silva-Herdade

Vice-Presidente

Prof. Doutor Flávio Reis

Secretário-Geral

Doutor Paulo Farber

Tesoureiro

Dr. António Messias

Secretários-Adjuntos

Prof.^a Doutora Alice Santos Silva

Prof. Doutor Alberto Escalda

Dr. Luís Sargento

Assembleia Geral

Presidente

Prof. Doutor Carlos Moreira

Secretários

Doutora Patrícia Napoleão

Prof. Doutor Victor Oliveira

Secretários Suplentes

Dr. Paulo Ferreira da Silva

Dr.^a Sandra Hilário

Conselho Fiscal

Presidente

Prof. Doutor Luís Mendes Pedro

Vogais

Dr. Joaquim Canelas

Dr.^a Maria Helena Baptista Manso Ribeiro

Comissão de Delegados / Committee of Delegates

Prof. Doutor Henrique Rosário

Prof.^a Doutora Dulce Brito

Dr.^a Maria João Queiroz

CONSELHO CIENTÍFICO / SCIENTIFIC COUNCIL AND CONSELHO HONORÁRIO / HONORARY COUNCIL

Conselho Científico / Scientific Council

Àkos Koller (Hungria)

Alexei Muravyov (Rússia)

António Vaz Carneiro (Portugal)

Beat Imhof (Suíça)

Christian Lehmann (Alemanha)

David Lominadze (EUA)

Eliete Bouskela (Brasil)

Fausto Pinto (Portugal)

Friedrich Jung (Alemanha)

Gealdine Clough (UK)

Gerard B. Nash (UK)

Gregório Caimi (Itália)

J. Braz Nogueira (Portugal)

J. Fernandes e Fernandes (Portugal)

Jean Frederic Brun (França)

Kalman Toth (Hungria)

Marco Rossi (Itália)

Max Hardeman (Holanda)

Michael Rampling (UK)

Michael Simmonds (Austrália)

Nadia Antonova (Bulgária)

Philippe Connes (França)

Sayon Roy (EUA)

Walther Reinhart (Suíça)

Conselho Honorário / Honorary Council

A. M. Ehrly (Alemanha)

Carlos Ribeiro (Portugal)

Fausto Pinto (Portugal)

Fernando Lacerda Nobre (Portugal)

Helbert J. Meiselman (EUA)

Helena Saldanha (Portugal)

Herbert Lipowsky (EUA)

João Morais (Portugal)

J.M.G. Toscano Rico (Portugal)

Jean François Stoltz (França)

John Edward Tooke (UK)

Luís Providência (Portugal)

LuisTeixeira Diniz (Portugal)

Manuel Carrageta (Portugal)

Mário Andreia (Portugal)

Michel Boisseau (França)

Políbio Serra e Silva (Portugal)

Rafael Ferreira (Portugal)

Ricardo Seabra Gomes (Portugal)

Sayon Roy (EUA)

Yukihide Isogai (Japão)

FILIAÇÃO INTERNACIONAL

European Society For Clinical Hemorrhology European Society For Microcirculation

Referência da capa: Vénula pós-capilar (diâmetro aproximado: 30 mm) de rede microvascular em mesentério de rato (*Rattus norvegicus*), observada por microscopia intravital de transluminação. No interior do vaso sanguíneo visualizam-se leucócitos a interagir com a parede vascular. Imagem obtida por Henrique Sobral do Rosário (Instituto de Biopatologia Química – Prof.^a Doutora Carlota Saldanha, Faculdade de Medicina de Lisboa; Unidade de Biopatologia Vascular, Instituto de Medicina Molecular)

Esta publicação **NÃO FOI SUBSIDIADA DESDE 2018 PELA: FCT: Fundação para a Ciência e Tecnologia** (Ministério da Educação e Ciência – Portugal), ao abrigo do: **Apoio do Programa Operacional Ciência, Tecnologia, Inovação do Quadro Comunitário de Apoio III.**

Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação • Editor Principal: Ana S. Silva-Herdade • **N.º de registo na ERC:** 111795 • **Depósito Legal:** 30 525/89 • **ISSN:** 2182-6005 • **Periodicidade:** Semestral • **Proprietário:** Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, a/c Instituto de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa • **NIPC:** 501693262 • **Redação:** Av. Prof. Egas Moniz 1649-028 Lisboa • **Editora:** Publicações Ciência e Vida, Lda. • **E-mail:** pub@cienciaevida.pt • **Estatuto Editorial:** <http://www.hemorreologia.com/index.php/pt/estatutos-e-regulamentos/estatuto-editorial>

E CHEGOU O VERÃO!

Chegou o Verão e com ele a altura de lançar o primeiro boletim deste ano da SPHM. Trazemos um boletim um pouco mais pequeno que o habitual, mas numa época em que os contactos presenciais foram tão diminuídos, e ainda são de evitar, e o trabalho laboratorial também tem vindo a desconfinar aos poucos, é o possível, mas também o fundamental para dizer que aqui estamos.

Um dos artigos que vos apresentamos é do Dr. Paulo Faber, atual secretário da SPHM, é uma revisão sobre hemorreologia e microcirculação. A microcirculação é responsável pela oxigenação e nutrição de todos os tecidos e órgãos. O comportamento hemorreológico do sangue está por isso intimamente ligado com a microcirculação e daí a importância de rever conceitos como o shear stress, o shear rate e a viscosidade sanguínea e como estes influenciam a microcirculação sanguínea.

O outro artigo deste boletim é da Dra. Maria Manuel Campos, Assistente Graduada em Imuno-Hemoterapia, e é um estudo clínico em doentes com síndrome antifosfolípídica em que foi feito o doseamento de factor X e fator II cromogénico. A inclusão de estudos clínicos no nosso boletim é essencial não só para dar a conhecer o trabalho feito, e como são tantas vezes difíceis estes estudos clínicos, como também para promover colaborações científicas.

As colaborações científicas são um instrumento fundamental no desenvolvimento da investigação científica, tanto em estudos básicos como clínicos, pois promovem tanto o conhecimento teórico como o prático. As colaborações fazem-nos sempre aprender mais e chegar mais longe. Como diz o provérbio africano: Se quiseres ir depressa, vai sozinho; se quiseres ir longe, vai acompanhado. E por isso se este boletim conseguir promover colaborações científicas entre os seus leitores e colaboradores será uma mais-valia para todos.

Por fim, desejamos a todos um Verão cheio de sol para recuperar forças e ânimos para mais um ciclo.

Até breve,

Ana Silva-Herdade
Presidente da SPHM

INR VS. DOSEAMENTO DE FATOR X CROMOGÉNICO E FATOR II:C EM DOENTES COM SÍNDROME ANTIFOSFOLIPÍDICA SOB ANTICOAGULAÇÃO ORAL CLÁSSICA

INR VS. CHROMOGENIC FACTOR X AND FACTOR II:C ASSAYS IN PATIENTS WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME TAKING CLASSICAL ORAL ANTICOAGULANTS

Maria Manuel Campos¹, João Manuel Lopes², Maria José Marques³, Fabián Rincón², Ana Isabel Fernandes³, Maria Elisabete Ribeiro³, Ana Cristina Silva³

¹ Assistente Hospitalar Graduada de Imuno-Hemoterapia

² Interno de Formação Específica em Imuno-Hemoterapia

³ Técnica Superior de Diagnóstico e Terapêutica de 2.ª Classe

Serviço de Imuno-Hemoterapia – Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central, EPE (Responsável da Especialidade: Dra. Teresa Araújo), Lisboa, Portugal

RESUMO

Os fatores dependentes da vitamina K podem estar diminuídos de modo variável, sendo o Fator (F) II e o FX os principais determinantes relativamente ao efeito antitrombótico. A ligação dos anticorpos antifosfolípidos aos fosfolípidos pode causar um falso prolongamento do tempo de protrombina (TP) em doentes com anticoagulante lúpico. Correlacionámos os resultados da razão normalizada internacional (INR) – usando uma tromboplastina recombinante – com os níveis de FX (teste cromogénico) e de FII (teste coagulométrico baseado no TP). Os doseamentos de FX e FII correlacionaram-se bem entre si. Verificámos que INR e FII se correlacionaram melhor que INR e FX. A correlação da atividade do TP relativamente ao FX e ao FII foi superior à do INR com ambos os fatores da coagulação, sendo superior a correlação da atividade do TP com o FII. A tromboplastina utilizada para determinação do INR tem uma concentração elevada de fosfolípidos o que permite neutralizar o efeito de anticorpos. Consideramos o INR tão fiável como os outros testes submetidos a avaliação. O valor de INR é de rápida obtenção e baixo custo, enquanto o doseamento de fatores da coagulação é mais dispendioso e geralmente realizado em série para racionalização de recursos. Contudo, um doseamento de FX cromogénico, obtido 3 a 4 vezes no ano, pode ser útil como ferramenta adicional à monitorização de rotina através do INR.

*e-mail: maria.campos5@chlc.min-saude.pt

ABSTRACT

Vitamin K-dependent factors may be reduced in a variable way, with factor (F) II and FX being the main determinants of the antithrombotic effect. The binding of antiphospholipid antibodies to phospholipids may cause a false prolongation of prothrombin time (PT) in patients with lupus anticoagulant. We correlated the results of the international normalized ratio (INR) – using a recombinant thromboplastin – with the levels of FX (chromogenic assay) and FII (PT-based clotting assay). The FX and FII measurements correlated well with each other. We found that INR and FII correlated better than INR and FX. The correlation of PT activity with respect to FX and FII was higher than that of INR with both coagulation factors, being higher the correlation of PT activity with FII. The thromboplastin used to determine the INR has a high concentration of phospholipids that allows neutralizing the effect of antibodies. We consider the INR to be as reliable as the other tests submitted to assessment. The INR value is quick to obtain and low cost, while the dosage of the clotting factors is more expensive and usually performed in series to rationalize resources. However, a measurement of chromogenic FX, obtained 3 to 4 times a year, can be useful as an additional tool to routine monitoring through INR.

INTRODUÇÃO

O INR pode não ser fiável na monitorização da anticoagulação oral em doentes com síndrome antifosfolipídica (SAF)^{1,2,3}. A SAF afeta 0,5% da população sobretudo mulheres jovens, sendo de natureza autoimune e condicionando trombose venosa e arterial, abortos de repetição e anticorpos antifosfolipídicos (aFL), tais como AL, anticardiolipina (aCL) e anti- β_2 glicoproteína I (anti- β_2 GPI)¹⁻³.

Em doentes com patologia hepática, deficiência de fatores da via extrínseca e disfibrinogenémia, o TP pode estar prolongado independentemente da anticoagulação oral, interferindo na interpretação dos valores da razão normalizada internacional (INR)^{1,4,5}. Mais de 75% dos doentes com AL podem apresentar prolongamento do TP basal⁴, o que compromete a gestão da anticoagulação, que poderá ser subterapêutica^{1,2,4}.

A varfarina inibe o complexo epóxido-redutase da vitamina K – subunidade 1 (VKORC1) e resulta na diminuição dos fatores II, VII, IX e X, além das proteínas C e S. Os fatores dependentes da vitamina K podem apresentar níveis baixos de modo variável, sendo o Fator (F) X e o FII coagulante (FII:C) os determinantes principais no efeito antitrombótico⁴.

O FX (protrombinase ou fator de Stuart-Prower) é o principal alvo dos anticoagulantes, incluindo os antagonistas da vitamina K (varfarina e acenocumarol), as heparinas, o fondaparinux, bem como os inibidores

diretos do FX de administração oral (rivaroxabano, apixabano, edoxabano)⁴. O doseamento da atividade do FX cromogénico é obtido através de uma reação que não requer fosfolípidos, logo não é afetado pelo AL². Outra vantagem deste ensaio consiste na avaliação da resistência à varfarina⁴. As seguintes correlações – entre os três parâmetros em foco – são provenientes de estudos realizados em doentes com e sem SAF, constando no Quadro 1:

Quadro 1. Categorias de Correlação entre INR, FX Cromogénico e FII:C

INR	FX cromogénico	FII:C	Referências
2,0 - 3,5	11 - 40%	–	4
>3,5	<11%	–	4
<2,0	>40%	–	2,4
2,0 - 3,0	20 - 40%	15 - 25%	1,2,4,5

Recomendações internacionais aplicadas a doentes com SAF destacam a vantagem de INR alvo situado no intervalo de 2,0 – 3,0 por tempo indeterminado, após um episódio trombótico venoso e de 3,0 – 4,0, em contexto de trombose recorrente ou após um evento trombótico arterial sob a variação inferior^{1,3}. A variação mais alta é recomendada para doentes com tripla positividade^{1,2}.

Os perfis de risco trombótico definem-se como baixo, médio e alto³. No risco considerado alto, verifica-se a presença (em 2 ocasiões separadas por 12 semanas) de AL, ou dupla positividade (AL e an-

ticorpos aCL ou anti- β_2 GPI), ou tripla positividade dos aFL, ou ainda títulos persistentemente elevados dos mesmos^{2,3}.

OBJETIVOS, MATERIAL E MÉTODOS:

Endpoint primário: Correlação do INR com o FX cromogénico e o FII:C na população estudada:

- **32** Doentes com SAF anticoagulados com dicumarínicos (varfarina e acenocumarol, respetivamente em 31 e 1 doentes), perfazendo **48** Amostras
- **18** Controlos (Amostras) normais.

As amostras foram obtidas para tubos de vácuo com citrato de sódio a 3,2% (0,109 M), na proporção sangue/ anticoagulante de 9:1.

A tromboplastina utilizada foi a RecombiPlasTin 2G (HemosIL)⁶; o FII (protrombina) foi determinado através de método coagulométrico com plasma deficiente nesse fator (HemosIL)⁷; para o FX aplicou-se um teste cromogénico (Biophen)⁸.

As variações da normalidade (sem efeito anti-coagulante) são as seguintes: 0,86 – 1,2 para INR⁶, 79 – 131% para FII:C⁷ e 64 – 136% para FX cromogénico^{8,9}.

O índice de sensibilidade internacional (ISI) da tromboplastina deve estar calibrado relativamente ao equipamento^{5,10}. O ISI específico da tromboplastina usada neste estudo foi de 1,01 de acordo com a bula.

A execução automatizada no coagulómetro ACL TOP 500 foi **imediate** nas amostras para INR e **diferida** nas amostras previamente **congeladas** para INR, FII e FX. A conservação a -80°C com rápida descongelação a 37°C logo antes da análise foi aplicada a estas amostras.

Comparámos os valores de INR e as atividades dos FII e FX através de gráficos de correlação com determinação do r^2 . Todos os doentes SAF incluídos neste coorte apresentavam AL positivo em duas ocasiões separadas por 12 ou mais semanas de intervalo, sendo a pesquisa realizada em paralelo pelos métodos do tempo do veneno de víbora Russell diluído (dRVVT) e tempo de coagulação da sílica (SCT), o que se enquadra nas normas internacionais^{1,3}.

Endpoint secundário: Avaliação da tromboplastina utilizada na determinação do INR para monitorização de doentes SAF sob anticoagulação oral clássica. Inferência na sinopse crítica e nas perspetivas metodológicas e pragmáticas.

RESULTADOS

São apresentados gráficos de regressão linear demonstrando a correlação entre os vários parâmetros nas amostras dos doentes SAF (Figuras 1 a 6) e quadros com a média e desvio padrão (SD) do grupo controlo normal (Quadro 2), elementos demográficos e amostragem do grupo de doentes SAF (Quadro 3) e do grupo controlo normal (Quadro 4), além dos resultados do coeficiente de determinação (r^2) relativa-

Quadro 2. Média e Desvios Padrão – Amostras da População Controlo Normal

Estatística	INR	TP Ativ.	FX Crom.	FII:C
Média	1,1	87,6	86,3	94,8
SD	0,1	10,4	14,5	11,6
$\pm 2SD$	1,0 - 1,2	66,8 - 108,4	57,3 - 115,3	71,6 - 118,0

Total de 18 amostras (congeladas)

Quadro 3. Distribuição das Amostras da População de Doentes SAF

Doentes	Género		Variação Etária (Anos)	Amostras obtidas (n) / Doente			
	♀	♂		n = 1	n = 2	n = 3	n = 4
	30	2	23 - 79	22 Doentes	6 Doentes	2 Doentes	2 Doentes
Total	32		(♀ e ♂)	n = 48 / 32 Doentes			

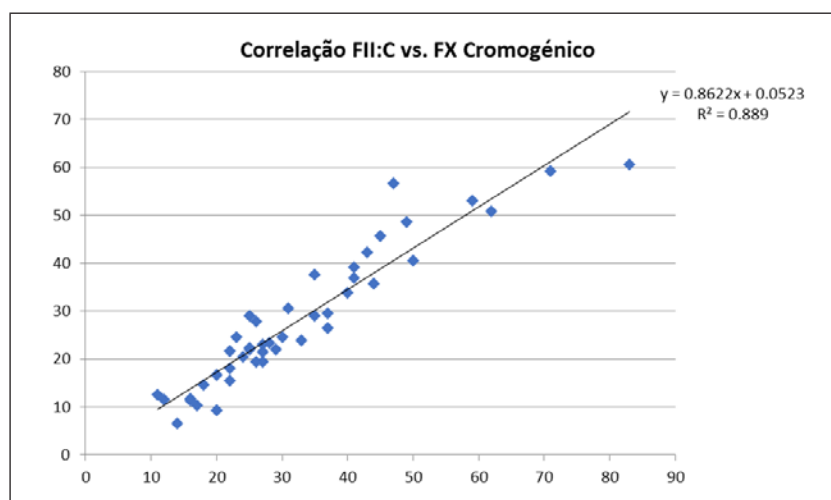


Figura 1. Correlação entre FII:C e FX Cromogénico (amostras congeladas)

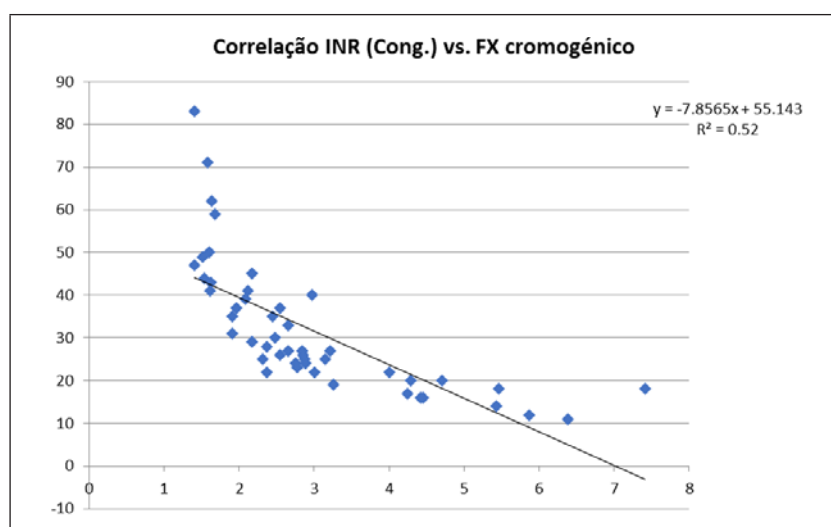


Figura 2. Correlação entre INR e FX Cromogénico (amostras congeladas)

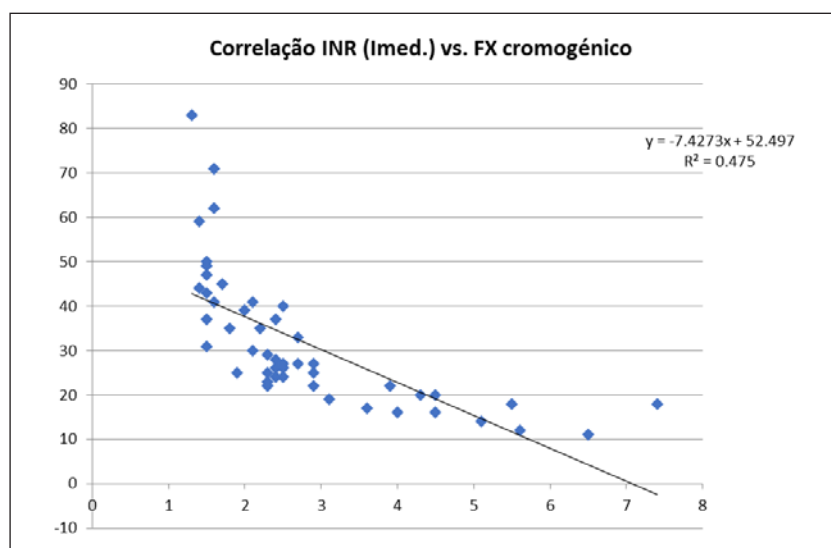


Figura 3. Correlação entre INR (determinação imediata) e FX Cromogénico (amostras congeladas)

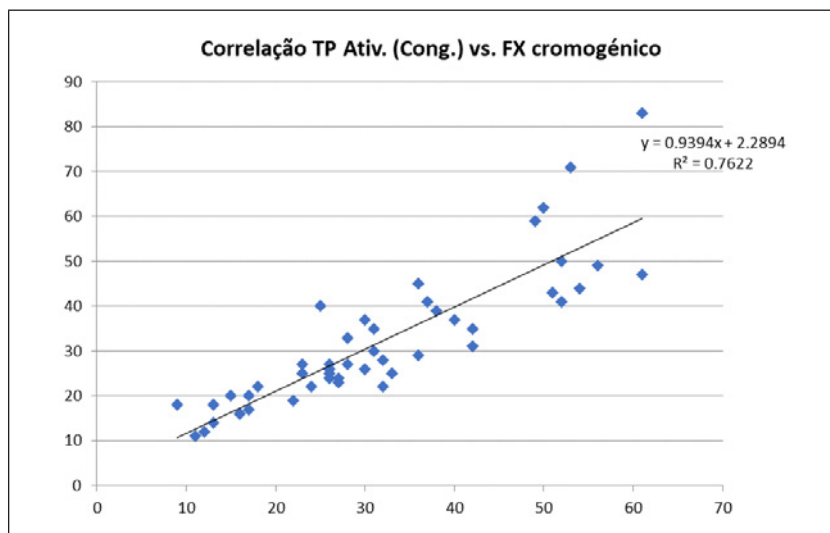


Figura 4. Correlação entre Atividade do TP e FX Cromogénico (amostras congeladas)

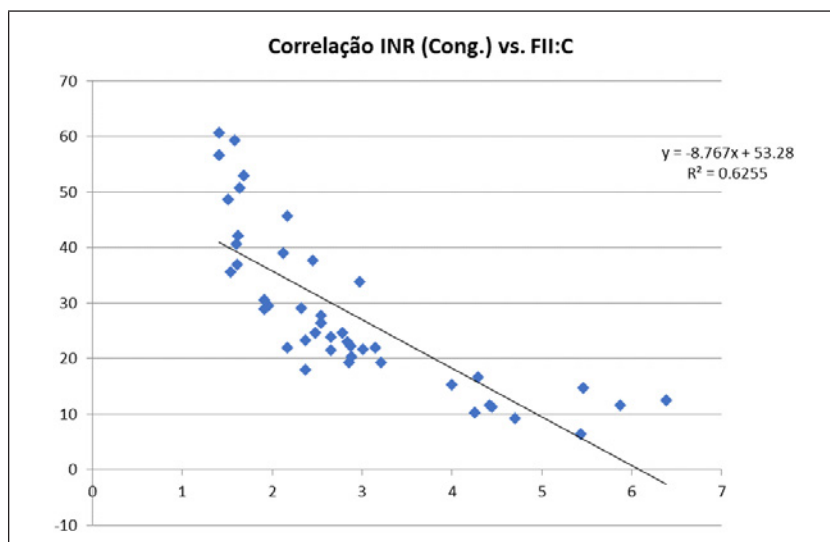


Figura 5. Correlação entre INR e FII:C (amostras congeladas)

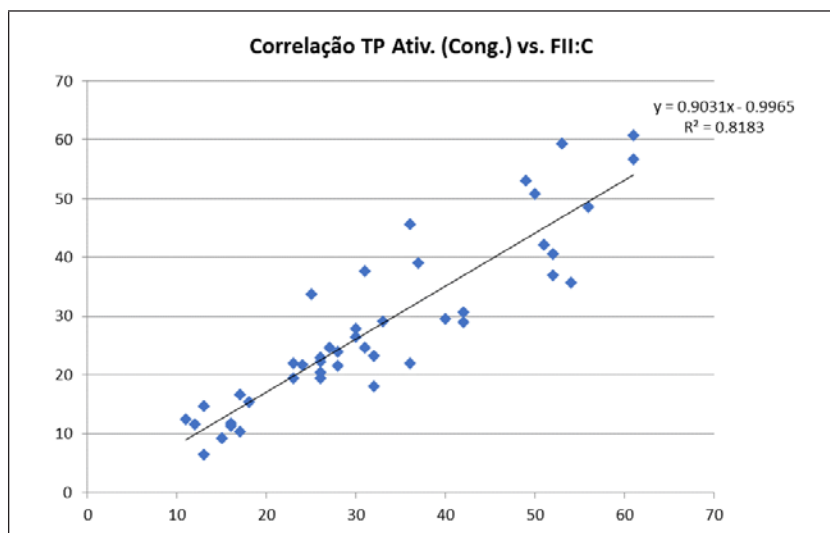


Figura 6. Correlação entre Atividade do TP e FII:C (amostras congeladas)

Quadro 4. Distribuição das Amostras da População Controlo Normal

População Normal	Género		Variação Etária (Anos)	Amostras obtidas (n) / Controlo Normal
	♀	♂		n = 1
	9	9	28 - 79	18 Controlos Normais
Total	18		(♀ e ♂)	n = 18 / 18 Controlos Normais

Quadro 5. *Outcomes* – Associação Linear Positiva entre Parâmetros (Amostras de Doentes SAF)

Valores do coeficiente de determinação (r^2)					
FII vs. FX	INR (Cong.) vs. FX	INR (Imed.) vs. FX	Ativ. TP (Cong.) vs. FX	INR (Cong.) vs. FII	Ativ. TP (Cong.) vs. FII
0,889	0,52	0,475	0,7622	0,6255	0,8183

mente aos parâmetros avaliados nos doentes SAF (Quadro 5).

Os resultados do doseamento de fatores da coagulação e da atividade do TP são reportados em percentagem (%).

São usadas as seguintes abreviaturas nas figuras e tabelas:

Ativ. – Atividade; **Crom.** – Cromogénico; **(Cong.)** – Amostras congeladas e posteriormente analisadas; **(Imed.)** – Amostras processadas para análise imediata; **n** – número.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Highlights da literatura: Os valores de INR podem não ser fiáveis em termos de monitorização, na presença de AL devido à interferência nos testes laboratoriais baseados em fosfolípidos como o TP, ocorrendo um INR mais alto, mesmo antes do início da anticoagulação^{2,5}.

O ISI do reagente do TP corrige diferenças nas sensibilidades relativas a fatores dependentes da vitamina K, mas não as relacionadas com outros fatores ou componentes plasmáticos⁴.

Os aFL medeiam a ativação de plaquetas, monócitos e células endoteliais, causando um processo inflamatório e alterando os anticoagulantes naturais e o sistema fibrinolítico^{2,5}.

As categorias reportadas por dois autores, correlacionando os valores de INR com os doseamentos de FX cromogénico – e de FII:C por um deles – apresentam-se no Quadro 6.

O doseamento de FII:C é baseado no TP, o que não evita o efeito do AL nos resultados e torna este teste menos vantajoso que o FX cromogénico na monitorização dos anticoagulantes orais².

Sinopse crítica do nosso estudo: Os doseamentos de FX e FII correlacionam-se bem entre si com um valor de r^2 próximo de 0,9. A correlação linear é superior entre INR e FII do que entre INR e FX. A correlação da atividade do TP relativamente a FX e FII é superior à correlação do INR com FX e FII, sendo maior a correlação da atividade do TP com o FII (comparadas atividades obtidas pela execução de técnicas coagulométricas, enquanto para o FX se aplicou uma técnica cromogénica).

A comparação realizou-se essencialmente entre parâmetros de amostras congeladas, mas conferimos

Quadro 6. Correlação entre INR, FX Cromogénico e FII:C segundo McGlasson¹⁰ e Kreuziger⁵

INR	FX Cromogénico (%)	FII:C (%)	
<2,0	65,9*	–	** Correlação boa entre FX e FII, sendo fraca entre FX e INR e entre FII e INR
2,0 - 3,0	28,3*	20 - 40**	
>3,0	20,8*	15 - 25**	

* McGlasson, 2008; ** Kreuziger, 2014

também o INR da determinação imediata com o FX cromogénico, o que revelou um r^2 inferior ao obtido em amostras aferidas em idênticas condições (ambas conservadas a -80°C).

A trombolastina utilizada para determinação do INR apresenta uma concentração elevada de fosfolípidos o que permite neutralizar o efeito de anticorpos. Consideramos o INR fiável na monitorização de doentes SAF sob anticoagulação clássica (dicumarínicos), o que também é sustentado por outros autores⁵.

Considerações logísticas, perspetivas metodológicas e pragmáticas: O valor de INR é de rápida obtenção e baixo custo, enquanto os doseamentos de fatores são mais dispendiosos e geralmente efetuados em série para racionalização de recursos.

Este estudo suscita-nos a realização de uma fase adicional, com inclusão de doentes anticoagulados e com diagnósticos diferentes de SAF, inspirada noutro grupo de trabalho⁵. Já iniciámos essa etapa (dispomos de resultados em apenas onze doentes).

A atividade do FX cromogénico – a cada ciclo de 6 testes de INR realizados – pode ser uma mais-valia conforme proposto por alguns autores¹. Na prática, três a quatro doseamentos de FX cromogénico, distribuídos na monitorização anual através do INR, poderiam acrescentar fiabilidade e segurança terapêutica.

AGRADECIMENTO

A Medicina é baseada na evidência. Por isso, uma palavra reconhecida à Dra. Ana Cristina Oliveira, pelo apoio consultivo no domínio da bioestatística.

REFERÊNCIAS

1. Baquero-Salamanca M, Téllez-Arévalo AM, Calderon-Ospina C. Variability in the international normalised ratio (INR) in patients with antiphospholipid syndrome and positive lupus anticoagulant: should the INR targets be higher? *BMJ Case Rep* 2015;2015:bcr2014209013. Doi: 10.1136/bcr-2014-209013.
2. Crowl A, Schullo-Feulner A, Moon J. A review of warfarin monitoring in antiphospholipid syndrome and lupus anticoagulant. *Annals of Pharmacotherapy* 2014;48(11). Doi: 10.1177/1060028014546361.
3. Tektonidou MG, Andreoli L, Limper M, Amoura Z, Cervera R, Costedoat-Chalumeau N et al. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. *Ann Rheum Dis* 2019;78:1296-304. Doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215213.
4. Wool GD, Lu CM. Pathology consultation on anticoagulation monitoring. *Am J Clin Pathol* 2013;140:623-34. Doi: 10.1309/AJCP3JTOK7NKDBJ.
5. Kreuziger LMB, Datta YH, Jonhson AD, Zantek ND, Shanley R, Reding MT. Monitoring anticoagulation in patients with an unreliable PT/INR: Factor II versus chromogenic factor X testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2014;25(3):232-6. Doi: 10.1097/MBC.0000000000000030.
6. RecombiPlasTin 2G (0020003050 – 303582; R8; 09/2016; 471518 – HemosIL[®]; Instrumentation Laboratory). <https://www.instrumentationlaboratory.com>.
7. Factor II deficient plasma (0020012200; R5; 11/2016; 472609 – HemosIL[®]; Instrumentation Laboratory). <https://www.instrumentationlaboratory.com>.
8. Biophen[™] Factor X (221705 – D750-02/BI/1705/v1 – Hyphen (BioMed)). <https://www.aniara.com>.
9. Biophen Factor X technical file (Ref. A221705). D.750.30/BI/1705 /1. <https://www.aniara.com>.
10. McGlasson DL, Romicka BG, Rubalb BJ. Comparison of a chromogenic factor X assay with normalized ratio for monitoring oral anticoagulation therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008;19:513-7. Doi: 10.1097/MBC.0b013e328304e066.

INTRODUCTION TO HEMORHEOLOGY IN MICROCIRCULATION

Paulo Luiz Farber

Physician and Researcher, Hospital da Luz de Aveiro

General-Secretary of the Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

ABSTRACT

Microcirculation is responsible for the nutrition and oxygenation of all our organs and tissues. This article discusses microcirculation, viscosity, concepts such as shear rate and shear stress, and how blood viscosity behaves in microcirculation.

Key words: microcirculation, shear stress, shear rate, blood viscosity, erythrocyte aggregation, erythrocyte deformability.

INTRODUCTION TO MICROCIRCULATION

What do the heart, lung, liver, stomach, intestines, skin, muscles, brain, and all organs and tissues have in common? Its cells are nourished by a web of thin blood vessels, known as microcirculation (Figure 1). Even if you eat well and breathe clean air, but if the absorbed oxygen and nutrients are not correctly dis-

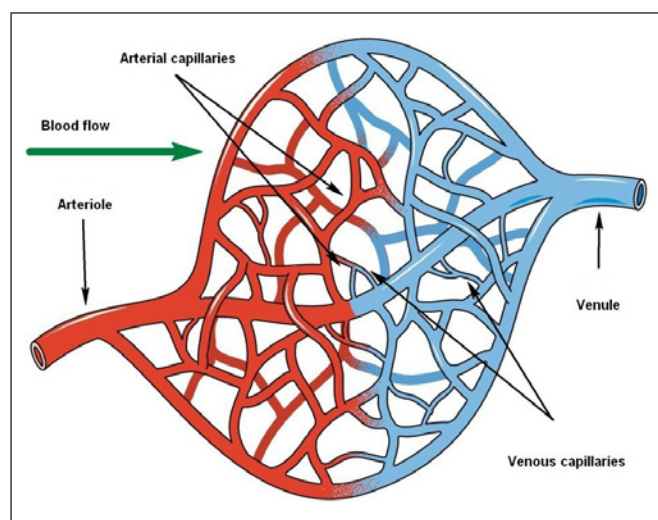


Figure 1. Simplified microcirculation scheme. In red is arterial blood, rich in oxygen; in blue the venous blood, poor in oxygen (image modified from a figure provided by Servier).

tributed, your body tissues will become malnourished. When you eat and breathe, nutrients and oxygen should be transported into cells¹.

As it passes through the lung, the blood is oxygenated and is called arterial blood. The gas exchange, that is, the outlet of carbon dioxide and the entry of oxygen into the blood takes place in the microcirculation of small lung cavities, called alveoli². In the intestines, water, nutrients are absorbed and transported to the blood³, and if intestinal microcirculation is obstructed, intestinal absorption will be impaired⁴. The blood, rich in oxygen and nutrients, is pumped into smaller arteries until it reaches very small arteries, the arterioles, and subsequently into vessels as small as strands of hair, known as capillaries. After the distribution of oxygen and nutrients to the tissue, the capillaries transport blood to small veins, the venules to the larger veins⁵.

From the capillaries, oxygen, and nutrients diffuse to tissues and cells. The speed of blood flow depends on several factors, such as opening or closing the arterioles and blood viscosity. Arterioles are like “taps” for the blood flow, and viscosity will dictate whether the blood will be more or less fluid⁶. In organs such as mesentery, there is a muscular structure that controls the flow of blood to capillaries, known as pre-

capillary sphincter⁷. In other tissues, such as in muscles, capillaries that are initially empty of red blood cells, fill with blood as muscle activity increases. That is, the “empty” capillaries (they are not empty, they contain blood plasma, which is the liquid part of the blood) are recruited to help increase the need for oxygen⁵. Blood viscosity is a significant factor in blood flow, and if it is impaired, the entire exchange of oxygen and nutrients is also impaired⁶.

THE BLOOD AND ITS VISCOSITY

To understand what a fluid’s viscosity is, let’s imagine a liquid flowing through a funnel. Different liquids flow at distinct velocities. If we use the same funnel, the water will pass faster than the olive oil. What determines the velocity of the flow of water or olive oil is their viscosity. The more viscous a liquid is, the slower it flows than other less viscous under the same conditions. Therefore, the viscosity of a fluid is its resistance to flow. Water causes much less resistance to flow than olive oil, so the viscosity of the water is lower than that of olive oil⁸.

The water or olive oil suffers friction as it flows through the walls of the funnel. The layers of liquid that flow closer to the wall suffer more friction, compared to the more distant layers, generating layers of liquid with different velocities (Figure 2)⁹. The tension between the layers of liquid with different ve-

locities, similar to the tension between the blades of scissors, is called shear stress⁹. This set of stresses interferes with the flow of the liquid. In the case of water and olive oil, the viscosity is always constant during the flow. Liquids such as water or olive oil, whose viscosities do not vary according to the velocity gradient (shear rate), are called “Newtonian Fluids”, because they obey Newton’s law of viscosity¹⁰.

Blood, on the other hand, is a more complex fluid. There is a liquid phase, called plasma, and the other phase is the formed elements that are suspended in the plasma, such as erythrocytes (red blood cells), leukocytes (white blood cells), and platelets. Blood, as it flows through blood vessels, is also subject to shear stresses. But the blood viscosity varies according to the shear rate, so the blood does not obey Newton’s law of viscosity, and therefore it is a “non-Newtonian fluid”¹¹.

The plasma, the liquid phase of the blood, behaves like a Newtonian fluid, whose viscosity does not vary according to the shear rate. Plasma viscosity is relevant for blood viscosity and increases mainly in inflammatory processes^{11,12}.

White blood cells are outnumbered and do not significantly interfere with viscosity in large blood vessels. On the other hand, in microcirculation, due to their size and greater rigidity when activated, they can block circulation in some capillaries. This fact can happen, for example, in infectious processes¹³.

On the other hand, erythrocytes are very relevant for blood viscosity, as they occupy about 40-50% of

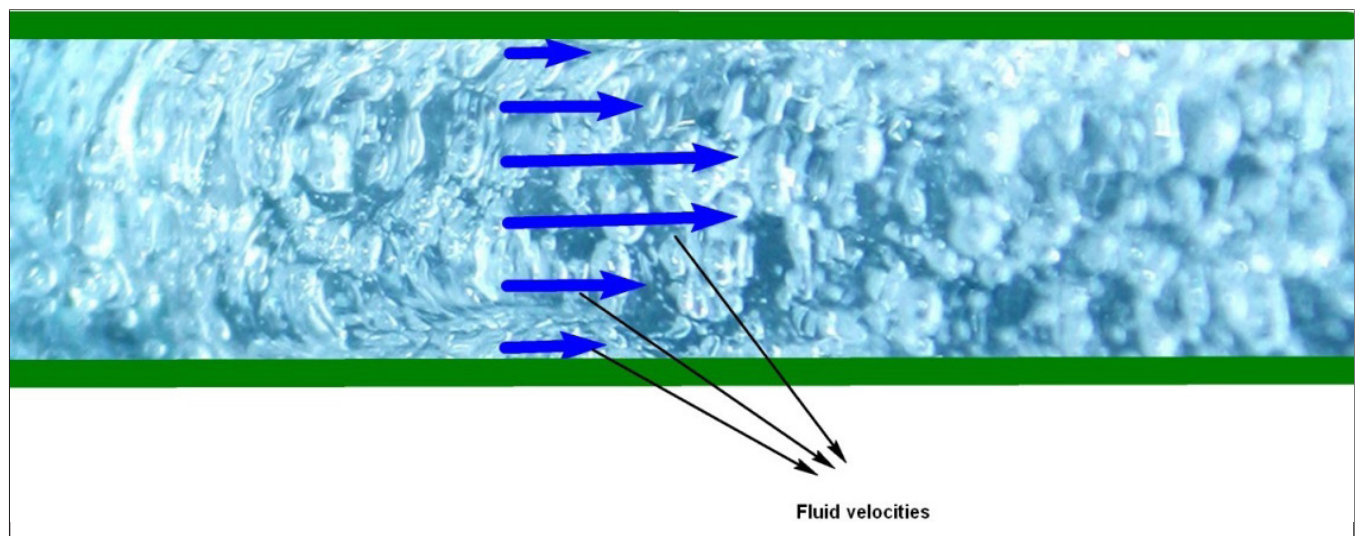


Figure 2. The different velocities of a fluid in a pipe are due to shear stress.

blood volume. This ratio of erythrocyte volume to total blood volume is called Hematocrit¹⁴. An increase in hematocrit causes a significant increase in blood viscosity¹⁵. Two characteristics of erythrocytes influence blood viscosity. Because erythrocytes are deformable, if they become more rigid they can increase blood viscosity. This characteristic is called erythrocyte deformability. The other characteristic is the tendency to aggregate, to “stick together”, called erythrocyte aggregation^{16,17}.

In the microcirculation, as the caliber of the arteries decreases, the importance of red blood cells in blood viscosity increases. Some capillaries are even thinner than the diameter of one erythrocyte. The Figure 3 shows what happens to the erythrocytes as the blood vessel diameter decreases. In the smaller vessels, the distance between erythrocytes increases, that is, the proportion between red blood cells and plasma (the hematocrit) decreases (this phenomenon is known as the Fåhræus effect). Blood viscosity in thinner vessels also decreases (Fåhræus and Lindqvist effect)¹⁸. As long as the blood capillaries are larger in diameter than the erythrocytes, the blood viscosity in these very small vessels will be close to the plasma viscosity. In the vessels smaller in diameter than red blood cells, erythrocytes will be largely responsible for the fluidity of blood¹⁹.

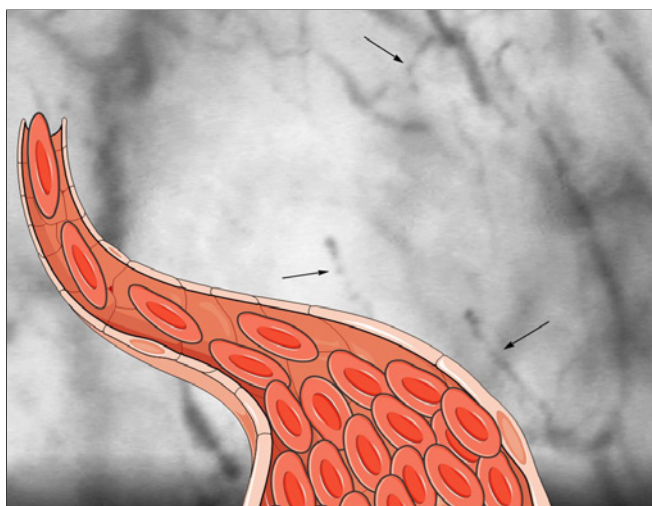


Figure 3. The figure above represents the proportions between plasma and erythrocytes in the microcirculation. As the diameter of the blood vessel decreases, the proportion between erythrocytes and plasma (the hematocrit) also decreases. The phenomenon can be seen above in the sublingual microcirculation capillaries (image modified from figures provided by Servier; sublingual microcirculation photography came from our archive).

The rule of erythrocytes on blood viscosity in the microcirculation increases when blood vessel diameter drops below 300 μm . Two characteristics of erythrocytes influence the viscosity of blood in the microcirculation: Erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability¹⁸.

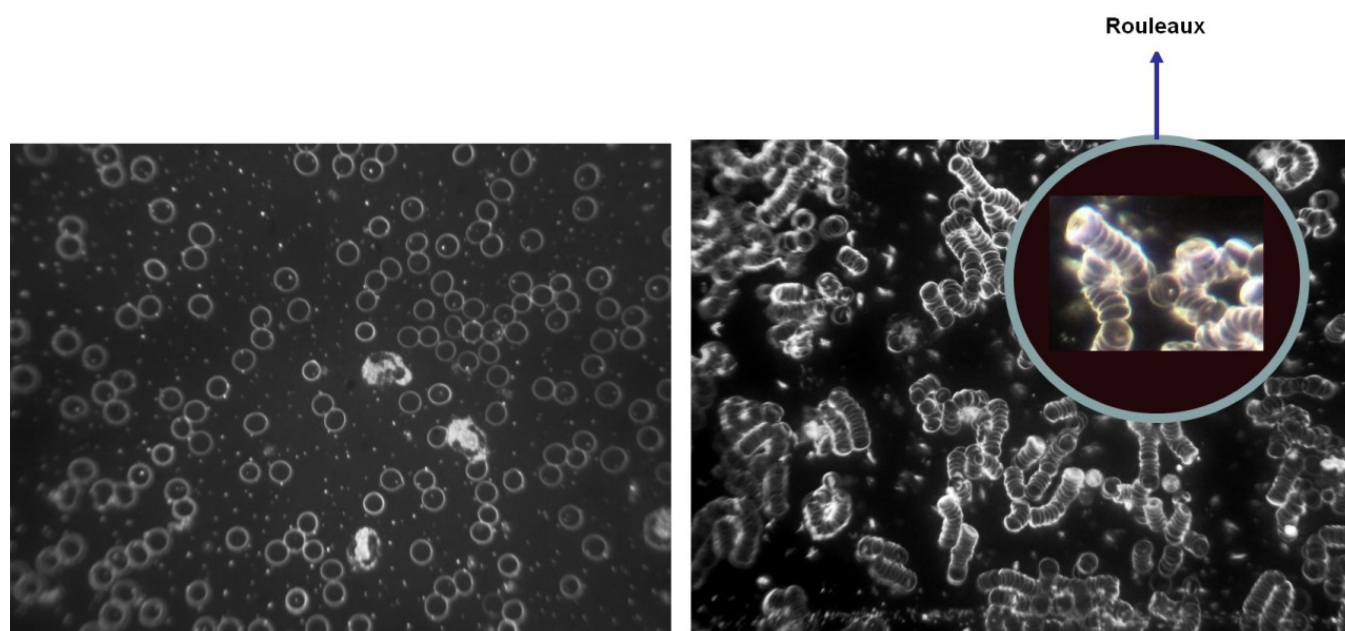


Figure 4. Non-aggregated erythrocytes (left) and erythrocyte aggregation (right) (images came from our archive).

ERYTHROCYTE AGGREGATION

The Figure 4 on the right shows how erythrocytes tend to aggregate. These aggregates, like stacks of coins, are known as rouleau (singular) or rouleaux (plural). The forces that prevent erythrocyte aggregation are shear stress, the elastic energy of the erythrocyte membrane, and the electrostatic repulsion between red blood cells. In the microcirculation, as shear stress decreases, the red blood cells tend to aggregate.

ERYTHROCYTE DEFORMABILITY

Red blood cells are deformable. Under a pressure such as shear stress or contact with blood vessel walls, erythrocytes deform, returning to their original biconcave form when pressure decreases. In microcirculation, especially in the thinnest capillaries, erythrocytes “squeeze”, deform, so that they can pass through these blood vessels.

The capacity of red blood cells to deform depends on several factors, such as the elasticity of the cell membrane and the internal viscosity of the erythrocyte. Altered red blood cells, distinct from the original biconcave disc shape, do not deform properly. Very altered erythrocytes, as in sickle cell anemia, deform very little, impairing the microcirculation¹⁶ (Figure 5)

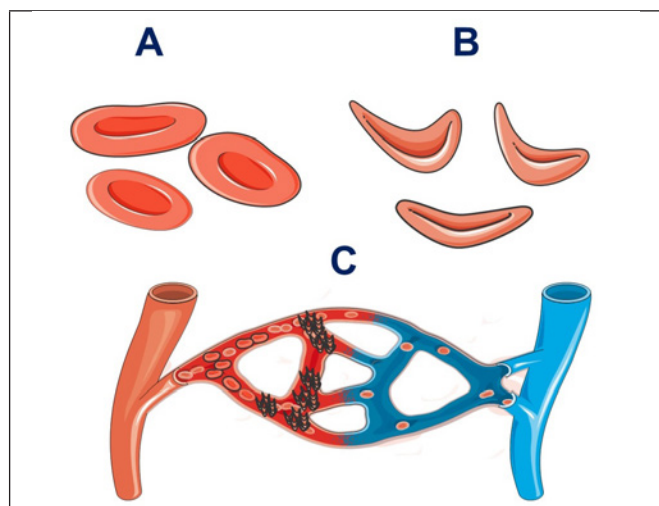


Figure 5. Normal erythrocytes (A) and sickle cells (B). Sickle cells do not deform and impair microcirculation, particularly at bifurcations (C) (image modified from figures provided by Servier).

Diseases such as diabetes, obesity, and cardiovascular diseases, among others, are associated with erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability impairment. These diseases also manifest alterations in microcirculation. Therefore, treatments aiming to improve the health of these patients should also improve microcirculation and the nutrition and oxygenation of tissues and organs. And in this sense, the behavior of red blood cells, such as aggregation and deformability, may be the key to better health²⁰.

CONCLUSION

Microcirculation is largely responsible for our health, as it is where our tissues and organs are nourished and oxygenated. Blood viscosity plays an important role in the blood flow in microcirculation as many diseases are accompanied by an increase in blood viscosity in microcirculation. The behavior of red blood cells is very important in blood viscosity when the caliber of vessels is small, in particular erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability.

REFERENCES

- Jacob M, Chappell D, Becker BF. Regulation of blood flow and volume exchange across the microcirculation. *Crit Care*. 2016;20(1):319. doi:10.1186/s13054-016-1485-0
- Ivanov KP, Potekhina IL, Alyukhin YS, Melnikova NN. Microcirculation in the lungs: Special features of construction and dynamics. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol 756. Springer Science and Business Media, LLC; 2013:197-201. doi:10.1007/978-94-007-4549-0_25
- Kiela PR, Ghishan FK. Physiology of intestinal absorption and secretion. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016;30(2):145-159. doi:10.1016/j.bpg.2016.02.007
- Dickson K, Malitan H, Lehmann C. Imaging of the Intestinal Microcirculation during Acute and Chronic Inflammation. *Biology (Basel)*. 2020;9(12):418. doi:10.3390/biology9120418
- Poole DC, Edward F. Adolph distinguished lecture. Contemporary model of muscle microcirculation: Gateway to function and dysfunction. *J Appl Physiol*. 2019;127(4):1012-1033. doi:10.1152/jappphysiol.00013.2019
- Lipowsky HH. In vivo studies of blood rheology in the microcirculation in an in vitro world: Past, present and future. *Biorheology*. 2013;50(1-2):3-16. doi:10.3233/BIR-130625
- Sakai T, Hosoyamada Y. Are the precapillary sphincters and metarterioles universal components of the microcirculation? An historical review. *J Physiol Sci*. 2013;63(5):319-331. doi:10.1007/s12576-013-0274-7
- Viscosity – The Physics Hypertextbook. <https://physics.info/viscosity/>. Accessed April 26, 2021.
- Große S, Schröder W. Dynamic wall-shear stress measurements in turbulent pipe flow using the micro-pillar sensor MPS3. *Int J Heat Fluid Flow*. 2008;29(3):830-840. doi:10.1016/j.ijheatfluidflow.2008.01.008
- Newtonian Fluid - an overview | ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/newtonian-fluid>. Accessed April 30, 2021.

11. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood Rheology and Hemodynamics. *Semin Thromb Hemost.* 2003;29(5):435-450. doi:10.1055/s-2003-44551
12. Alexy T, Pais E, Wenby RB, et al. Abnormal blood rheology and chronic low grade inflammation: Possible risk factors for accelerated atherosclerosis and coronary artery disease in Lewis negative subjects. *Atherosclerosis.* 2015;239(1):248-251. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.015
13. Silva-Herdade AS, Sequeira A, Calado Â, Saldanha C, Kafi O. Hydrodynamics of a free-flowing leukocyte toward the endothelial wall. *Microvasc Res.* 2017;112:7-13. doi:10.1016/j.mvr.2017.02.003
14. Hematocrit Ranges and Chart: Test, High, Low, and Normal. <https://www.medicinenet.com/hematocrit/article.htm>. Accessed May 10, 2021.
15. Weisel JW, Litvinov RI. Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2019;17(2):271-282. doi:10.1111/jth.14360
16. Nader E, Skinner S, Romana M, et al. Blood rheology: Key parameters, impact on blood flow, role in sickle cell disease and effects of exercise. *Front Physiol.* 2019;10(OCT):1-14. doi:10.3389/fphys.2019.01329
17. Saldanha C. Hemorheology, microcirculation and macrocirculation. *Rev Port Cardiol.* 2020;39(1):25-26. doi:10.1016/j.repc.2020.02.004
18. Chebbi R. Dynamics of blood flow: modeling of the Fåhræus–Lindqvist effect. *J Biol Phys.* 2015;41(3):313-326. doi:10.1007/s10867-015-9376-1
19. Jung F, Rampling M. Role of blood viscosity in the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;64(3):251-254. doi:10.3233/CH-168108
20. Farber PL. Can erythrocytes behavior in microcirculation help the understanding the physiopathology and improve prevention and treatment for covid-19? *Clin Hemorheol Microcirc.* 2021;Preprint(Preprint):1-7. doi:10.3233/ch-201082



CONVITE

A Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação (SPHM) aceita para publicação no seu BOLETIM artigos de curta extensão. O Boletim é editado duas vezes por ano em formato electrónico (www.hemorreologia.com).

INSTRUÇÕES

1. Todos os textos enviados para publicação estão sujeitos a apreciação editorial e aprovação. A decisão é baseada no mérito científico e cultural dos trabalhos.
 2. São aceites somente os trabalhos preparados em versão *PDF* ou *Microsoft Word*.
 3. Os textos devem ser redigidos em Português ou Inglês.
 4. Os manuscritos com o pedido de publicação devem ser enviados por *e-mail* ao Editor (anarmsilva@medicina.ulisboa.pt).
- Comunicações Originais (artigos curtos) – Os textos serão considerado para publicação rápida, com a seguinte estrutura: Sumário (50-70 palavras), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões. O(s) autor(es) são estimulados a englobar em conjunto os resultados, discussão e conclusões.
(Extensão máxima do texto: 5 a 6 páginas a um espaço (letra de corpo 11), incluindo figuras tabelas e quadros (e respetivas legendas), agradecimentos e até 30 referências bibliográficas).
- Artigos de Revisão – O BOLETIM terá a maior satisfação em acolher curtas revisões sobre assuntos de particular interesse, no âmbito da Hemorreologia, Microcirculação ou assuntos de âmbito médico ou de outras áreas científicas afins, que sejam submetidos diretamente para publicação ou mediante convite especial do Editor.
(Extensão máxima do texto: 8 a 10 páginas (letra de corpo 11) incluindo figuras, tabelas, quadros, fotos (e respetivas legendas), agradecimentos e até 60 referências bibliográficas).

INVITATION

The Portuguese Society on Hemorheology and Microcirculation (Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, SPHM) is pleased to welcome short papers for publication in its BOLETIM. This online publication (www.hemorreologia.com), is distributed two times a year.

INSTRUCTIONS

1. All submitted manuscripts are subjected to editorial review and approval. The decision to publish is dependent on the scientific and cultural merit of the papers.
 2. Only contributions prepared and submitted as *PDF* or *Microsoft Word* will be accepted.
 3. Texts must be written in Portuguese or in English.
 4. All scientific contributions, including manuscript submission and further correspondence should be addressed by *email* to the Editor (anarmsilva@medicina.ulisboa.pt)
- Original Communications – Manuscripts may be considered for rapid processing as short communications. All manuscripts should be arranged in the following sections: Abstract (50-70 words), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements and References. The author(s) may combine some of the sections normally included in a full paper, namely the results, discussion and conclusions.
(Maximum communication length – 5-6 single spaced typed pages, including figures, tables, legends, acknowledgments and up to 30 references).
- Short Reviews – The BOLETIM will publish reviews on subjects of particular interest in its field, either following a special invitation or a submission by the author, and in the latter case only after approval by an Editorial Board member. Further information can be obtained from the editor.
(Maximum review length – 8-10 full pages, including figures, tables, photos, legends, acknowledgments and up to 60 references)

