

MICROSCOPIA INTRAVITAL E HEMORREOLOGIA

Vamos associar duas palavras-chave de cariz diferente, uma essencialmente técnica e outra um nicho científico amplo, que abrange a biofísica, a bioquímica e a biomecânica. Naturalmente interrogamo-nos sobre o porquê e, penso que o motivo pode ser justificado pela frase “*The most pervasive fallacy of philosophic thinking goes back to neglect of context*”, de John Dewey (1859-1952), americano filósofo, psicólogo e pedagogo.

Essa ligação, que não pretende ser exaustiva de todo, vai ser focada a nível da microcirculação constituída pela rede capilar, arteríolas e vénulas, e com funções de regulação do fluxo sanguíneo nos órgãos e das trocas moleculares entre tecidos e o sangue. As arteríolas possuem mecanismos sensoriais que monitorizam a tensão de cisalhamento e a tensão circunferencial. Estamos a falar de sensores nas membranas endoteliais que respondem à tensão de cisalhamento e que enviam mensagens moleculares aos mecanismos contrácteis nos vasos. A transmissão é influenciada pelas propriedades reológicas do sangue, por alterações crónicas das forças de cisalhamento, pelos danos de provocados nos vasos que induzem à presença de factores pro-inflamatórios e ao desequilíbrio da hemostase.

A microscopia intra-vital (IVM) permite, no contexto próprio e aplicada a modelos experimentais *in vivo*, acrescer para a clarificação, das

relações moleculares intraluminais e teciduais. Por exemplo, nos modelos de trombose arterial em murganhos normais ou deficientes em proteínas participantes nas vias da coagulação conseguiu observar-se o contributo das microvesículas derivadas dos monocitos na formação do trombo^{1,2}. Pela observação das vénulas sinusóides e das pós-sinusóides por IVM, verificou-se num modelo experimental de endotoxemia em murganhos que a adesão dos leucócitos é posterior à das plaquetas³. O nosso grupo reportou que a fluoresceína sódica, normalmente utilizada na clínica para observação da microcirculação coróideo-retiniana, induziu uma resposta inflamatória mediada pelo aumento do recrutamento de leucócitos à célula endotelial das vénulas pós-capilares do mesentério de ratos, observado por IVM⁴. Previamente, tínhamos demonstrado, num modelo de isquémia e reperfusão e utilizando IVM para observação da microcirculação no mesentério, que o número de leucócitos em rolamento e ou aderentes aumentou após a reperfusão nos ratos submetidos a isquemia bilateral dos membros posteriores⁵. A retenção de leucócitos na microcirculação do mesentério é exacerbada pela presença de velnacrina maleato, um dos inibidores da acetilcolinesterase, num modelo experimental de endotoxemia induzida em ratos Wistar⁶. A observação por IVM das inte-

racções leucócito-parede endotelial em vénulas pós-capilares forneceu parâmetros hemodinâmicos que, em conjunto com os valores da viscosidade sanguínea determinados a várias velocidades de cisalhamento e hematócitos diferentes, permitiram por simulação matemática identificar na superfície dos leucócitos próxima da célula endotelial uma distribuição não uniforme de tensões de cisalhamento⁷. A zona de maior tensão de cisalhamento localizava-se na superfície próxima da célula endotelial, formando como que um duplo gradiente em que as de menor intensidade se estabeleciam nas zonas distais⁷. Foi também calculado que o comportamento hidrodinâmico de agrupamentos de leucócitos é indutor da iniciação e potenciação do rolamento e do aumento da tensão de cisalhamento na parede endotelial^{7,8}. O leucócito, ao ser recrutado, é auxiliado pelo movimento lateral próprio, pela ocorrência de vórtices e de regiões de fluxo estagnadas que o envolvem⁹. Ao chamamento quimiotáctico juntam-se o ambiente hidrodinâmico, o biomecânico e os empurrões resultantes das interacções que estabelecem com os eritrócitos, constituindo um conjunto de condições propícias ao recrutamento dos leucócitos para a célula endotelial¹⁰. Diferentes autores utilizaram a marcação fluorescen-

te dos glóbulos vermelhos de ratos Wistar para avaliar, por IVM, os efeitos de várias moléculas tais como a endotelina-1 e ou a endotoxina na microcirculação hepática^{11,12}. Concluíram que a velocidade do fluxo sanguíneo na microcirculação hepática varia consoante a dose administrada de endotoxina¹¹. O estudo com a endotelina¹² permitiu elaborar um método de quantificação da heterogeneidade da microcirculação entre e dentro dos lóbulos hepáticos induzida pelo stress.

O efeito da acetilcolina no fluxo sanguíneo na microcirculação, após a formação de novos capilares no córtex cerebral, foi também avaliado por IVM, que mostrou aumento da velocidade dos eritrócitos e maior capacidade de relaxamento vascular nos murganhos previamente injectados com factor de crescimento derivado das plaquetas¹³.

A microscopia intravital é uma “ferramenta “essencial para a compreensão do comportamento biomolecular, com propriedades bioquímicas, biofísicas, biomecânicas, a nível da microcirculação *in vivo*, e será tanto mais valorativa quanto mais aperfeiçoada estiver a análise computacional dos dados.

Carlota Saldanha
Presidente da SPHM

REFERÊNCIAS

1. Falati S, Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *J Exp med* 2003; 197:1585-1589.
2. Chou J Hematopoietic cell-derived microparticle tissue factor contributes to fibrin formation during thrombus propagation. *Blood* 2004; 104:3190-3197.
3. Croner R S, Hoere E, Kuku Y, Hackert T, Gebhard M M, Herfarth C, Klar E. Hepatic platelet and leukocyte adherence during endotoxemia. *Crit Care* 2006; 10:R15 (<http://ccforum.com/content/10/R15>).
4. Sobral do Rosário, H., L. Sargento, C. Saldanha, J. Martins e Silva Sodium fluorescein-induced changes in leukocyte-endothelial interaction in an animal model. *Microvascular Res.* 2000; 59:386-389.
5. Sobral do Rosário H., Saldanha C., Martins e Silva J. – Increased leukocyte-endothelial interaction in the mesenteric microcirculation following

- remote ischemia-reperfusion. *Microvascular Research* 1999; 57:199-202.
6. Sobral do Rosário H., Saldanha C., Martins e Silva J. The effect of velnacrine in the lipopolysaccharide-induced leukocyte-endothelial interaction . In 21 st European nconference on Microcirculation. B: Fagrell (ed. International Proceedings Division, Monduzzi neditore, 2000; 79-82.
 7. Artoli AM, Sequeira A, Silva-Herdade AS, Saldanha C. Leukocytes rolling and recruitment by endothelial cells: hemorheological experiments and numerical simulations. *J Biomech.* 2007; 40:3493-3502.
 8. Artoli AM, Sequeira A, Silva-Herdade AS, Saldanha C Localized hydrodynamics of clustering leukocytes. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008; 39:375-380.
 9. Sequeira A, Artoli AM, Silva-Herdade AS, Saldanha C Leukocyte dynamics in microcirculation under shear-thining blood flow. *Comp and Math Applications* 2009; 58:1035-1044.
 10. Rao R M, Yang L, Garcia- Gardena G, Luscinskas F W, Endothelial-dependent mechanisms of leukocyte recruitment to the vascular wall. *Circ Res* 2007; 101:234-247.
 11. Horie Y Kato S, Ohki E, Hamamatsu H, Fukumura D, Kurose I, Suzuki H, Suematsu M, Miura S, Ishij H. Effect of lipopolysaccharides on erythrocyte flow velocity in rat liver. *J Gastroenterol* 1997; 32:783-790.
 12. Kamoun W S, Shin M C, Karaa A, Clemens M G. Quantification of hepatic microcirculation heterogeneity of perfusion: effects of endothelin-1. *Microvas Res* 2005; 69:180-186.
 13. Kolammal N, Yamakawa T, Nijmi H. Response of cerebral neocapillaries to acetylcholine an intravital microscopic observation. *Int Cong Series* 2002; 1235:509-514.