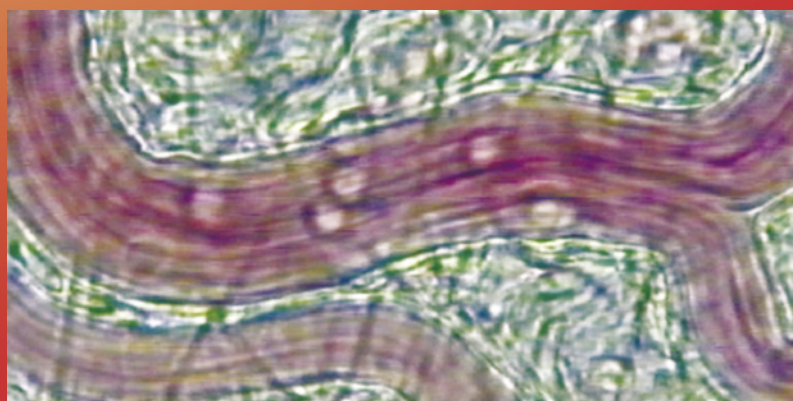




publicação trimestral  
Janeiro/Fevereiro/Março  
vol. 28 n.º 1 2013

**BSPHM**



[www.hemorreologia.com](http://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:** Carlota Saldanha **Editor Associado/Associated Editor:** Henrique Luz Rodrigues **Conselho Editorial Internacional/International Editorial Board:** PORTUGAL: José Pereira Albino, J. M. Braz Nogueira, Victor Oliveira, Luís Mendes Pedro, Fausto J. Pinto, João Martins e Silva | OUTROS PAÍSES: Oguz K. Baskurt (Turquia), Jean-Frederic Brun (França), Greet Schmid-Schoenbein (EUA), Nadia Antonova (Bulgária), Yukihide Isogai (Japão). **Coordenador Editorial:** João Martins e Silva.

Vol. 28 n.º 1 Janeiro, Fevereiro, Março 2013

## Sumário / Summary

### NOTA DE ABERTURA/EDITORIAL

- Convite 3
  - Invitation
- Carlota Saldanha*

### ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW ARTICLE

- Fibrinogen heterogeneity and contribution to wound healing 4
  - Heterogeneidade do fibrinogénio e contribuição para a cura de feridas
- Elim Cheung, Moniek P.M. de Maat*

### SÉRIE TEMÁTICA/SERIES THEMATIC

- Conceitos sobre hemorreologia e microcirculação humana  
Tema 6 – Microcirculação sanguínea e sistema linfático 12
- J. Martins e Silva*

### ACTUALIZAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS/ARCHIVE

- The influence of oxygen supply, hemorheology and microcirculation in the heart and vascular systems 22
- Relation between plaque type, plaque thickness, blood shear stress, and plaque stress in coronary arteries assessed by x-ray angiography and intravascular ultrasound 23
- Pulsatile hemodynamics and microcirculation: evidence for a close relationship in hypertensive patients 24

### NOTÍCIAS /NEWS AND INFORMATIONS

- 17th Conference of the European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation (ESCHM) 25
- 15th International Congress of Biorheology and 8th International Conference on Clinical Hemorheology 25

**Política Editorial:** O “Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação” fica a deter o direito de propriedade sobre todo o material publicado e difundido (artigos ou vídeos), após concordância expressa, por escrito, dos respectivos autores. O material eventualmente recusado não será devolvido.

**Publication Policy of Material Presented:** The “Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação” has the copyright ownership of all published and diffused material (articles or videos) conveyed, upon expressed and signed agreement of their Authors. The material eventually rejected will not be returned.

# Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

**Presidente Honorário:** Prof. Doutor João Alcindo Martins e Silva

## ÓRGÃOS SOCIAIS DA SPHM / BOARDS (2012-2014)

Direção / Executive Committee	Assembleia Geral / General Assembly	Conselho Fiscal / Finance and Audit Committee
<i>Presidente</i> Prof. <sup>a</sup> Doutora Maria Carlota Saldanha Lopes	<i>Presidente</i> Prof. Doutor José Manuel Braz Nogueira	<i>Presidente</i> Prof. Doutor João Eurico Fonseca
<i>Vice-Presidente</i> Dr. José António Pereira Albino	<i>1.º Secretário</i> Prof. Doutor Luís Mendes Pedro	<i>1.º Vogal</i> Dr. <sup>a</sup> Maria Helena Baptista Manso Ribeiro
<i>Secretário-Geral</i> Dr. Flávio Nelson Fernandes Reis	<i>2.º Secretário</i> Prof. Doutor Henrique Sobral do Rosário	<i>2.º Vogal</i> Dr. Carlos Manuel dos Santos Moreira
<i>Tesoureiro</i> Dr. <sup>a</sup> Ana Santos Silva Herdade	<i>1.º Secretário Suplente</i> Dr. Miguel Frederico Leal Galvão	<b>Comissão de Delegados / Committee of Delegates</b>
<i>Secretários-Adjuntos</i> Prof. <sup>a</sup> Doutora Alice Santos Silva Dr. Jorge Lima Dr. Luís Sargento	<i>2.º Secretário Suplente</i> Dr. Paulo Ferreira da Silva	<i>Delegado da Região Norte</i> – Dr. Manuel Campos <i>Delegado da Região Centro</i> – Dr. João Morais <i>Delegado da Região Sul e Regiões Autónomas</i> – Dr. Mário Marques

## MEMBROS CONSULTIVOS, HONORÁRIOS E CORRESPONDENTES / / CONSULTIVE, HONORARY AND CORRESPONDENT MEMBERSHIP

Conselho Científico / / Scientific Council	Sócios Honorários / / Honorary Members	Sócios Correspondentes / / Correspondent Member
A. Diniz da Gama Axel Pries Fernando Lacerda Nobre Helena Saldanha Oliveira J. Esperança Pina J. Luís Providência J. Martins e Silva J. Fernandes e Fernandes J. Rafael Ferreira João Morais José Ferro Manuel Carrageta Mário Andreia Ricardo Seabra Gomes	A. M. Ehrly (Alemanha) Carlos Ribeiro (Portugal) H. J. Meiselman (EUA) Helmut Drexler (Alemanha) J. F. Stoltz (França) J. E. Tooke (G. Bretanha) J. M. G. Toscano Rico (Portugal) L. Teixeira Diniz (Portugal) Políbio Serra e Silva (Portugal) Sandro Forconi (Itália) Y. Isogai (Japão)	Adrian J. Barnes (G. Bretanha) Alon Harris (USA) D. Seiffge (Alemanha) G. Caimi (Itália) G. D. O. Lowe (G. Bretanha) J. F. Brun (França) Ricardo Manrique (Brasil) Shi Yong-de (China) T. Shiga (Japão) Thao Chan (França)

## FILIAÇÃO INTERNACIONAL EUROPEAN SOCIETY FOR CLINICAL HEMORHEOLOGY 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.<sup>a</sup> Doutora Carlota Saldanha, Faculdade de Medicina de Lisboa; Unidade de Biopatologia Vascular, Instituto de Medicina Molecular)

Esta publicação não foi subsidiada em 2012 por:

**FCI: Fundação para a Ciência e Tecnologia** (Ministério da Educação e Ciência – Portugal). Aguarda-se apoio para 2013.  
Ao abrigo do: **Apoio do Programa Operacional Ciência, Tecnologia, Inovação do Quadro Comunitário de Apoio III**

**O Boletim (ISSN 2182-6005)** é publicado trimestralmente pela Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação. Isenta de registo no ICS nos termos da alínea a) do n.º 1 do artigo 12.º do Decreto Regulamentar n.º 8/99, de 9 de Junho. **Depósito Legal** 30 525/89. **Tiragem** 100 exemplares **Distribuição** sócios, sociedades científicas afins, entidades oficiais e privadas de âmbito médico e áreas de educação da ciência. Todos os direitos estão reservados. **Preço de cada número avulso:** 5 €, a que acresce 2,5 € para portes de correio. **Editor, Proprietário, Administração e Secretariado:** Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, a/c Instituto de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. **Endereço do Secretariado:** Apartado 4098, 1501-001 Lisboa, Portugal. **Telefone** 217 985 136; **Fax:** 217 999 447 **Execução Gráfica:** Publicações Ciência e Vida, Lda. **Telef.:** 214 787 850; **Fax:** 214 020 750. **E-mail:** pub@cienciaevida.pt

## CONVITE

Com o início do ano temos o gosto de anunciar que a SPHM, com o apoio da Tecnimede, oferece aos associados e a todos os visitantes a possibilidade de usufruírem a plataforma interactiva “Venoforum sobre doença venosa crónica”. Pretende-se proporcionar formação científica e esclarecimento de dúvidas.

O alvo preferencial de utilização é o da especialidade de medicina geral e familiar e o conteúdo versa sobre a Angiologia/Cirurgia Vasculuar. O consultor responsável deste projecto é o Dr. José Pereira Albino, cirurgião-vascular e vice-presidente da SPHM, a quem agradecemos a motivação, empenho e dedicação nesta acção de formação contínua. Visite o site da SPHM.

Têm sido enunciadas várias teorias que contemplam alterações nos mecanismos hemorreológicos, inflamatórios, neurológicos e transformações estruturais do tecido conjuntivo e dos microvasos linfáticos que contribuem para a macro e microangiopatia da insuficiência venosa crónica. A alteração do fluxo sanguíneo venoso e a incompetência das válvulas nos sectores superficial, profundo e comunicante, a par de obstrução da drenagem venosa aumentam a pressão venosa.

As modificações estruturais do endotélio venoso e o deficiente fornecimento de nutrientes criam um ambiente propício à resposta inflamatória mediada pelo aumento de fibrinogénio circulante e pela adesão dos leucócitos

à parede dos vasos, a qual é facilitada pelo aumento de hematócrito

Para a doença venosa crónica a resposta inflamatória mantida conduz à disfunção valvular, a alterações das paredes das veias, ao aumento da pressão venosa ambulatoria e ao aparecimento de varizes. O alargamento do diâmetro venular com a diminuição da tensão de cisalhamento origina, numa primeira fase, a diminuição do monóxido de azoto para, numa fase posterior, ocorrer exagerada produção em consequência da expressão e actividade da forma indutiva da sintase do NO. O anião superóxido resultante do stress oxidativo instalado capta o NO, originando peroxinitrito agente causador da lesão tecidual e da diminuição do tónus vascular. A patogenia da doença (insuficiência) venosa crónica é complexa e não vamos detalhar nenhuma das teorias moleculares, anatómicas e estruturais.

A prevenção e o tratamento farmacológico e ou cirúrgico da doença venosa crónica são imperativos a atender para a promoção da qualidade de vida dos doentes. As dúvidas e as questões com elas relacionadas são passíveis de serem esclarecidas na plataforma Venoforum. A SPHM e a Tecnimede pretendem realizar uma das suas missões e serem úteis à comunidade médica e, consequentemente, à sociedade civil.

A sua participação será bem-vinda e ajudará a concretizar esta iniciativa.

*Carlota Saldanha*  
Presidente da SPHM

**FIBRINOGEN HETEROGENEITY AND CONTRIBUTION TO WOUND HEALING**Elim Cheung, Moniek P.M. de Maat<sup>1</sup>**ABSTRACT**

Fibrinogen is an essential matrix to prevent local hemorrhage, to interact with proteins, proteases, protease inhibitors, growth factors and cells, to induce and modulate cell responses, and to facilitate the wound healing process. Since fibrin matrices are a great potential for wound repair and tissue regeneration, they have been utilized as fibrin sealants for multiple tissue engineering applications, including peripheral nerves repair, bone regeneration, skin grafting after burn, and induction of angiogenesis.

**HAEMOSTASIS**

Maintaining the integrity and patency of the vascular system is essential for the viability of humans. When vascular injury has occurred, fast formation of a thrombus at the site of injury is essential to seal the wound, resulting in haemostasis. Haemostasis is a tightly regulated process, which involves the activation of endothelial cells, platelets, procoagulants and the inhibition of fibrinolytic factors. Haemostasis can be separated in two phases called primary and secondary haemostasis, which occur simultaneously. In primary haemostasis, a platelets plug is rapidly formed at the site of injury, whereas in secondary haemostasis, blood coagulation is initiated, either with negatively charged surfaces (intrinsic pathway) or with tissue factor (extrinsic pathway). The cascade leads to the generation of thrombin and the formation of a fibrin network.<sup>1</sup> The thrombus provides an effective restriction for bleeding. Hence, an imbalance of normal haemostasis caused by pathologic disorders may lead to thrombosis or hemorrhage, which may account for morbidity and mortality.

mostasis can be separated in two phases called primary and secondary haemostasis, which occur simultaneously. In primary haemostasis, a platelets plug is rapidly formed at the site of injury, whereas in secondary haemostasis, blood coagulation is initiated, either with negatively charged surfaces (intrinsic pathway) or with tissue factor (extrinsic pathway). The cascade leads to the generation of thrombin and the formation of a fibrin network.<sup>1</sup> The thrombus provides an effective restriction for bleeding. Hence, an imbalance of normal haemostasis caused by pathologic disorders may lead to thrombosis or hemorrhage, which may account for morbidity and mortality.

**FIBRINOGEN**

Fibrinogen is a central protein in the hemostatic system. At the final stage of the blood coagulation system, thrombin converts the soluble fibrinogen into fibrin monomers, which then polymerize to an insoluble fibrin clot. Fibrinogen is a plasma glycoprotein that is mainly synthe-

<sup>1</sup> Dept. Hematology, ErasmusMC, Rotterdam, the Netherlands

Corresponding author: Moniek P.M. de Maat, PhD. Department of Hematology, room Nb-845a, Erasmus University Medical Center, PO Box 2040, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands  
Phone +31 10 7033442 ; Fax +31 10 7035814; e-mail: m.demaat@erasmusmc.nl



sized by hepatocytes in the liver. In plasma, the circulating concentration of fibrinogen is maintained between 2 and 4 mg/mL (6 -12  $\mu$ M), and its half-life is about 3-4 days. Fibrinogen is an acute phase protein, its levels are up-regulated 2 to 10-fold through the action of interleukin 6 (IL-6) and glucocorticoids during the acute-phase response to inflammation, infection and tissue injury.<sup>2-3</sup>

Plasma fibrinogen levels are associated with many demographic and environmental factors in healthy individuals, such as age, body mass, gender, race, season, smoking, physical exercise, diet and use of several drugs.<sup>3</sup>

### Structure of fibrinogen

Fibrinogen molecules are elongated 45 nm structures that consist of identical disulfide-bridged halves, each consisting of three polypeptide chains termed  $A\alpha$ ,  $B\beta$  and  $\gamma$ .<sup>4</sup> These six polypeptide chains assemble to construct a hexamer ( $A\alpha B\beta\gamma$ )<sub>2</sub>, joined together with 29 disulfide bonds.

The fibrinogen molecule contains at least 12 domains, which are grouped into three major regions named E region, D region and  $\alpha$ C region. In the central E region, the amino-termini of the 6 polypeptide chains are connected by five symmetrical disulfide bridges, the non-symmetrical disulfide bridges formed in this region is called the disulfide ring.<sup>5</sup> The two distal D regions store the carboxy-terminals of the  $B\beta$  and  $\gamma$  chain and part of the  $A\alpha$  chain. Both D and E regions contains binding sites for fibrin assembly, cross-linking and platelet interactions.<sup>6</sup> The two

$\alpha$ C regions, comprising the flexible carboxy-terminal two thirds of the  $A\alpha$  chain (residues 221–610 in human fibrinogen),<sup>7-9</sup> are involved in fibrin assembly, activation of factor XIII, modulation of fibrinolysis<sup>10-11</sup> and cell adhesion.<sup>12</sup>

The common human fibrinogen molecule contains 2964 amino acids and has a molecular weight of approximately 340 kilo Dalton (kDa). The  $A\alpha$ ,  $B\beta$  and  $\gamma$  polypeptide chains consist of 610, 461 and 411 amino acids with molecular weights of 68 kDa, 55 kDa and 49 kDa respectively.<sup>13-15</sup>

The 3 polypeptide chains  $A\alpha$ ,  $B\beta$  and  $\gamma$  are encoded separately by the fibrinogen alpha (*FGA*), fibrinogen beta (*FGB*) and fibrinogen gamma (*FGG*) genes, which are clustered in a region of approximately 50 kilobases (kb) and located on chromosome 4q23-32. The 8.4 kb-*FGG* gene contains 10 exons and is oriented in tandem with the 5.4 kb-*FGA* gene, which contains 6 exons. The *FGG* gene is located 10 kb upstream of the *FGA* gene. Both genes are transcribed in the direction opposite the 8.2 kb-*FGB* gene, which is located 13 kb downstream of the *FGA* gene and contains 8 exons.<sup>16</sup> Assembly of the 6 separate chains takes place sequentially in the endoplasmic reticulum within 5 minutes of synthesis.<sup>17</sup>

### Inherited variations in the fibrinogen genes

Numerous polymorphisms have been identified in the three fibrinogen genes. The majority of them are located in the non-coding regions, except for the Arg448Lys polymorphism in the  $B\beta$  gene and the Thr312Ala polymorphism

in the A $\alpha$  gene. An association between the B $\beta$  Arg448Lys polymorphism and variations of clot structure has been suggested,<sup>18</sup> but contradictory results were reported.<sup>19</sup> The A $\alpha$  Thr312Ala polymorphism is associated with thromboembolic disease.<sup>20-21</sup> The most extensively studied polymorphisms are located in the *FGB* gene, since *in vitro* studies suggested that the synthesis of the B $\beta$  chain is the rate limiting step of the mature fibrinogen production and therefore the *FGB* gene is considered to be involved in determining the fibrinogen plasma levels.<sup>22</sup> A consistent association between *FGB* promoter genotypes and elevated plasma levels of fibrinogen plasma concentrations confirmed this hypothesis.<sup>23-24</sup> On the other hand, the variations of *FGA* and *FGG* genes are reported to play a role in regulating fibrin clot structure.<sup>18</sup>

### Noninherited variations

#### *Posttranslational modifications*

In addition to the genetic variations in the fibrinogen genes, many variants in fibrinogen are noninherited. They are the result of alternative splicing, posttranslational modifications and proteolytic degradation. Fibrinogen molecules are modified posttranslationally in different degrees as a result of phosphorylation, glycation, glycosylation, oxidization, sialylation and deamidation. These modifications may affect the characteristics of fibrinogen, and affect proteolysis and polymerization.<sup>25</sup>

#### *Proteolytic degradation*

At the carboxyl-terminal of the A $\alpha$  chains, partial proteolytic degradation can occur, which is the main cause of

heterogeneity of the fibrinogen molecule (Figure 1). Fibrinogen is mainly synthesized in the high molecular weight (HMW) fibrinogen with two intact carboxyl ends of the A $\alpha$  chain (molecular weight [MW] 340 kDa, 70% of total fibrinogen). Partial degradation of one A $\alpha$  chain results in the low molecular weight (LMW) form (MW 305 kDa, 26% of total fibrinogen) and partial degradation of both A $\alpha$  chains leads to LMW' fibrinogen (MW 270 kDa, 4% of total fibrinogen).<sup>26</sup> The ratio of molecular weight variants varies according to the physiological condition, for example, the percentage of HMW fibrinogen increases during an acute phase reaction.<sup>27</sup>

The three molecular weight forms are a mixture of molecules with numerous degradation sites in the carboxyl terminus of the A $\alpha$  chain. The main termination residues of the degraded A $\alpha$  chains were Asn-269, Gly-297 and Pro-309.<sup>28</sup> However, no enzyme (included plasmin, gelatinase, trypsin, matrix metalloproteinases, and elastase) has been identified that explains the proteolytic cleavage of HMW to LMW and LMW' fibrinogen.<sup>28</sup> Previous studies showed that the rate of fibrin polymerization, clot stability, fibrin degradation and angiogenesis were influenced in the LMW and LMW' fibrinogen when compare to HMW fibrinogen.<sup>25,29</sup>

#### *Alternative mRNA processing variants*

##### *The extended A $\alpha_E$ variant ( $\alpha_E$ Fib420)*

There are two alternative processing variants from the fibrinogen genes (Figure 1). The first is the result of alternative transcription of the *FGA* gene and includes exon six. This form





Bars indicate relative lengths of fibrinogen A $\alpha$ , B $\beta$  and  $\gamma$  chains, while the white bars represent elongated sequences of  $\alpha$ E and  $\gamma'$  fibrinogen variants.

**Figure 1.** Schematic representation of major fibrinogen variants in plasma.

results in the generation of a minor form with an extended A $\alpha$ <sub>E</sub> chain ( $\alpha$ <sub>E</sub>). Only 1 to 2% of the total fibrinogen molecules is  $\alpha$ <sub>E</sub>.<sup>30</sup> The C-terminus of  $\alpha$ <sub>E</sub> was reported to have chaperone-like activity,<sup>31</sup> supporting integrin-mediated cell adhesion,<sup>32</sup> mediate leukocyte adhesion and migration via the binding with leukocyte integrins  $\alpha$ <sub>M</sub> $\beta$ <sub>2</sub> and  $\alpha$ <sub>X</sub> $\beta$ <sub>2</sub>.<sup>33</sup> However, the physiological role of  $\alpha$ <sub>E</sub> C has not yet been fully elucidated.

#### *The fibrinogen gamma variants ( $\gamma'$ )*

Another natural alternative processing variant is the fibrinogen  $\gamma'$  variant, which comprises 8% to 15% of the total circulating fibrinogen (Figure 1, reviewed in<sup>34</sup>). Fibrinogen  $\gamma'$  is a result of alternative messenger RNA processing and polyadenylation at the C-terminal of  $\gamma$ A. The last 4 amino acids encoded by exon 10 ( $\gamma$ A 408-411 AGDV) are replaced by the 20 unique anionic amino acids encoded by intron 9 ( $\gamma'$  408-427 VRPEH-PAET EYDSL YPEDDL), leads to the formation of  $\gamma'$ . Approximately 3% to

34% of the  $\gamma'$  occur as a shortened version, termed  $\gamma'^{423P}$ , which probably arises by post-secretory *in vivo* processing of  $\gamma'^{427L}$  fibrinogen chains. The  $\gamma'^{423P}$  has impaired thrombin binding potential since the 424-427 sequence (EDDL), which is required for thrombin binding, is not included.

The extension of  $\gamma'$  fibrinogen contains a high affinity binding site for thrombin, which results in antithrombin I activity.<sup>7</sup> In addition,  $\gamma'$  fibrinogen contains an extra binding site for the factor XIII (FXIII) B subunit and lost its platelet integrin  $\alpha$ <sub>IIb</sub> $\beta$ <sub>3</sub> binding site, which results in reduced platelet-fibrin(o)gen interactions. Several studies reported functional and structural differences between fibrinogen  $\gamma$ A and fibrinogen  $\gamma'$  fibrin matrices, such as slower fibrinopeptide B release, slower fibrin polymerization for  $\gamma'$  fibrinogen, thinner fibers and more branch points with scanning electron microscopy on fibrin  $\gamma'$  fibrin matrices. The elevated  $\gamma'$  levels and  $\gamma'$ /total fibrinogen ratio have been reported in cardiovascular diseases,

whereas decreased  $\gamma$  levels and  $\gamma$ /total fibrinogen ratio have been associated with venous disease. Furthermore, the *FGG* haplotypes are associated with thrombotic risk. These associations indicate the  $\gamma$  may play a role in cardiovascular events.

### FIBRIN POLYMERIZATION

Fibrin formation is initiated by thrombin cleavage of Arg16 at the amino-terminus of the A $\alpha$  chains, resulting in release of fibrinopeptides A (FpA). Cleavage of FpA results in the exposure of a new polymerization site and fibrin monomers polymerize to form half-staggered oligomers that lengthen into double-stranded protofibrils (Figure 2). Subsequently, thrombin cleavage after Arg14 at the N-terminal of the B $\beta$  chains releases

fibrinopeptides B (FpB), promoting the lateral aggregation, resulting in an increase in the fiber thickness.<sup>35</sup>

The fibrin network is stabilized by plasma transglutaminase factor (F) XIII, which is activated by thrombin, and cross-links the fibrin clot covalently via glutamine–lysine bridging between two  $\gamma$  chains.<sup>36</sup> This intermolecular bridging also occurs more slowly between two  $\alpha$  chains,<sup>37</sup> and even occurs between one  $\gamma$  and one  $\alpha$  chain.<sup>38</sup> These cross-links further strengthen the fibrin clot and protect the clot against mechanical, chemical, and proteolytic degradation.<sup>39</sup>

### MODULATORS OF THE FIBRIN STRUCTURE

The fibrin clot structure can be described by the fiber thickness, length,

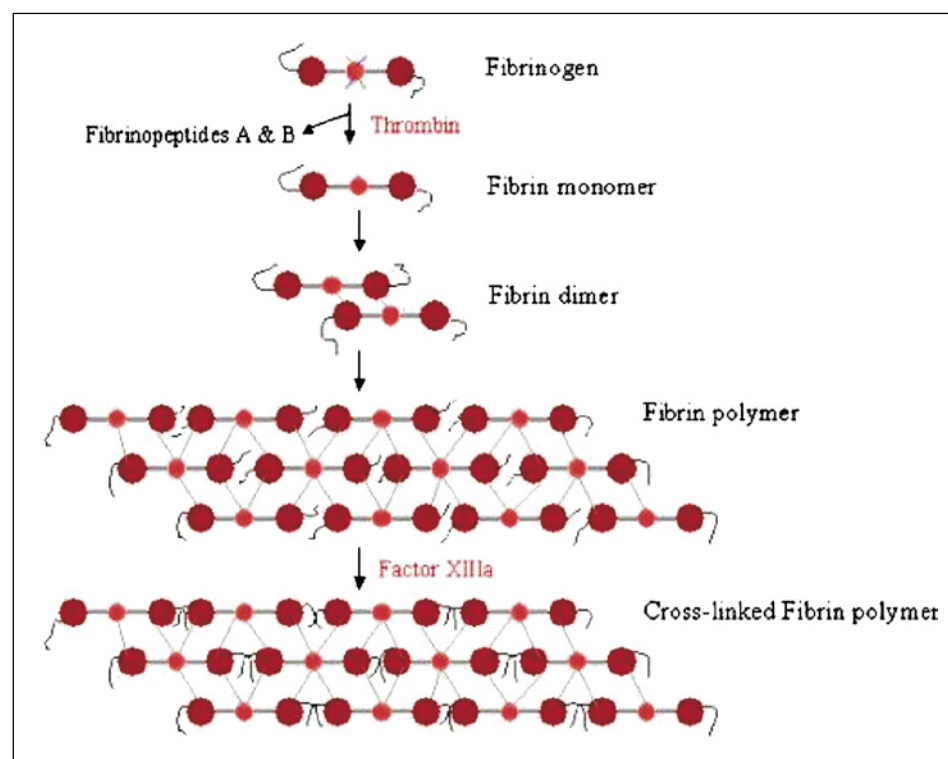


Figure 2. Schematic representation of fibrin monomer and their assembly into polymers.

porosity, permeability, degree of branching, and extent of cross-linking.<sup>40</sup> These variables determine properties of clot, such as stiffness and rate of fibrinolysis. Multiple factors regulate the fibrin clot formation, properties and function, including pH, ionic strength, calcium concentration, fibrinogen concentration and thrombin concentration. For example, an increased fibrinogen concentration and a decreased thrombin concentration lead to thicker fiber and more branch points, resulting in stiffer clots. Moreover, procoagulant activity affects the fibrin clot structure and stability, such as FXIIIa-induced fibrin cross-linking, interactions with platelet and vascular cells, which support the formation of dense fibrin networks that resist fibrinolysis.<sup>41</sup> In addition, fibrinogen polymorphisms (e.g. B $\beta$  Arg448Lys and A $\alpha$  Thr312Ala polymorphisms), fibrinogen variants (e.g. HMW-fibrinogen, LMW-fibrinogen and  $\gamma$  fibrinogen) and pathophysiological condition (e.g. patients with type II diabetes mellitus, premature coronary artery disease or myocardial infarction) also influence polymerization processes and may give an altered fibrin structure.

Taken together, the total effect of genetic and environmental influences determines the structure and function of the fibrin clot. The stability and characteristics of fibrin network play important roles in haemostasis and thrombosis. Alternations in fibrin structure could be a causative factor in the various hemorrhagic and thrombotic disorders, and understanding of the mechanism may lead to the development of therapeutic interventions to manage cardiovascular diseases.

## FIBRINOGEN AND WOUND HEALING

Wound healing is a dynamic, interactive and complex process, which consists of three sequential but overlapping phases: (1) inflammation (2) proliferation and (3) remodeling.<sup>42</sup> The wound healing process involves a series of cellular and biochemical events, such as cell adhesion, migration, proliferation, neovascularization, extracellular matrix (ECM) deposition and degradation. These events comprise the intricate interactions between many different cell types, extracellular matrix, soluble mediators (for instance growth factors and cytokines) and proteinases.<sup>43-44</sup>

Fibrinogen is a central protein in the coagulation cascade and it also plays a pivotal role in wound repair. After endothelial injury, a platelets plug is rapidly formed, followed by the formation of a fibrin network. The activated platelets are included in the fibrin network through the binding of fibrin to platelet integrin, the  $\alpha_{IIb}\beta_3$  receptors. The resulting insoluble fibrin clot is the first protection against local hemorrhage in wounds. In addition to its function in haemostasis, the fibrin network provides an important provisional, biodegradable ECM that stabilizes the wound and facilitates cell invasion during wound healing process.

One of the important processes of wound healing is angiogenesis, which is the formation of new capillaries from pre-existing vessels in the ECM of the wounded tissue by migration and mitogenic stimulation of endothelial cells (EC).<sup>44</sup> This process consists of several steps, which including the stimulation of ECs by growth factors,

degradation of the extracellular matrix by proteolytic enzymes, invasion of matrix by the migration and proliferation of EC, and finally the formation of capillary tube.<sup>45</sup> It is also highly depends on fibrin structure and the interactions between fibrin and proteins. The rate of fibrinolysis and angiogenesis are affected by the structure of fibrin matrix, for instance a faster fibrinolysis rate was observed in coarse matrix.<sup>46</sup> Furthermore, many haemostasis proteins (such as t-PA, plasminogen and FXIII) bind to fibrinogen and fibrin, which affect the fibrinolysis rate and hence influence the angiogenesis process.<sup>47</sup> The fibrin matrix is also physically associated with other matrix proteins, such as fibronectin and vitronectin, which provide a bridge between smooth muscle cells and fibrin.<sup>6</sup>

Besides being the temporary scaffold to support the wounded tissue, fibrin matrices actively recruit cells to modulate cell-cell and cell-matrix interactions. Previous studies have shown that many cell types have affinity to fibrin matrices, such as EC, smooth muscle cells, fibroblasts and leukocytes. These cells interact with fibrin matrices directly through cell surface integrin receptors (e.g.  $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_v\beta_5$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_M\beta_2$ ,  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) and non-integrin receptors, such as Vascular Endothelial(VE)-Cadherin, intercellular adhesion molecule (I-CAM), P-selectin and platelet glycoprotein Ib- $\alpha$  (GP1ba).<sup>6,48</sup> In addition, fibrin matrices serve as a reservoir for cytokines and growth factors during tissue repairing, in particular the high affinity binding with angiogenic growth factors vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2).<sup>49-50</sup>

## REFERENCES

1. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008;**359**(9):938-49.
2. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990;**265**(3):621-36.
3. de Maat MP. Effects of diet, drugs, and genes on plasma fibrinogen levels. *Ann N Y Acad Sci* 2001;**936**:509-21.
4. Henschen A, Lottspeich F, Kehl M, Southan C. Covalent structure of fibrinogen. *Ann N Y Acad Sci* 1983;**408**:28-43.
5. Blombäck B, Hessel B, Hogg D. Disulfide bridges in nh2-terminal part of human fibrinogen. *Thromb Res* 1976;**8**(5):639-58.
6. Laurens N, Koolwijk P, de Maat MP. Fibrin structure and wound healing. *J Thromb Haemost* 2006;**4**(5):932-9.
7. Weisel JW, Medved L. The structure and function of the alpha C domains of fibrinogen. *Ann N Y Acad Sci* 2001;**936**:312-27.
8. Tsurupa G, Tsonev L, Medved L. Structural organization of the fibrin(ogen) alpha C-domain. *Biochemistry* 2002;**41**(20):6449-59.
9. Standeven KF, Ariens RA, Grant PJ. The molecular physiology and pathology of fibrin structure/function. *Blood Rev* 2005;**19**(5):275-88.
10. Medved L, Tsurupa G, Yakovlev S. Conformational changes upon conversion of fibrinogen into fibrin. The mechanisms of exposure of cryptic sites. *Ann N Y Acad Sci* 2001;**936**:185-204.
11. Tsurupa G, Medved L. Fibrinogen alpha C domains contain cryptic plasminogen and tPA binding sites. *Ann N Y Acad Sci* 2001;**936**:328-30.
12. Cheresh DA, Berliner SA, Vicente V, Ruggeri ZM. Recognition of distinct adhesive sites on fibrinogen by related integrins on platelets and endothelial cells. *Cell* 1989;**58**(5):945-53.
13. Rixon MW, Chan WY, Davie EW, Chung DW. Characterization of a complementary deoxyribonucleic acid coding for the alpha chain of human fibrinogen. *Biochemistry* 1983;**22**(13):3237-44.
14. Chung DW, Que BG, Rixon MW, Mace M, Jr., Davie EW. Characterization of complementary deoxyribonucleic acid and genomic deoxyribonucleic acid for the beta chain of human fibrinogen. *Biochemistry* 1983;**22**(13):3244-50.
15. Chung DW, Chan WY, Davie EW. Characterization of a complementary deoxyribonucleic acid coding for the gamma chain of human fibrinogen. *Biochemistry* 1983;**22**(13):3250-6.
16. Kant JA, Fornace AJ, Jr., Saxe D, Simon MI, McBride OW, Crabtree GR. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: gene duplication accompanied by transposition and inversion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;**82**(8):2344-8.
17. Yu S, Sher B, Kudryk B, Redman CM. Fibrinogen precursors. Order of assembly of fibrinogen chains. *J Biol Chem* 1984;**259**(16):10574-81.
18. Lim BC, Ariens RA, Carter AM, Weisel JW, Grant PJ. Genetic regulation of fibrin structure and function: complex gene-environment interactions may modulate vascular risk. *Lancet* 2003;**361**(9367):1424-31.
19. Maghazal GJ, Brennan SO, George PM. Fibrinogen B beta polymorphisms do not directly contribute

- to an altered in vitro clot structure in humans. *Thromb Haemost* 2003;**90**(6):1021-8.
20. Carter AM, Catto AJ, Grant PJ. Association of the alpha-fibrinogen Thr312Ala polymorphism with poststroke mortality in subjects with atrial fibrillation. *Circulation* 1999;**99**(18):2423-6.
21. Carter AM, Catto AJ, Kohler HP, Ariens RA, Stickleland MH, Grant PJ. alpha-fibrinogen Thr312Ala polymorphism and venous thromboembolism. *Blood* 2000;**96**(3):1177-9.
22. Roy S, Overton O, Redman C. Overexpression of any fibrinogen chain by Hep G2 cells specifically elevates the expression of the other two chains. *J Biol Chem* 1994;**269**(1):691-5.
23. Humphries SE. Genetic regulation of fibrinogen. *Eur Heart J* 1995;**16 Suppl A**:16-9; discussion 19-20.
24. van 't Hooft FM, von Bahr SJ, Silveira A, Iliadou A, Eriksson P, Hamsten A. Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;**19**(12):3063-70.
25. de Maat MP, Verschuur M. Fibrinogen heterogeneity: inherited and noninherited. *Curr Opin Hematol* 2005;**12**(5):377-83.
26. Holm B, Brosstad F, Kierulf P, Godal HC. Polymerization properties of two normally circulating fibrinogens, HMW and LMW. Evidence that the COOH-terminal end of the a-chain is of importance for fibrin polymerization. *Thromb Res* 1985;**39**(5):595-606.
27. Holm B, Godal HC. Quantitation of the three normally-occurring plasma fibrinogens in health and during so-called "acute phase" by SDS electrophoresis of fibrin obtained from EDTA-plasma. *Thromb Res* 1984;**35**(3):279-90.
28. Nakashima A, Sasaki S, Miyazaki K, Miyata T, Iwanaga S. Human fibrinogen heterogeneity: the COOH-terminal residues of defective A alpha chains of fibrinogen II. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1992;**3**(4):361-70.
29. Kaijzel EL, Koolwijk P, van Erck MG, van Hinsbergh VW, de Maat MP. Molecular weight fibrinogen variants determine angiogenesis rate in a fibrin matrix in vitro and in vivo. *J Thromb Haemost* 2006;**4**(9):1975-81.
30. Fu Y, Weissbach L, Plant PW, et al. Carboxy-terminal-extended variant of the human fibrinogen alpha subunit: a novel exon conferring marked homology to beta and gamma subunits. *Biochemistry* 1992;**31**(48):11968-72.
31. Tang H, Fu Y, Zhan S, Luo Y. Alpha(E)C, the C-terminal extension of fibrinogen, has chaperone-like activity. *Biochemistry* 2009;**48**(18):3967-76.
32. Yokoyama K, Zhang XP, Medved L, Takada Y. Specific binding of integrin alpha v beta 3 to the fibrinogen gamma and alpha E chain C-terminal domains. *Biochemistry* 1999;**38**(18):5872-7.
33. Lishko VK, Yakubenko VP, Hertzberg KM, Grieninger G, Ugarova TP. The alternatively spliced alpha(E)C domain of human fibrinogen-420 is a novel ligand for leukocyte integrins alpha(M)beta(2) and alpha(X)beta(2). *Blood* 2001;**98**(8):2448-55.
34. Uitte de Willige S, Standeven KF, Philippou H, Ariens RA. The pleiotropic role of the fibrinogen gamma' chain in hemostasis. *Blood* 2009;**114**(19):3994-4001.
35. Blomback B, Hessel B, Hogg D, Therkildsen L. A two-step fibrinogen-fibrin transition in blood coagulation. *Nature* 1978;**275**(5680):501-5.
36. Doolittle RF, Chen R, Lau F. Hybrid fibrin: proof of the intermolecular nature of - crosslinking units. *Biochem Biophys Res Commun* 1971;**44**(1):94-100.
37. Sobel JH, Gawinowicz MA. Identification of the alpha chain lysine donor sites involved in factor XIIIa fibrin cross-linking. *J Biol Chem* 1996;**271**(32):19288-97.
38. Shainoff JR, Urbanic DA, DiBello PM. Immunoelectrophoretic characterizations of the cross-linking of fibrinogen and fibrin by factor XIIIa and tissue transglutaminase. Identification of a rapid mode of hybrid alpha-/gamma-chain cross-linking that is promoted by the gamma-chain cross-linking. *J Biol Chem* 1991;**266**(10):6429-37.
39. Francis CW, Marder VJ. Increased resistance to plasmin degradation of fibrin with highly cross-linked alpha-polymer chains formed at high factor XIII concentrations. *Blood* 1988;**71**(5):1361-5.
40. Weisel JW. The mechanical properties of fibrin for basic scientists and clinicians. *Biophys Chem* 2004;**112**(2-3):267-76.
41. Standeven KF, Uitte de Willige S, Carter AM, Grant PJ. Heritability of clot formation. *Semin Thromb Hemost* 2009;**35**(5):458-67.
42. Schilling JA. Wound healing. *Surg Clin North Am* 1976;**56**(4):859-74.
43. Broughton G, 2nd, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006;**117**(7 Suppl):12S-34S.
44. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999;**341**(10):738-46.
45. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000;**6**(4):389-95.
46. Collet JP, Park D, Lesty C, et al. Influence of fibrin network conformation and fibrin fiber diameter on fibrinolysis speed: dynamic and structural approaches by confocal microscopy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;**20**(5):1354-61.
47. Ariens RA, Lai TS, Weisel JW, Greenberg CS, Grant PJ. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood* 2002;**100**(3):743-54.
48. Moroi M, Jung SM. Integrin-mediated platelet adhesion. *Front Biosci* 1998;**3**:d719-28.
49. Sahni A, Francis CW. Vascular endothelial growth factor binds to fibrinogen and fibrin and stimulates endothelial cell proliferation. *Blood* 2000;**96**(12):3772-8.
50. Sahni A, Khorana AA, Baggs RB, Peng H, Francis CW. FGF-2 binding to fibrin(ogen) is required for augmented angiogenesis. *Blood* 2006;**107**(1):126-31.



## CONCEITOS SOBRE HEMORREOLOGIA E MICROCIRCULAÇÃO HUMANAS

J. Martins e Silva<sup>1</sup>

### TEMA 6 – MICROCIRCULAÇÃO SANGUÍNEA E SISTEMA LINFÁTICO

#### GENERALIDADES

O sistema vascular sanguíneo e o sistema linfático desempenham acções complementares relevantes a nível dos tecidos, respectivamente na perfusão pelo sangue e na homeostasia dos líquidos e suspensões corporais. Ainda que evidenciem grandes diferenças estruturais e funcionais entre si, também partilham algumas particularidades anatómicas. O sistema vascular constitui, como foi dito anteriormente, um circuito fechado de elevado gradiente de pressão, no qual o sangue circula entre os todos os órgãos e sectores corporais, donde regressa ao ponto de partida, o coração. Por seu lado, o linfático é um sistema aberto unidireccional de baixa pressão, através do qual a linfa é drenada do espaço intersticial da generalidade dos tecidos (excepto no cérebro e retina) e devolvida à circulação sanguínea. Para esse objectivo, a linfa (depois de atravessar os colectores linfáticos iniciais, tubos colectores sucessivamente mais largos e,

por fim, o ducto linfático direito e o ducto torácico) mistura-se com sangue, respectivamente, ao nível da subclávia direita e da esquerda.

Adicionalmente, o sistema linfático é essencial para a absorção lipídica intestinal e para a protecção imunológica do organismo. Em condições patológicas, as mesmas vias que são utilizadas para resposta imunológica (designadamente, o transporte de linfócitos de memória T, macrófagos e células dendríticas para os gânglios linfáticos) são-no, também para a metastização de células tumorais malignas.

O sistema canalicular linfático funciona em estreita associação com os tecidos linfóides, responsáveis sobretudo pela protecção imunitária, que existem dispersos por muitos dos órgãos corporais, em particular nos gânglios, amígdalas, placas de Peyer, baço e timo, entre outras estruturas menores. Estes tecidos, também atravessados pela linfa, são constituídos por tecido conjuntivo, linfócitos e outros leucócitos.

As funções de absorção lipídica e de resposta imunológica do sistema linfático saem do âmbito do presente trabalho, não sendo por isso aqui analisadas.

<sup>1</sup> Professor catedrático aposentado e ex-director do Instituto de Bioquímica Fisiológica/Biopatologia Química e da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. Sócio fundador e 1.º presidente da SPHM.



## TROCAS DE ÁGUA E SOLUTOS NA MICROCIRCULAÇÃO

A par da permuta de gases, nutrientes e produtos metabólicos, referida anteriormente, também ocorrem constantes trocas de água<sup>2</sup> e solutos orgânicos a nível dos microvasos. Porém, dos cerca de 20 litros de sangue que chegam por dia à extremidade arterial dos capilares e são filtrados ao logo do seu trajecto, uma parte substancial deste filtrado plasmático permanece (transitoriamente) retida no espaço intersticial<sup>3</sup>; uma fracção converte-se em *linfa*, enquanto outra, maioritária, é reabsorvida pela circulação a nível da extremidade venosa daqueles microvasos (Fig.1). Deste modo, o volume (aproximadamente 12 litros, em cada indivíduo saudável e com 70 kg de peso corporal) de líquido intersticial que existe em dado momento, reflecte o equilíbrio dinâmico entre a fracção filtrada do plasma e a removida, como linfa, pelos canais linfáticos.

É através do líquido intersticial que os nutrientes são encaminhados, depois de filtrados da corrente sanguínea capilar, para os tecidos adjacentes. A eliminação de produtos metabólicos ou de desperdícios teciduais segue o caminho inverso, ou seja, do líquido intersticial para a extremidade venosa dos capilares. Por conseguinte, o líquido intersticial é, na generalidade (embora variável com o tipo de tecido e sector corporal), composto por água, monossacáridos, ácidos gordos, aminoácidos, coenzimas, hormonas, neurotransmissores, além dos desperdícios celulares a serem eliminados do organismo.

### PRINCIPAIS FACTORES DETERMINANTES DA PERMUTA TRANSMEMBRANAR

As trocas de solutos através da parede capilar dependem de várias premissas, em que se destacam:

- Dimensão das partículas moleculares em cada lado da interface;

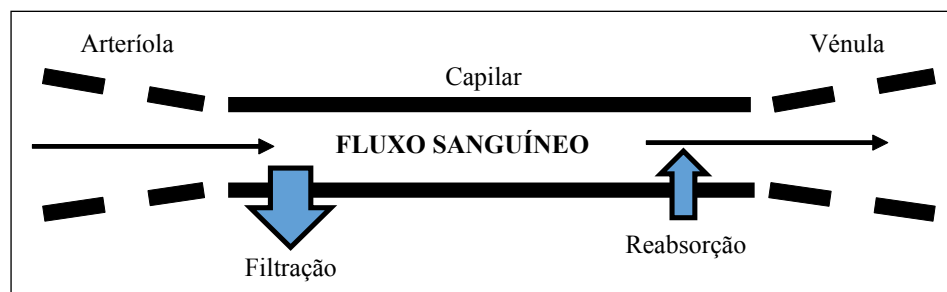


Figura 1. Filtração e reabsorção líquida transcápilar.

<sup>2</sup> A bipolaridade relativa entre o átomo de oxigénio e os dois átomos de hidrogénio de cada molécula de água favorece a sua associação com três outras moléculas, através da formação de ligações hidrogeniónicas. Deste modo, a água comporta-se como solvente de iões e moléculas polares (solutos), de que resulta a formação de soluções hidrofílicas. Pelo contrário, as moléculas orgânicas, sem polaridade e, portanto, sem capacidade de interagirem através de ligações hidrogeniónicas, são hidrofóbicas ou lipofílicas. As moléculas com parte polar e parte não-polar designam-se por anfipáticas. É o que sucede com os lípidos polares, que interagem com as soluções aquosas organizando-se sob a forma de bifolhetos lipídicos membranares, micelas ou quilomicra. As membranas e quilomicra incluem na sua composição algumas proteínas. A estrutura espacial assumida por estas proteínas reflecte a orientação das cadeias laterais hidrofílicas e hidrofóbicas dos respectivos aminoácidos, pelo qual os grupos hidrofílicos são dispostos em contacto com os grupos polares lipídicos, enquanto os hidrofóbicos se localizam nas proximidades de grupos não polares.

<sup>3</sup> O espaço intersticial (ou espaço extravascular) representa o intervalo entre as células de cada tecido e de tecidos adjacentes.

- Número (concentração) de partículas por unidade de volume da solução;
- Carga eléctrica e outras propriedades das partículas constituintes dos solutos;
- Valor e tipo de pressão exercida sobre a parede capilar de cada lado da interface.

Relativamente à dimensão, verifica-se que as permutas líquidas (água e solutos) entre o plasma e o líquido intersticial, muito activas, ocorrem em áreas limitadas da parede capilar, onde se localizam “poros” e espaços intercelulares (do endotélio capilar); dependem ainda dos gradientes de vários tipos de pressão que se exercem de cada lado da superfície capilar semipermeável<sup>4</sup>. A maior parte das trocas entre ambos os sectores ocorre por *difusão simples*<sup>5</sup> através daqueles espaços, desde que a dimensão das partículas dos solutos envolvidos tenha diâmetro inferior à dos poros e espaços inter-membranares. Justifica-se assim que os electrólitos e compostos de baixo peso molecular (p. ex., ureia e glicose) difundam sem grande dificuldade, em conjunto com a água, de um para outro sector transmembranar. Por seu lado, as proteínas plasmáticas, de maiores dimensões, permanecem quase em absoluto

no conteúdo microvascular, enquanto as partículas com carga eléctrica requerem mecanismos específicos de transporte. Por conseguinte, e devido às suas características restritivas que lhe são próprias, a parede capilar não é permeável aos glóbulos sanguíneos nem a macromoléculas proteicas, ao contrário dos restantes componentes plasmáticos, que podem facilmente fluir para o espaço intersticial pericapilar. Em contrapartida, as moléculas lípido-solúveis podem difundir em toda a extensão capilar.

Em termos práticos, a composição do filtrado proveniente do sangue capilar é idêntica à do plasma mas sem macromoléculas proteicas.

O fluxo transcapilar na permuta entre o conteúdo capilar e o líquido intersticial é determinado pela combinação de quatro forças (*forças de Starling*), subdivididas em dois grupos, o da pressão hidrostática e da pressão oncótica, que actuam no interior dos capilares e no espaço intersticial (Fig. 2).

A pressão hidrostática intravascular é gerada pela força sistólica cardíaca que comprime a corrente sanguínea contra a parede vascular; na microcirculação, atinge valores muito inferiores aos da sistémica (cerca de 35 mmHg na extremidade arteriolar e cerca de 15 mmHg na venosa), en-

<sup>4</sup> A membrana capilar é impermeável às proteínas de elevado peso molecular, enquanto a água e solutos de baixo peso molecular a atravessam sem dificuldade. No entanto, em alguns tecidos corporais, há alguma filtração proteica para o espaço intersticial.

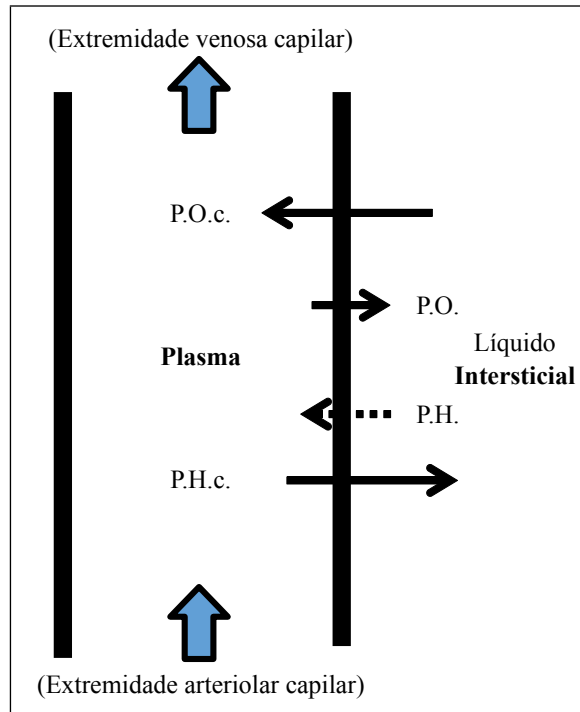
<sup>5</sup> A *difusão* consiste no movimento de moléculas em solução dos sectores em que existem em maior concentração para os de menor concentração, de modo a igualar os valores dos dois lados da interface semipermeável. A *osmose*, como fenómeno particular da difusão, restringe-se à direcção das moléculas de água do sector em que existem em maior concentração para a menor, ou seja, em que abundam solutos não difusíveis, tendendo deste modo a equilibrar a concentração das moléculas de água em ambos os lados da interface. Em consequência, o compartimento que contém moléculas não difusíveis aumenta de volume ao receber maior quantidade de água, ao mesmo tempo que a concentração do meio diminui, enquanto o compartimento donde a água provém tende para um menor volume e a ficar mais concentrado. A par do aumento de volume, resultante da entrada de água no compartimento com substâncias não difusíveis, há um progressivo acréscimo da pressão incidente no mesmo lado da membrana semipermeável até, na situação limite, impedir entrada de mais moléculas de água. Este ponto de equilíbrio que interrompe a osmose indica o valor da pressão osmótica da solução que contém substâncias não difusíveis. A *pressão osmótica*, que é proporcional ao número de partículas em solução, é expressa em *osmol*. Esta unidade indica o número total de partículas que existe na molécula-grama do soluto não-ionizável. Em solutos muito diluídos é preferível a expressão em *miliosmol* (1/1000 *osmol*); quando é referenciada a 1 litro de água, indica a *osmolaridade* da solução (*mOsm/L*), mas, quando se expressa em relação a 1 quilograma de água, traduz a respectiva *osmolalidade* *mOsm/Kg*.

quanto a pressão hidrostática intersticial é negativa (cerca de 0, 2mmHg).

A pressão oncótica (ou pressão osmótica coloidal) reflecte as propriedades próprias das soluções coloidais adquiridas pelas proteínas; ao comportarem-se como aniões, as proteínas atraem a si catiões (*efeito Donnan*), designadamente o  $\text{Na}^+$ , que fixam por ligações electrostáticas, aumentando deste modo o número de substâncias osmoticamente activas no compartimento em que se encontram.

Para que a electroneutralidade se mantenha, a passagem de catiões arrasta número equivalente de aniões do espaço intersticial, até ser atingido o ponto de equilíbrio entre ambos os espaços (*equilíbrio Donnan*). Nesta situação, o reequilíbrio traduz-se na perda de iões (aniões e catiões) do líquido intersticial para o plasma, pelo que a soma do de iões difusíveis e a concentração iónica total (incluindo as substâncias não difusíveis, em particular, as proteínas) são mais elevadas no plasma do que no espaço intersticial. Explica-se assim que a osmolaridade plasmática (285-295 mOsm/L) seja um pouco superior à do espaço intersticial (e também do intracelular), com influência directa nos valores da pressão osmótica coloidal (superior ao daqueles espaços) e, portanto, no fluxo osmótico (para o espaço intravascular).

Enquanto a pressão oncótica intravascular (cerca de 28 mmHg em toda a extensão capilar, determinada, sobretudo, pela albumina) atrai o fluxo líquido para o plasma, a pressão oncótica intersticial (entre 0,1 e 3 mmHg, respectivamente, a nível das extremidades arteriolar e venular) orienta a osmose no sentido inverso. Nestas condições, o sentido da varia-



P.O. – pressão osmótica; P.H. – pressão hidrostática; c – capilar; i – intersticial.

**Figura 2.** Orientação das quatro forças de Starling que determinam as trocas líquidas transcapsulares entre o plasma e o líquido intersticial.

ção do fluxo osmótico a nível das extremidades arterial e venosa de cada capilar recai na dependência final da pressão hidrostática intravascular.

## MODELOS DE FLUXO TRANSCAPILAR

A participação das pressões hidrostática e oncótica nas trocas líquidas através da membrana capilar foi elucidada pela *equação de Starling*:

$$J_v = K_f ([P_c - P_i] - \sigma[\pi_c - \pi_i])$$

em que,

$J$  expressa o fluxo real entre os compartimentos;

$K$  é o coeficiente de filtração;

$P_c$  é a pressão hidrostática capilar;

$P_i$  é a pressão hidrostática intersticial;

$\pi_c$  é a pressão oncótica plasmática;

$\pi_i$  é a pressão oncótica intersticial;

$\sigma$  é o coeficiente de reflexão/factor de correcção das proteínas plasmáticas que se escapam através da membrana

De acordo com a equação, de que resultou o modelo clássico de fluxo transcapilar,  $J$  indica que a filtração real é proporcional à força impulsora real. Quando o valor de  $J$  é positivo, o fluxo líquido sai do capilar (filtração) e, quando negativo, entra no capilar (absorção). Devido aos valores relativos indicados para a pressão hidrostática e oncótica, a força propulsora da filtração do capilar para o espaço intersticial é de +9mmHg, declinando ao longo do capilar até ser igual a -8mmHg na extremidade venular, portanto teoricamente favorável à reabsorção líquida a este nível. Adicionalmente, a difusão transmembranar<sup>6</sup> da água e solutos (*difusão simples*) é também proporcional à diferença de concentração em que estas substâncias existem de cada lado da parede capilar. Por conseguinte, desde que os gradientes de concentração e pressão no sector capilar sejam superiores aos do interstício, como sucede geralmente ao nível da extremidade arterial dos capilares, a água e os solutos de baixo peso molecular<sup>7</sup> tendem a sair des-

tes vasos, misturando-se com o líquido intersticial. A situação modifica-se à medida que o sangue flui para a extremidade venosa dos capilares, altura em que, devido a uma maior concentração e pressão do lado intersticial, grande parte do conteúdo líquido do espaço intersticial poderá difundir para o espaço intracapilar.

Porém, a percentagem de solução filtrada, assim com a que é reabsorvida, variam de tecido para tecido, devido, em parte às diferenças anatómicas e à da permeabilidade do sistema capilar às moléculas proteicas e outras grandes dimensões. Enquanto os capilares "contínuos" (p.ex., no músculo e cérebro) exibem baixo valor de coeficiente de filtração, nos capilares fenestrados (p.ex., em glândulas endócrinas e exócrinas, intestino e rim) sucede o inverso. O coeficiente de filtração no músculo e, também, no cérebro, com capilares do tipo contínuo, é muito reduzido, verificando-se o oposto no fígado, com membranas sinusóides de poros largos e facilmente permeáveis às proteínas plasmáticas. Nos tecidos em que a difusão transcapilar é diminuta (com capilares contínuos), o transporte recorre a moléculas transportadoras específicas, próprias dos sistemas de *difusão facilitada*<sup>8</sup>. Este tipo de sistemas evoluiu com cinética do tipo Michaelis-Menten, que prevê, entre outras variáveis, a saturação do transportador e a reversibilidade da combinação da

<sup>6</sup> Determinada pela equação de Fick para a difusão ( $J = D.A.\Delta C$ ), em que  $D$  é o coeficiente de difusão,  $A$  é a superfície semipermeável e  $\Delta C$  a diferença de concentrações entre os sectores separados pela membrana. Em condições fisiológicas e para uma dada área de membrana, o gradiente de concentração é o principal determinante do fluxo transmembranar, ainda que este seja afectado por diversos factores, designadamente, a solubilidade no bifolheto lipídico ou gradiente electroquímico e eléctrico, e dimensões das moléculas difusoras.

<sup>7</sup> Admitindo que o soluto é um composto iónico, p.ex., o cloreto de sódio (NaCl), considerado como uma molécula dissociável em dois iões,  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , verifica-se que 100 mmol/L da solução de NaCl correspondem à osmolaridade de 200mOsm/L; em contrapartida uma solução contendo 100mmol/L de molécula não ionizável tem 100 mOsm/L de osmolaridade, de que resulta um menor contributo para a pressão osmótica do que a de um composto ionizável.

<sup>8</sup> Ao contrário da difusão simples, explicada pela equação de Fick, a difusão facilitada obedece à cinética de Michaelis-Menten, que pressupõe uma combinação reversível entre moléculas transportadas e respectivos transportadores.

molécula transportada (p.ex. glicose) com o respectivo transportador, em contraste com a *difusão simples*, que dispensa transportadores. Nos capilares “descontínuos” (p.ex., na medula óssea, fígado e baço) há livre passagem de células, proteínas e quilomícra (além de moléculas mais pequenas) entre tecidos e plasma.

As interpretações fisiológicas anteriores admitiam que, durante no estado de equilíbrio, havia sempre recaptação líquida ao nível da extremidade venular dos capilares. Todavia, em determinados casos a pressão sanguínea venular continua a ser positiva, o que favorece a filtração para o espaço intersticial ao longo de todo o segmento capilar e não só no mais próximo da extremidade venular, a par com baixo valor de reabsorção. Estas discrepâncias, inexplicadas pelo modelo tradicional, justificaram uma nova interpretação.

A nova hipótese sugere que as trocas de solutos através do endotélio capilar sejam reguladas pelo glicocálice. Esta estrutura, de natureza glicoproteica, reveste a superfície luminal do endotélio em toda a extensão do aparelho circulatório, enquanto, na face oposta, permanece em contacto com o sangue. Está estabelecido que o glicocálice, pelo posicionamento relativo e enzimas que contém, exerce funções importantes, designadamente, ao assegurar a homeostasia do sangue e da parede vascular. Esta última função regularia a permeabilidade, além de proteger a parede contra aos efeitos adversos do fluxo sanguíneo (em particular na macrocirculação). Deste modo, o glicocálice, ao afectar a filtrabilidade de líquidos orgânicos do sangue para o espaço intersticial e a reabsorção em

sentido contrário, além de inibir a coagulação e adesão leucocitária, actuaria como uma barreira contra a permeabilidade transmembranar

O novo modelo defende que, a par do obstáculo criado pelo glicocálice, a filtração dos solutos do sangue para o espaço intersticial seria restringida a intervalos estreitos intercelulares (fendas paracelulares), por onde o fluxo, desprovido de proteínas, tem de passar a grande velocidade no sentido do espaço intersticial. Esta particularidade não impede que alguma albumina e outras proteínas do plasma fluam lentamente para o espaço intersticial (transportadas em vacúolos) através de poros existente na parede de muitos capilares. Devido a esta particularidade, a concentração das proteínas intersticiais pode chegar até 50 a 60% dos valores plasmáticos (como sucede no músculo e na pele), explicando-se a sua detecção na linfa periférica.

A grande velocidade em que decorre a filtração afastaria as proteínas intersticiais da parede membranar, de modo a que o valor local da pressão oncótica aproximar-se-ia do zero, ainda que com potenciais flutuações significativas e rápidas, dependentes da pressão hidrostática sanguínea, em toda a extensão do capilar. Sendo a pressão hidrostática mais elevada nas proximidades da extremidade arteriolar dos capilares do que perto da extremidade venular, o gradiente oncótico transmembranar variaria no mesmo sentido, favorecendo a filtração, ainda que a valores mais atenuados e de modo menos definido do que no modelo clássico. Ou seja, em condições normais, a reabsorção do interstício para o plasma seria muito inferior do que o estabelecido ante-

riormente, originando valores muito mais elevados da produção de linfa. Ainda que este comportamento varie de tecido para tecido, a filtração e a reabsorção transcápsular interrelacionam-se como que num sistema fechado que contribui para a estabilidade relativa do conjunto.

Em determinados sectores mais especializados (p.ex., nos nefrónios) a difusão e reabsorção capilares permanecem em equilíbrio, fundamental para o tipo de funções exercidas. Isoladamente, porém, os glomérulos evidenciam filtração sustentada, enquanto nos túbulos renais convulsionados há constante reabsorção, assegurada pela existência de líquido intersticial independente da filtração capilar. Pelo contrário, em alguns tecidos, como o músculo e a pele, que possuem acentuada vasomotilidade arteriolar, há variações constantes nesse equilíbrio, com predomínio relativo ora da filtração ora da reabsorção, devido a sucessivas modificações da vasomotilidade arteriolar.

### ALTERAÇÃO DA OSMOLARIDADE RELATIVA

A osmolaridade dos compartimentos intra- e extracelular pode ser alterada por perdas de água e ou electrólitos, ou, em sentido contrário, pelo acréscimo de quantidades relevantes de água ou soluções electrolíticas. Porém, o reequilíbrio osmótico (por número equivalente de partículas com propriedades osmóticas) tende a verificar-se com alguma brevidade, à

custa de troca transmembranar entre compartimentos adjacentes. Igualmente, se a pressão funcional capilar aumentar e não houver alterações nos restantes componentes, acentua-se a filtração do líquido plasmático para o espaço intersticial; a menos que seja drenado pelo sistema linfático, haverá retenção líquida intersticial e subsequente formação de edema. Pelo contrário, se a pressão funcional diminuir, a reabsorção líquida prevalecerá sobre a filtração, conduzindo ao aumento do volume plasmático à custa da reabsorção intersticial.

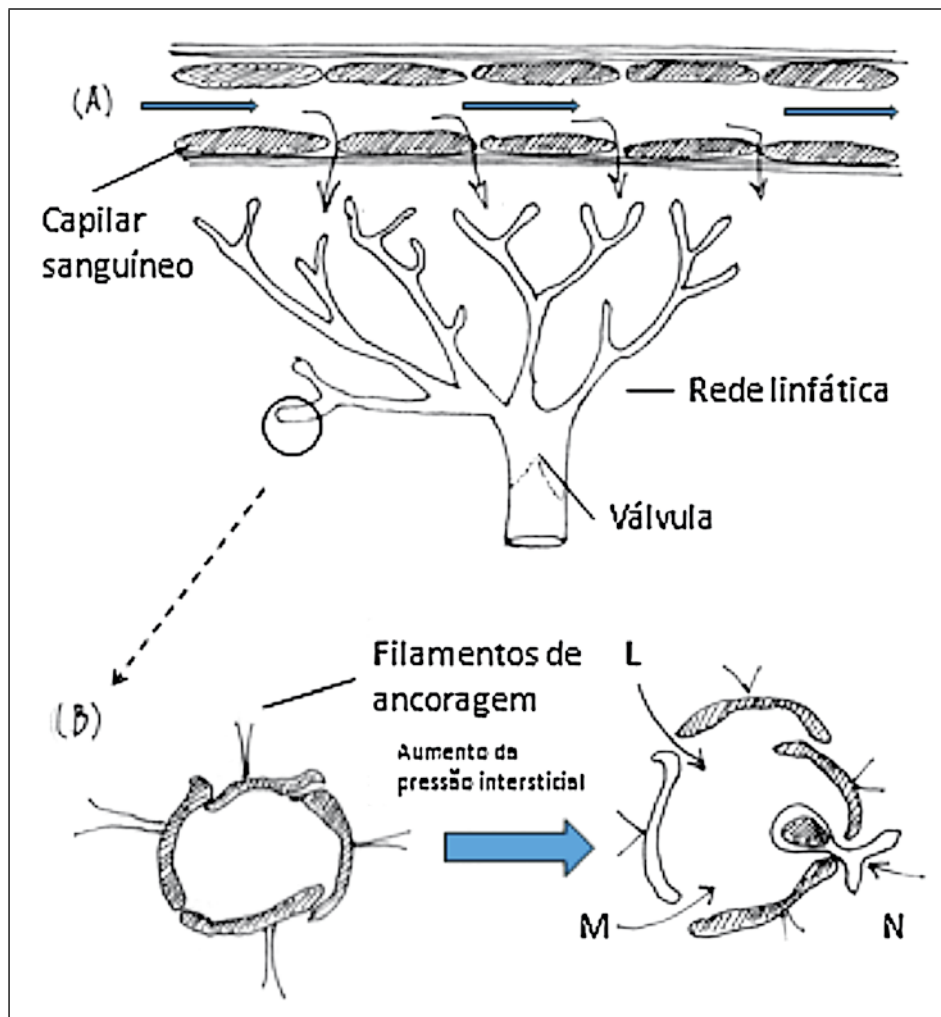
A par do gradiente (plasmático e intersticial) das pressões hidrostática e oncótica e das diferenças de permeabilidade membranar às soluções aquosas, há a considerar que os volumes relativos de plasma e líquido intersticial são também afectados pela tensão tecidual e pela capacidade de drenagem linfática.

### SISTEMA LINFÁTICO

A função mais importante do sistema linfático consiste em drenar o excesso de linfa que tende a acumular-se em virtualmente todos os tecidos periféricos para o lúmen dos capilares linfáticos<sup>9</sup> (ou colectores linfáticos iniciais, semelhantes aos capilares sanguíneos) aí existentes (Fig. 3). Em condições normais, o líquido intersticial é continuamente removido para estes colectores linfáticos, momento em que passa a designar-se por linfa. No total, cerca de sete litros de água e suspensões macromoleculares

<sup>9</sup> Os capilares linfáticos, fechados na extremidade inicial e com 10 a 60 µm de diâmetro, são constituídos por uma camada achatada e não fenestrada de células endoteliais, revestida por uma membrana basal, descontínua ou ausente. Os colectores linfáticos que lhes dão continuidade contêm uma camada de músculo liso na face externa e válvulas unidireccionais internas. Estes vasos colectores classificam-se em dois tipos, os pré-ganglionares ou aferentes e os pós-ganglionares, ou eferentes, que convergem, por sua vez em troncos e, estes, em ductos linfáticos, com estrutura relativamente semelhante mas de diâmetro superior.





**Figura 3.** (A) Filtração de um capilar sanguíneo para o espaço intersticial; o líquido em excesso (L), macromoléculas (M) e neutrófilos (N) são subsequentemente removidos por uma rede adjacente de capilares linfáticos. (B) Capilar linfático, em corte transversal, em que é evidente o lúmen irregular, delimitado por células endoteliais que tendem a sobrepor-se entre si nos pontos de contacto e estão conectadas por filamentos elásticos com a matriz extracelular envolvente; ao contrário dos capilares sanguíneos, os linfáticos não possuem membrana basal; quando a pressão intersticial aumenta, aqueles filamentos tendem a repuxar as células endoteliais, causando a abertura de espaços intercelulares, de modo a dar passagem ao excesso de solução não reabsorvida e de células a eliminar do espaço intersticial pelo sistema linfático. As válvulas existentes ao longo da vasculatura linfática (excepto nos capilares) impede, em condições normais, o retorno da linfa.

transformam-se em linfa, removida diariamente pelo sistema linfático.

A composição da linfa é semelhante à do plasma sanguíneo e à do líquido intersticial. Na generalidade e em condições normais, a linfa é formada a partir do líquido intersticial, a que acrescem alguns linfócitos. Devido a esta composição, a linfa apresenta um aspecto transparente. Po-

rém, a linfa que provém do intestino delgado após a formação do quilo, devido à grande concentração de triglicéridos aí absorvidos, evidencia um aspecto leitoso característico. A linfa proveniente dos gânglios linfáticos é mais rica em linfócitos e proteínas do que a derivada do líquido intersticial.

Através do sistema linfático, a linfa é impulsionada ao longo dos vasos

linfáticos por diversas forças, tais como: contracções do músculo liso próprio e dos músculos esqueléticos em actividade no seu trajecto, pulsação arterial e vasomotricidade arteriolar, além de forças sistémicas, tais como a pressão arterial, respiração, exercício físico e massagem. A presença das válvulas unidireccionais nos vasos linfáticos impede o retorno da linfa, deste modo direccionada para a circulação sanguínea, através de derivações vasculares da veia cava inferior (subclávias direita e esquerda). Através deste circuito, as proteínas e o excesso de líquido intersticial removido da microcirculação são devolvidos à composição sanguínea.

A formação da linfa tem sido explicada por dois mecanismos principais, o da pressão hidrostática e o da pressão oncótica. O primeiro dos mecanismos baseia-se em diferenças transitórias de pressão hidrostática entre o espaço intersticial o lúmen do canalículo linfático inicial (que remove a linfa para o sistema linfático); o facto de a pressão intersticial ser habitualmente negativa ou quase zero, enquanto a dos canais linfáticos é positiva, representa um relevante obstáculo à sua aceitação; esta hipótese é, em parte, contrariada pela demonstração de resultados compatíveis com fluxos transitórios de linfa e gradientes de pressão favoráveis nos respectivos canais.

O mecanismo proposto seria, ainda, dependente de duas premissas: uma consistiria em ciclos de contracção-relaxamento das paredes canaliculares e dos músculos esqueléticos atravessados, sendo a outra a da actuação de válvulas unidireccionais ao longo das vias linfáticas iniciais ou colectoras. Por conseguinte,

a linfa poderia entrar nos colectores iniciais durante a fase de expansão/relaxamento, sendo o seu retrocesso impedido na fase de contracção/compressão pelas válvulas existentes no trajecto. O segundo mecanismo, igualmente inconclusivo, baseia-se na capacidade de os linfáticos aumentarem a concentração proteica no lúmen dos colectores iniciais durante a contracção/compressão, provocando a atracção da fase líquida intersticial para o interior dos vasos linfáticos no período de relaxamento/descompressão, com a subsequente formação da linfa.

#### **ANOMALIAS DO EQUILÍBRIO FILTRAÇÃO/REABSORÇÃO TRANSCAPILAR**

Deficiências congénitas ou adquiridas que obstruam a remoção e ou o transporte da linfa pelo sistema linfático, ocasionam a sua acumulação nos tecidos, com a subsequente formação de edemas linfáticos periféricos, ou *linfedemas*.

Entre as situações mais comuns destacam-se as consequências induzidas por ortostatismo, imobilidade, hipoproteïnemia, infecção, traumatismo, cirurgia, transplantação, medicação ou doença venosa. Em qualquer dos casos há uma explicação relativamente comum. Por exemplo, no ortostatismo, sobressa o efeito produzido pela gravidade na circulação venosa e linfática, de que resulta um aumento da pressão capilar nos sectores corporais em maior declive, designadamente, nos pés e pernas. O aumento da pressão hidrostática faz com que a albumina se escape pelos poros dos capilares para o interstício,

o que acarreta dois efeitos: redução da pressão oncótica intracapilar com subsequente aumento da filtração e retardamento da remoção local da linfa, ambos conduzindo ao aumento pressão hidrostática intersticial e formação transitória de edema nos setores a jusante. Numa outra situação frequente, a de hipoproteinemia (p. ex., por síndrome nefrótico ou desnutrição proteica acentuada), o desarranjo incide primariamente numa acentuada diminuição da pressão oncótica plasmática. Em consequência, aumenta a filtração líquida dos capilares para o espaço intersticial, com a formação de edema local.

## BIBLIOGRAFIA

- Aukland K, Reed RK. Interstitial-lymphatic mechanisms in the control of extracellular fluid volume. *Physiol Rev.* 1993;73:1-78.
- Dixon JB. Lymphatic lipid transport: sewer or subway? *Trends Endocrinol Metab.* 2010;21:480-7.
- Dongaonkar RM, Laine GA, Stewart RH, Quick CM. Balance point characterization of interstitial fluid volume regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009; 297:R6-16.
- Hong YK, Shin JW, Detmar M. Development of the lymphatic vascular system: a mystery unravels. *Dev Dyn.* 2004;231:462-73.
- Jones D, Min W. An overview of lymphatic vessels and their emerging role in cardiovascular disease. *J Cardiovasc Dis Res.* 2011;2:141-52.
- Landis EM. Recent studies on capillary permeability. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 1948;60: 161-7.
- Margaris KN, Black RA. Modelling the lymphatic system: challenges and opportunities. *J R Soc Interface.* 2012;9:601-12.
- Martins e Silva J. Água e compartimentos corporais. *O Médico* 1981; 98:265-74,343-50, 385-95,448-56, 512-21.
- Pappenheimer JR, Soto-Rivera A. Effective osmotic pressure of the plasma proteins and other quantities associated with the capillary circulation in the hindlimbs of cats and dogs. *Am J Physiol.* 1948; 152:471-91.
- Swartz MA. The physiology of the lymphatic system. *Adv Drug Del Rev.* 2001; 50: 3-20
- Taylor AE, Granger DN. Exchange of macromolecules across the microcirculation. In: "Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. Microcirculation", Volume IV. Bethesda: Amer Physiol Soc, 1984, pp. 467-520.
- Wang Y, Oliver G. Current views on the function of the lymphatic vasculature in health and disease. *Genes Dev.* 2010 Oct 1; 24:2115-26.
- Waterhouse J, Sawdon M, Kirkman E. Capillary dynamics and the interstitial fluid-lymphatic system. *Anaesth Int Care Med.* 2009;11:69-74.
- Waterhouse J, Farmery A. Osmolarity and partitioning of fluids. *Anaesth Int Care Med.*2012; 13: 573-5.
- Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng.* 2007; 9:121-67.
- Zawieja D. Lymphatic biology and the microcirculation: past, present and future. *Microcirculation.* 2005;12: 141-50.

## THE INFLUENCE OF OXYGEN SUPPLY, HEMORHEOLOGY AND MICROCIRCULATION IN THE HEART AND VASCULAR SYSTEMS

Cicco G, Cicco S.<sup>1</sup>

### Abstract

The microcirculation is an important system, containing resistance arterioles, capillaries and venules, whose main function is to transport oxygen and nutrients to the tissues. Endothelial cells are the main cell types of the microcirculation; their homeostasis is modulated by constant shear stress. Altered hemorheology induces a change in the production of vasodilator and vasoconstrictor agents. The most important pattern inducing endothelium dysfunction is an increase in oxidative stress, which decreases the amount of nitric oxide and favors microvascular phlogosis. In this review we will consider the main scientific reports about the cardiovascular risk factors such as smoking, hypercholesterolemia, hyperviscosity, hypertension, diabetes, stress and increased homocysteine levels, all having as common etiopathogenetic

factor alterations in microcirculation and in tissue oxygenation. We also focus on their influence on endothelial cells, inducing endothelial changes and dysfunction related to altered oxygen supply and linked to increased oxidative stress. Also important are endothelial stem cells, that are able to repair vascular endothelial damage, especially in cardiovascular patients, with or without endothelial dysfunction. Under these circumstances the numbers of these stem cells are altered, which means there is a decrease in regeneration capability (post ischaemia modified albumin, etc.). This could be an important negative prognostic factor. Microcirculation and tissue oxygenation are very important factors strongly linked to hemorheology, especially in cardiovascular patients, and their alterations could cause impairment, or initiate cardiovascular pathologies. [**Adv Exp Med Biol.** 2010;662:33-9]PMID: 20204768

---

<sup>1</sup> Interdepartmental Center of Research on Hemorheology, Microcirculation, Oxygen Transport and Non Invasive Optical Technologies, Università degli studi di Bari Aldo Moro, Policlinico, Piazza G. Cesare, 11 70124, Bari, Italy. gcicco.emo@tiscali.it

## **RELATION BETWEEN PLAQUE TYPE, PLAQUE THICKNESS, BLOOD SHEAR STRESS, AND PLAQUE STRESS IN CORONARY ARTERIES ASSESSED BY X-RAY ANGIOGRAPHY AND INTRAVASCULAR ULTRASOUND**

Balocco S, Gatta C, Alberti M, Carrillo X, Rigla J, Radeva P.<sup>1</sup>

### **Abstract**

Atheromatic plaque progression is affected, among others phenomena, by biomechanical, biochemical, and physiological factors. In this paper, the authors introduce a novel framework able to provide both morphological (vessel radius, plaque thickness, and type) and biomechanical (wall shear stress and Von Mises stress) indices of coronary arteries.

First, the approach reconstructs the three-dimensional morphology of the vessel from intravascular ultrasound (IVUS) and Angiographic sequences, requiring minimal user interaction. Then, a computational pipeline allows to automatically assess fluid-dynamic and mechanical indices. Ten coronary arteries are analyzed illustrating the capabilities of the tool and confirming previous technical and clinical observations.

The relations between the arterial indices obtained by IVUS mea-

surement and simulations have been quantitatively analyzed along the whole surface of the artery, extending the analysis of the coronary arteries shown in previous state of the art studies. Additionally, for the first time in the literature, the framework allows the computation of the membrane stresses using a simplified mechanical model of the arterial wall.

Circumferentially (within a given frame), statistical analysis shows an inverse relation between the wall shear stress and the plaque thickness. At the global level (comparing a frame within the entire vessel), it is observed that heavy plaque accumulations are in general calcified and are located in the areas of the vessel having high wall shear stress. Finally, in their experiments the inverse proportionality between fluid and structural stresses is observed. [Med Phys. 2012;39:7430-45] PMID: 23231293

---

<sup>1</sup> Department Matemàtica Aplicada i Anàlisi, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. balocco.simone@gmail.com

## PULSATILE HEMODYNAMICS AND MICROCIRCULATION: EVIDENCE FOR A CLOSE RELATIONSHIP IN HYPERTENSIVE PATIENTS

Muiesan ML, Salvetti M, Rizzoni D, Paini A, Agabiti-Rosei C, Aggiusti C, Bertacchini F, Stassaldi D, Gavazzi A, Porteri E, De Ciuceis C, Agabiti-Rosei E.<sup>1</sup>

### Abstract

The possible relationships between indicators of small resistance artery structure and of arterial stiffness and central hemodynamics have not yet been evaluated. Aim of this study was to assess the relationship between indicators of large arteries stiffness, including carotido-femoral pulse wave velocity and of vascular alterations in small resistance arteries (media/lumen ratio, M/L) in patients with primary and secondary hypertension. In 73 patients (mean age, 53±14 years, 34 females, 25 with type 2 diabetes mellitus, 18 never treated) with essential (n=37) and secondary (n=36) hypertension, carotido-femoral pulse wave velocity was measured. In all patients, small resistance arteries were dissected from subcutaneous fat biopsies and mounted on an isometric myograph, for the measurement of the M/L. Pulse wave analysis was performed

in 67 patients. M/L ratio was significantly related to brachial systolic blood pressure and pulse pressure (r=0.36 and 0.31, P<0.001, respectively) and to central systolic and pulse pressure (r=0.44 and 0.42, P<0.001, respectively). A positive correlation was observed between M/L ratio and carotido-femoral pulse wave velocity (r=0.45; P<0.001); this correlation remained statistically significant after adjustment for age and mean blood pressure. M/L ratio was also associated to aortic augmentation index (r=0.33; P=0.008), and this correlations remained statistically significant after adjustment for potential confounders. In hypertensive patients, the presence of structural alterations of small resistance arteries may be associated with the increase in large arteries stiffness and possibly contribute to an increase in central pressure by increasing the magnitude of wave reflections. [**Hypertension. 2013;61:130-6**] PMID: 23150518.

---

<sup>1</sup> Clinica Medica, Department of Medical and Surgical Sciences, University of Brescia, Brescia, Italy. muiesan@med.unibs.it.



**17TH CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY  
FOR CLINICAL HEMORHEOLOGY  
AND MICROCIRCULATION (ESCHM)**

July 6-9 2013, Pecs, Hungary  
Convention Budapest Ltd.

**Mailing Address:** H-1461 Budapest, P.O.Box.11,

**Office Address:** H-1097 Budapest, Tóth Kálmán u. 33/b., VI.5-6.

**Phone:** +36 1 299 0184

+36 1 299 0185

**Fax:** +36 1 299 0187

**E-mail:** [tbokker@convention.hu](mailto:tbokker@convention.hu); [convention@convention.hu](mailto:convention@convention.hu)

[www.convention.hu](http://www.convention.hu); [www.eschm2013.hu](http://www.eschm2013.hu)

---

**15TH INTERNATIONAL CONGRESS OF BIORHEOLOGY  
AND 8TH INTERNATIONAL CONFERENCE  
ON CLINICAL HEMORHEOLOGY**

June 2015, Seoul, Korea

### CONVITE

A Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação (SPHM) aceita para publicação no seu BOLETIM artigos de curta extensão. O Boletim é editado quatro vezes por ano em formato de papel e electrónico (www.hemorreologia.com), sendo distribuído gratuitamente a individualidades e instituições científicas e culturais.

### 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 óptica (*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 (carlotasaldanha@fm.ul.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 respectivas 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 directamente 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 respectivas legendas), agradecimentos e até 60 referências bibliográficas).

### INVITATION

The Portuguese Society on Hemorrheology and Microcirculation (Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, SPHM) is pleased to welcome short papers for publication in its BOLETIM. This publication, in paper and online (www.hemorreologia.com), is distributed four times a year free of charge to the members of the Society.

### 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 optic version (*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 (carlotasaldanha@fm.ul.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)





**CIÊNCIA&VIDA**  
P U B L I C A Ç Õ E S

**29 ANOS**

**A PUBLICAR O QUE A CIÊNCIA NOS DITA**

Centro Empresarial de Famões, Fracção BO 1685 - 253 Famões  
Tel. 21 478 78 50 Fax 21 478 78 59 E-mail: [pubcienciaevida@sapo.pt](mailto:pubcienciaevida@sapo.pt)