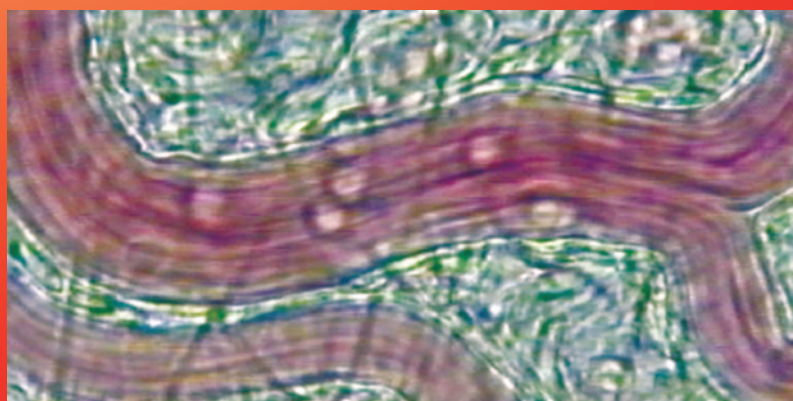




publicação trimestral
Outubro/Novembro/Dezembro
vol. 28 n.º 4 2013

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: 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 4 Outubro, Novembro, Dezembro 2013

Sumário / Summary

NOTA DE ABERTURA/EDITORIAL

- Viscosidade plasmática 3
- Plasma viscosity
Carlota Saldanha

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW ARTICLE

- Theoretical and experimental approaches to study mechanical properties of blood 5
- Perspectivas teóricas e experimentais no estudo das propriedades mecânicas do sangue
N. Antonova

SÉRIE TEMÁTICA SOBRE HEMORREOLOGIA E MICROCIRCULAÇÃO

- Tema 8-Hemorreologia:Fluxo sanguíneo 13
J. Martins e Silva

ACTUALIZAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS/ARCHIVE

- Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome 20
- The apc treatment improves microcirculation in severe sepsis/septic shock syndrome 21
- Cardiovascular benefits of phlebotomy: relationship to changes in hemorheological variables 22

NOTICIÁRIO/NEWS AND INFORMATION

- Galardoados com a Bolsa de Investigação SPHM/SPACV 24
- Prémio Nobel de Medicina/2013 27
- Agradecimentos da SPHM pelos apoios recebidos 28
- Errata 28

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. ^a 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. ^a 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. ^a Ana Santos Silva Herdade	<i>1.º Secretário Suplente</i> Dr. Miguel Frederico Leal Galvão	Comissão de Delegados / Committee of Delegates <i>Delegado da Região Norte</i> – Dr. Manuel Campos
<i>Secretários-Adjuntos</i> Prof. ^a 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 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 (Portugal)	A.M. Ehrly (Alemanha)	Ana Pinheiro Sá (Portugal)
Axel Pries (Alemanha)	Carlos Ribeiro (Portugal)	Ana Santos Silva Herdade (Portugal)
David Lominadze (Estados Unidos)	Gregorio Caimi (Itália)	Catarina Espirito Santo (Portugal)
Fernando Lacerda Nobre (Portugal)	Helbert J. Meiselman (Estados Unidos)	Cátia Albino (Portugal)
Friedrich Hung (Alemanha)	Helmut Drexler (Alemanha)	Elisabete Bento Guerreiro (Portugal)
J B Nogueira (Portugal)	Jean-François Stoltz (França)	Elisio Costa (Portugal)
J. Martins e Silva (Portugal)	John Edward Tooke (G. Bretanha)	Filipe Filipe (Portugal)
J.F. Brun (França)	John A. Dormandy (G. Bretanha)	Filipe Palavra (Portugal)
J. Fernandes e Fernandes (Portugal)	J. Silva Carvalho (Portugal)	José Sereno (Portugal)
J. Rafael Ferreira (Portugal)	J.M. Toscano Rico (Portugal)	Jorge Lima (Portugal)
João Morais (Portugal)	L.Teixeira Diniz (Portugal)	Henrique Sobral do Rosário (G. Bretanha)
José M. Ferro (Portugal)	Michel R. Boisseau (França)	Luís Belo (Portugal)
Manuel Carrageta (Portugal)	Polibio Serra e Silva (Portugal)	Magda Terenas (Portugal)
Mário Andreia (Portugal)	Sandro Forconi (Itália)	Milton Camacho (Portugal)
Nadia Antonova (Bulgária)	Yukihide Isogai (Japão)	Nino Muradashvili (Estados Unidos)
Ricardo Seabra Gomes (Portugal)		Patrícia Napoleão (Portugal)

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.^a Doutora Carlota Saldanha, Faculdade de Medicina de Lisboa; Unidade de Biopatologia Vasculuar, 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

VISCOSIDADE PLASMÁTICA

Revedo as notas de abertura do BSPH, desde 2007 e até ao presente, verifiquei que nenhuma teve como foco a viscosidade plasmática e a sua relevância clínica, ou associação com a inflamação ou microcirculação, entre outras. Sem pretensão de ser exaustiva e apenas como mensagem, irei anotar resultados de alguns dos trabalhos relacionados e publicados.

Se nos lembramos que o valor do hematócrito na microcirculação a nível dos capilares é inferior 21% relativamente ao sistémico, a viscosidade plasmática, para além da deformabilidade e agregação eritrocitária, assume contributo positivo e determinante na reologia do fluxo sanguíneo.

Nos microvasos, a viscosidade plasmática é influenciada pelas proteínas de fase aguda e outras, resultantes da resposta inflamatória ou provenientes de danos ocorridos nos tecidos corporais. Pode acontecer que o aumento da concentração de proteínas no plasma não corresponda a aumento da viscosidade plasmática. Assim, é de ressaltar que a concentração, o grau de rigidez e as dimensões das proteínas são características principais na influência do valor da viscosidade plasmática.

Quando, “in vivo”, se observa a microcirculação sublingual em doentes com sépsis severa ou choque séptico, verifica-se que há sectores de fluxo parado a par de outros de perfusão normal. Para esta classe de doentes estão descritos valores elevados de

concentração de fibrinogénio, de agregação eritrocitária e viscosidade plasmática, mas valores inferiores aos normais para a viscosidade sanguínea, hematócrito e agregação plaquetária. O balanço entre estes factores pode explicar a diversidade de velocidade de fluxo sanguíneo ocorrido na microcirculação sublingual. Assim, a um aumento de viscosidade plasmática corresponderá uma deficiente oxigenação, perfusão e estase. A crescente adesão das plaquetas ao endotélio vascular é considerada, por alguns, como o factor preponderante e preocupante de um desfecho fatal da falência multi-orgão nestes doentes.

Em doentes com macroglobulinemia de Waldenström a fundoscopia revelou alterações estruturais específicas e características de síndrome de hiperviscosidade, enquanto a angiografia com fluoresceína mostrou alterações na microcirculação. Os valores da viscosidade plasmática e os de IgM eram superiores aos referenciados como normal.

Nestes doentes, a microcirculação retiniana e o valor da viscosidade plasmática foram restabelecidos após sucessivas substituições de plasma e continuação da terapêutica pré definida. Os autores concluíram que a manutenção de valores normais de viscosidade plasmática é determinante para o funcionamento adequado da microcirculação retiniana e da função visual. A hemodiluição tem como objectivo trazer benefícios fisiológicos

mas, em situações extremas de utilização de expansores plasmáticos, reduz a oxigenação tecidual.

No entanto, em idosos normais, a oscilação nos valores da viscosidade plasmática não cria problemas na microcirculação, como foi demonstrado após submissão de voluntários dessa faixa etária e hipovolemias controladas. O estudo demonstrou que o influxo de fluido intravascular contribui para a recuperação da hipovolemia moderada eliminando necessidade de aporte externo de plasma. Quando crescem ao envelhecimento doenças do foro cardiovascular ou cerebral, os parâmetros hemorreológicos estão alterados (e a viscosidade plasmática) não é exceção, mas estão associados à progressão da doença e não ao envelhecimento. Apesar de parecer controverso há que ter em conta o ritmo de síntese, degradação, glicação proteica e inflamação subclínica de baixo grau que ocorrem no envelhecimento. O exercício físico favorece a diminuição da concentração plasmática do fibrinogénio e normaliza a viscosidade plasmática (por expansão do plasma pelo efeito do exercício regular).

Doentes submetidos a quimioterapia apresentam valor aumentado da viscosidade plasmática quando se instalam episódios de neutropenia febril, decorrente de danos infecciosos no endotélio vascular. Neste estudo, permanecem dentro dos valores

normais os factores influentes na viscosidade plasmática, nomeadamente a proteína C reactiva, a velocidade de sedimentação e o fibrinogénio. Sugere-se que a disfunção endotelial propicia a adesão de plaquetas e que a resposta imune medeia alterações do fluxo na microcirculação, com repercussão no aumento da viscosidade plasmática durante os episódios de neutropenia febril.

A viscosidade plasmática foi evidenciada como um biomarcador que diferencia demência vascular da doença de Alzheimer apresentando valores superiores nos doentes afectados com demência vascular.

Mais anotações havia; e o que concluir? Devemos ou não valorizar a viscosidade plasmática?

Desejo a todos os sócios e amigos da SPHM que o novo ano traga mais conhecimento

Carlota Saldanha
Presidente da SPHM

REFERÊNCIAS

- Clinic Hemorrh Microc. 1992;12:725-731
- Anesthesia. 2001; 56:103-107
- Clinic Hemorrh Microc. 2004; 30:107-115
- Respirology. 2007; 12: 267-271
- Clinic Hemorrh Microc. 2008; 39: 243-246
- The Sci World J. 2013, Article ID 507270. 5pages doi.org/10.1555/2013/507270
- J Geriatr Cardiol. 2013;10:291-301

THEORETICAL AND EXPERIMENTAL APPROACHES TO STUDY MECHANICAL PROPERTIES OF BLOOD

N. Antonova¹

ABSTRACT

A great variety of instruments, methods and models to study hemorheological parameters under conditions close to physiological are currently used. An overview of the factors, determining hemorheological properties and models, describing the relationship between shear stresses, shear rate, viscosity and hematocrit is presented. Time dependent properties – blood thixotropy and viscoelasticity and the influence of the inner structure on the blood flow has been described. A method, based on dielectric properties of dispersed systems in Couette viscometric blood flow, previously described^{1,2} and applied to investigate the kinetics of RBC aggregation has been presented. The experimental relationships show that the human blood conductivity is time, shear rate and hematocrit dependent under steady and transient flow conditions. The results show that valuable information could be received about the mechanical properties of blood, in particular about the kinetics of “rouleaux formation” and that this technique may be used to clarify the mechanism of

dynamics of RBC aggregates. Thus a method, based on dielectric properties of dispersed systems in Couette viscometric blood flow could be applied to investigate the kinetics of RBC aggregation.

Keywords: Blood models, new instrument, electrorheological method

1. FACTORS, DETERMINING HEMORHEOLOGICAL PROPERTIES

Plasma viscosity, blood viscosity, RBC deformability and RBC aggregation are the main factors, determining hemorheological properties. The RBC aggregation is a fundamental parameter determining rheological properties of blood. This is dynamic phenomena observed *in vitro* and *in vivo* and responsible for increasing blood viscosity at low shear rates. Changing of these factors influences the circulation in various blood vessels and microvessels through their participation in the pathophysiology of atherosclerosis, promotion thrombogenesis and complexity of pathogenesis of various vascular diseases.

¹ Department of Biomechanics, Institute of Mechanics, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., Bl.4, 1113 Sofia, Bulgaria, antonova@imbm.bas.bg

Viscosity of fluids is a property, which appears from the kinetic theory of fluids. When monitoring, the mean effect involving a large number of hypothetical fluid particles, the adjacent fluid layers slide on one another and that slipping is opposed by friction. The magnitude of this friction is dependent on the fluid constitution which is from the macroscopic point of view described by a flow property called viscosity. The apparent viscosity of Non-Newtonian fluids such as blood, as determined under steady flow conditions, depends on the shear rate, hematocrit, temperature etc. In addition to this under non-steady and oscillating flow conditions, this parameter is further influenced by the frequency and amplitude of the measurement system. To analyse their influence, several mathematical models are developed.

1.1. Relationship between shear stresses and shear rate

The blood flow is well known for its complex rheological behaviour. The non-Newtonian features, such as shear thinning and viscoelasticity of blood, have been widely observed – Chien et al, 1970³; Thurston, 1979⁴, which are closely relevant to the deformation and the aggregation of red blood cells in the blood.

The relationship between the shear stress and the shear rate must be determined experimentally. To be most useful, this relationship must be expressed as a mathematical equation. Some such equations are the result of curve-fitting experimental data, while others are based on a model of

the fluid. Some useful empirical relationships are given here:

$$(1) \quad \tau = \eta \cdot \dot{\gamma}$$

where τ is the shear stress [mPa], η – dynamic viscosity, [mPa.s], $\dot{\gamma}$ is the shear rate [s^{-1}]. For Newtonian fluids $\eta = \text{const}$; for Non-Newtonian fluids such as blood $\eta = \eta(\dot{\gamma})$

Ostwald-de-Waele's equation:

$$(2) \quad \tau = k \cdot \dot{\gamma}^n$$

where τ is the shear stress [mPa], $\dot{\gamma}$ is the shear rate [s^{-1}], k and n are parameters

Herschel-Bulkley's equation:

$$(3) \quad \tau = \tau_0 + a \cdot \dot{\gamma}^m$$

where τ is the shear stress [mPa], τ_0 – is the yield stress, [mPa], $\dot{\gamma}$ is the shear rate [s^{-1}], a and m are parameters.

Casson's equation:

$$(4) \quad \tau^{0.5} = \tau_0^{0.5} + \mu_c^{0.5} \cdot \dot{\gamma}^{0.5}, \text{ for } \tau \geq \tau_0 \\ \dot{\gamma} = 0, \text{ for } \tau \leq \tau_0$$

where τ is the shear stress [mPa], τ_0 – is the yield stress of the order of 5 mPa, μ_c is a constant, $\dot{\gamma}$ is the shear rate [s^{-1}]. There is a critical hematocrit value H , ranging from 1,3 to 6,5%, below which there is no yield stress.

1.2. Effect of hematocrit (relative cell volume fraction) on viscosity

Einstein established the equation for the viscosity of suspensions of solid particles in terms of viscosity of

continuous phase and fraction of particles given as,

$$(5) \quad \eta_s = \eta_p + \eta_p KH = \eta_p(1+KH)$$

Where η_s is the viscosity of suspension, the shape factor K for spherical particles and dilute suspension is equal to 2.5, H is volume concentration of particles.

Whittington and Harkness's equation is derived from (5)

$$(6) \quad \frac{\eta}{\eta_0} = \left\{ \frac{A}{(1 - \log \gamma / \log \gamma_c) \beta} \right\} \varphi$$

Where η_0 is the blood plasma viscosity, γ is the shear rate, γ_c is the critical shear rate, β is shear sensitive constant, $\dot{\gamma}$ is shear rate [s^{-1}], φ is the relative cell volume or hematocrit.

Cokelet's equation for RBC suspensions is:

$$(7) \quad \frac{\eta_s}{\eta_p} = \frac{1}{(1-H)^{2.5}}$$

where η_s is the RBC suspensions viscosity, η_p is the viscosity of the continuous phase or the plasma, H is the relative cell volume or hematocrit.

2. VISCOMETRY

The rheological properties of fluids are measured in viscometers specially designed so that only one velocity component exists and does not vary in the direction of flow. In addition, except for tube viscometers, the fluid space in the viscometer is small enough so that all of the fluid is subjected to approximately the same shear rate. The rheological properties

of a fluid may be divided into two classes: time independent in almost all *in vivo* and *in vitro* flows and time-independent rheological properties.

2.1. Capillary viscometers – Flow of Poiseuille

The solutions of the equations of motion provide in the case of Poiseuille flow the fluid viscosity. For a Newtonian fluid, which obeys Poiseuille equation and has a linear pressure-flow rate curve passing through the origin, there exists a unique coefficient of viscosity (at a constant temperature).

$$(8) \quad \eta = \frac{\pi a^4}{8Q} \frac{\Delta P}{L}$$

For the corresponding flow rate Q , pressure drop ΔP , capillary radius a , capillary length L

2.2. Rotational viscometers – Couette Flow

In the case of Couette flow

$$(9) \quad \eta = \frac{R_2^2 - R_1^2}{R_1^2 R_2^2} \frac{T}{4\pi\Omega L}$$

Where L is the length of the cylinder, Ω the angular velocity, R_2 and R_1 the radii of outer and inner cylinder respectively.

2.3. Time dependent properties – blood thixotropy and viscoelasticity

The blood flow in the blood vessels, especially aorta and large arteries as well as in the microcirculation va-

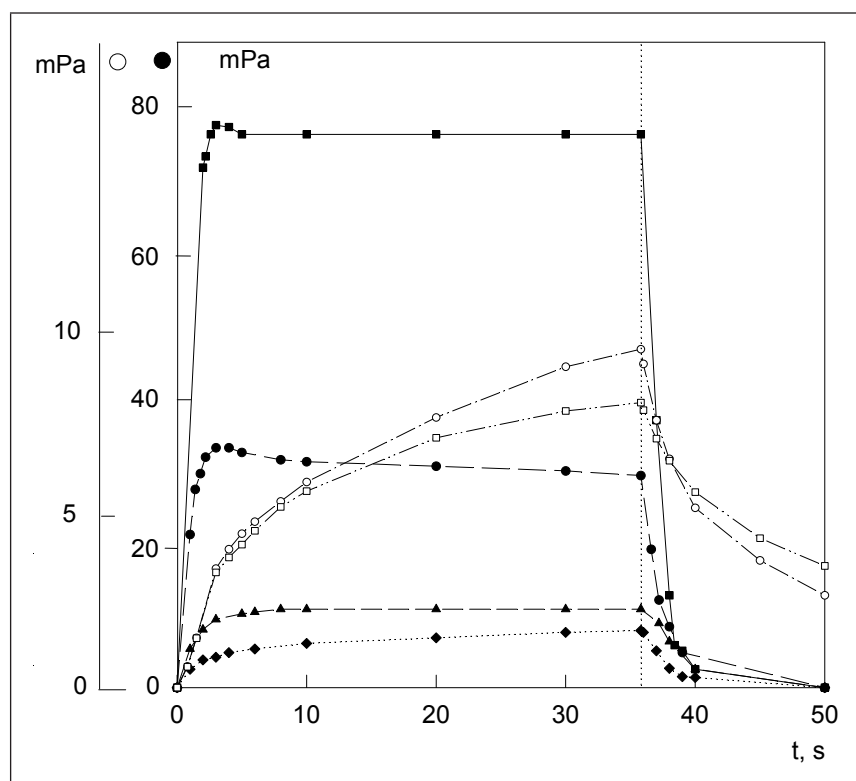


Figure 1. Rheograms at rectangular change of shear rates from 0 s^{-1} to 0.0596 s^{-1} to 0 s^{-1} for patients with CVD (\circ), from 0 to 0.0237 s^{-1} to 0 s^{-1} (\square), from 0 to 5.96 s^{-1} to 0 s^{-1} (\blacksquare), from 0 to 1.285 s^{-1} to 0 s^{-1} (\bullet), from 0 to 0.277 s^{-1} to 0 s^{-1} (\blacktriangle), from 0 to 0.1102 s^{-1} to 0 s^{-1} (\blacklozenge); $H = 43 \%$, $T = 37^\circ\text{C}$, Low Shear 30 Contraves⁵

ries periodically. The geometrical complexity of the circulation system gives rise to areas where blood flow is significantly accelerated and there are varying transient flow conditions. The alteration of blood flow with time is typical for viscoelastic fluids and this phenomenon is related with the influence of the inner structure on the blood flow. In the case of thixotropy (Fig.1) when the flow is stopped, the particles relate each other and the process of destroying and creating of the relations is balanced. The forces of connections are weak. The higher shear rate leads to decreasing the size of the related structural units, corresponding to the less resistance to flow.

Similarly, the macromolecules of the viscoelastic fluid form set with

temporal connections and destroying and creating of the relations is balanced. When the fluid is sustained to the larger shear rates, more macromolecules are destroying for a unit time. Consequently the thixotropy and viscoelasticity are related with similar time effects, reflecting in the shear rate effects. From this point of view the theories are developed, describing the mechanisms of thixotropy and viscoelasticity.

The properties of blood in the ground state of equilibrium can be measured by application of very small forces and deformations that do not disrupt the internal structure. By using a small sinusoidal perturbation at a fixed radian frequency, ω , the viscoelasticity in the ground state is obtained. These properties can be measured over a wide range of frequencies. The complex coefficient of viscosity, $\eta^*(\omega)$, describing the viscoelasticity, is the complex ratio of the shear stress, τ , to the shea rate $\dot{\gamma}$. The coefficient is divided into its real, energy dissipative part, η_v , and its imaginary, energy storage part, η_E .

The steady dynamic viscosity is determined using a rotational viscometer Low Shear 30 Contraves under steady viscometric flow within a shear rate range from $0,0237 \text{ s}^{-1}$ to $128,5 \text{ s}^{-1}$. The Low Shear 30 Contraves can be switched from rotation to oscillation (Low Shear 30 sinus) using a rigidly mounted additional driving device (oscillation drive).

Apparent steady shear viscosity was obtained started from a shear rate of $128,5 \text{ s}^{-1}$ and decreasing the shear rate in different number of steps, thus realizing quasi non-steady flow conditions. Complex dynamic viscosity is determined by measuring

the angular displacement δ varying the frequency from 0,000222 Hz up to 1,63 Hz at a firmly set amplitude of $\pm 30^\circ$.

Human blood exhibits non-Newtonian viscosity and non-linear viscoelasticity, depending on shear rate and frequency. The results of experiments under non-steady flow conditions show that the shear stresses are increasing and viscosity decreasing with increasing shear rate or frequency (Fig.2).

3. ELECTORRHEOLOGICAL METHOD

3.1. Methods and Clinical Applications

The phenomenon of electrorheology refers to changes in the rheological behavior due to imposition of electric field. In general the electrorheological properties of blood are determined by a variety of factors including the electrical properties of blood cells and plasma, the fractional volume concentrations of the blood cells as well as the shape and orientation of the cells. When blood flows, all these complex factors may change and contribute in a different way to the overall impedance of the flowing blood. In physiological conditions human blood cells have a negative electrokinetic charge to maintain a physico-chemical stability of cellular suspensions. The interface of the suspended cells and blood plasma is the site of complex phenomena as the ionisation of solid phase molecules. Resulting spatial charge distribution induces the electric potential which plays a decisive role in determining

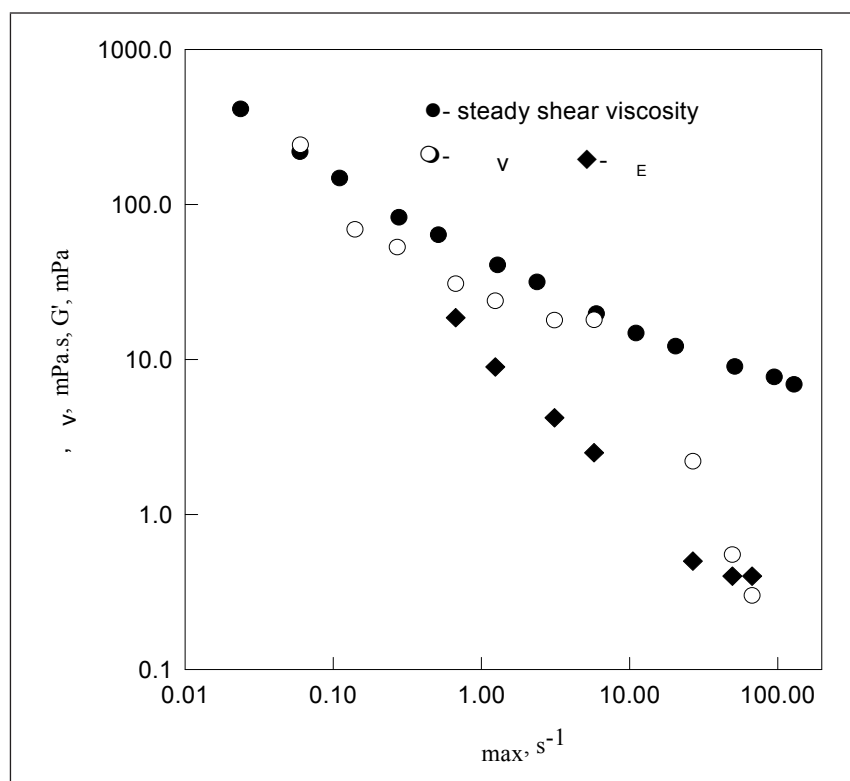


Figure 2. The experimental shear rate dependence of steady shear viscosity (filled circles) and oscillatory shear rate dependence of viscous part (η_v) of the complex viscosity (hollow circles) and elastic component (η_E - filled rombus) of human blood of patient with CVD; (H=45%, T=37±0.1°C), Low Shear 30 sinus Contraves⁵

cell rheological properties and cell interaction. In the flowing blood the red blood cells deform and rotate in plasma. The electrical resistivity of flowing blood depends on the direction of the applied electric field, but also on the orientation and deformation of the RBCs. On the other hand, the shape and arrangement of RBCs is influenced by the kinematics and dynamics of flow, respectively by the deformation rate and stress deformation. Therefore, by measuring the electric properties of blood, valuable information could be received about mechanical properties of blood during evaluation of some diseases, which affect modification of the local flow pattern and the rheological properties of blood.

Recently interest in using electrorheological methods for determination the mechanical properties of blood and blood cells increased. Blood electrical properties (impedance, permittivity, conductivity etc) have a wide range of applications in biomedical field. Therapies of malignant tumours ranging from actinotherapy, chemotherapy and angiogenesis inhibitors to surgical removal are routinely used. However, most of these therapies are toxic or invasive to the well being of the patient. Consequently, new therapies are examined including a therapy inhibiting blood supply to the tumour and thus inducing necrosis. To form a seal and block the flow, the electrorheological (ER) fluids and an electric field can be used. ER fluids have inner structure, which exhibit dipolar interaction when an electric field is applied turning the fluid temporarily into solid. Cancer cells exhibit altered local dielectric properties compared to normal cells, measurable as different electrical conductance and capacitance using electrical impedance scanning (EIS). EIS appears to be a promising new additional technology providing a rather high sensitivity for the verification of the suspicious breast lesions. Reduction of blood flow can lead to an increase of hypoxia and extra-cellular acidification. Additionally, if blood flow is chronically impaired, a cascade of tumour cell death will occur due to lack of nutrients and accumulation of catabolite products. Different mechanisms are involved in antitumor effectiveness of electrotherapy by low level electric current, which induces significant reduction of blood flow and oxygenation in tumours.

The investigation of the possibility of using the polymeric blood substitutes and biocompatible polymeric fluids as ER fluids consists of the determination of the basic parameters of the ER fluid sealing such as the sealing time, resistant pressure and the strength of the electric field that are important for designing the future studies on biological models.

A method based on dielectric properties of dispersed systems is developed to investigate RBC aggregation in blood and RBC suspensions. Measurements of capacitance and resistance are made in rectangular channel at low (0.2 MHz) and high (14 MHz) frequencies relative to the mid-point of the β -dispersion range. The conductance and capacitance of flowing and quiescent red blood cell (RBC) suspensions were made at a frequency of 0.2 MHz. The results demonstrate that the time-dependent changes in the conductance recorded during the aggregation process differ in nature for short linear rouleaux; branched aggregates and RBC network.

3.2. Measuring and data acquisition system

The conductometric method has been applied to develop measuring and data acquisition system for determination electrorheological properties of blood. The concurrent measurement system (MS), using a Contraves Low Shear 30 rheometer as a base unit was developed^{1,2}. A resin made replica of the Couette type flow chamber of the LS 30 rheometer was made. It includes a pair of platinum electrodes in cylindrical ring shape, embedded into the wall.

It can be assumed that the electric field is homogeneous since the width of the flow slit is very small compared with the cylinder diameters^{1,2}. The principal electronic scheme of the device for acquisition and processing of data (Data acquisition system) from the rotational viscometer Contraves Low Shear 30 is shown and described in details in^{1,2}. The conductometric method is based on the measurement of the AC current response resulting from a small amplitude (200 mV p-p) sinusoidal (2 kHz) AC voltage applied between a pair of platinum electrodes. The AC current is converted in voltage with the aim of a controlled gain I/E converter. Then the 2 KHz AC voltage signal is processed by a precise linear rectifier and then by a low pass filter in order to obtain a DC signal proportional to the measured electrical conductivity of the blood or other biological sample. This DC signal could be recorded by means of X-Y recorder or by a PC using a specially developed device and software for collection and processing of data from the rotational viscometer Contraves Low Shear 30 (Data acquisition system). The microprocessor module has been man-

aged by the program, which has been installed in the PC, through interface RS 232. By means of appropriate graphic interface in the program the frequency of data acquisition has been given. The rate of data acquisition could be given from 256 μ s to 15 min period between two measurements. These data graphically are visualized on the desktop of the PC as a function of time. The developed concurrent measurement system (MS), the device and software were used as a basis for series of experiments.

3.3. Results

We found the apparent viscosity dependence on hematocrit under electric field of 2 kHz. It has been observed that the blood conductivity depends on the applied shear rates (Fig.3a) and temperature (Fig.3b); due to flow the blood conductivity increases, when shear rate increases from 0,945 s⁻¹ to 94,5 s⁻¹ and temperature increases from 25°C to 37°C.

The time dependences of the blood conductivity on the regime of the applied viscometric flow have been stu-

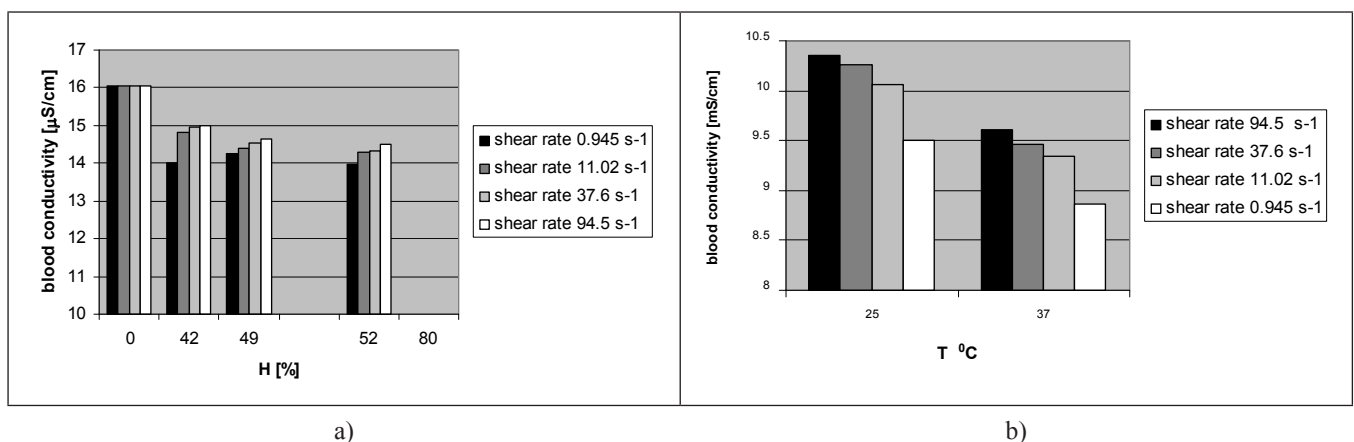


Figure 3. Experimental relationship between conductivity and a) shear rates from 94,5 s⁻¹ to 0,945 s⁻¹ for whole human blood samples with different native hematocrit and b) temperature for whole human blood (H=38%), measured by LS 30 Contraves at shear rate from 94,5 s⁻¹ to 0,945 s⁻¹, T=37°C

died. To investigate cell transformation during aggregation processes under transient flow conditions, whole human blood was subjected to shearing to disperse all aggregates and the flow was stopped to allow RBC aggregation. The kinetics of the whole blood conductivity was measured. It was found that the whole blood conductivity increases with increasing shear rate (Fig. 4). After cessation of flow, the conductivity tends to fall to the same initial value. These results may be explained by the formation of branched aggregates at different flow conditions and this process could be qualified by the kinetic conductivity measurements. A time course of blood conductivity recorded under different flow conditions provides experimental description of RBC aggregation-desaggregation processes. The initially time-dependent changes must reflect the rupture of intercellular links. The break-up of intercellular

links increases both the concentration of aggregates and the degree of branching. To investigate aggregation process in stasis and under flow conditions after subjected to shearing to disperse all aggregates RBC suspension was stopped or decreased to allow RBCs aggregation⁶. The relaxation part of the kinetic curve of blood conductivity reflects the RBC aggregation process (Fig. 4). This finding is consistent with the literature reports⁷.

ACKNOWLEDGEMENTS

The Ministry of Education, Youth and Science of Bulgaria supported the study – funded by the Operational Programme “Human Resources Development” within the Project № BG051PO001-3.3-05/0001 regimen «Science-Business” under Grant No. ДО-805/2012 is gratefully acknowledged.

REFERENCES

1. Antonova N., Riha P., Zlatev R., Ivanov I., 2005, Experimental relationships between the blood conductivity and blood rheological properties, 3rd European Medical & Biological Engineering Conference EMBE 2005 Conference, November 20-25, 2005, Prague, Czech republic – IFMBE Proceedings Series, 11 (1), 4247-4252
2. Antonova N., Riha P., 2006, Studies of electrorheological properties of blood, *J. Clin. Hemorheology and Microcirculation*, 35, 19-29.
3. Chien et al, 1970, Shear dependent deformation of erythrocytes in rheology of human blood, *American Journal of Physiology* 219, 136-142.
4. Thurston, 1979, Rheological parameters for the viscosity, viscoelasticity and thixotropy of blood. *Biorheology* 16, 149-162.
5. Antonova N., Blood viscoelastic and thixotropic properties, 1998, *J. Theoretical and applied mechanics*, 28,3, 42-54.
6. Antonova, N., Riha, P., Ivanov I., 2008, Time dependent variation of human blood conductivity as a method for an estimation of RBC aggregation, *J. Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 39, 1-4, 69-78.
7. Pribush A., Meyerstein D., Meyerstein N., 2004, Conductometric study of shear-dependent processes in red cell suspensions. II. Transient cross-stream hematocrit distribution, *Biorheology* 41, 29-43.

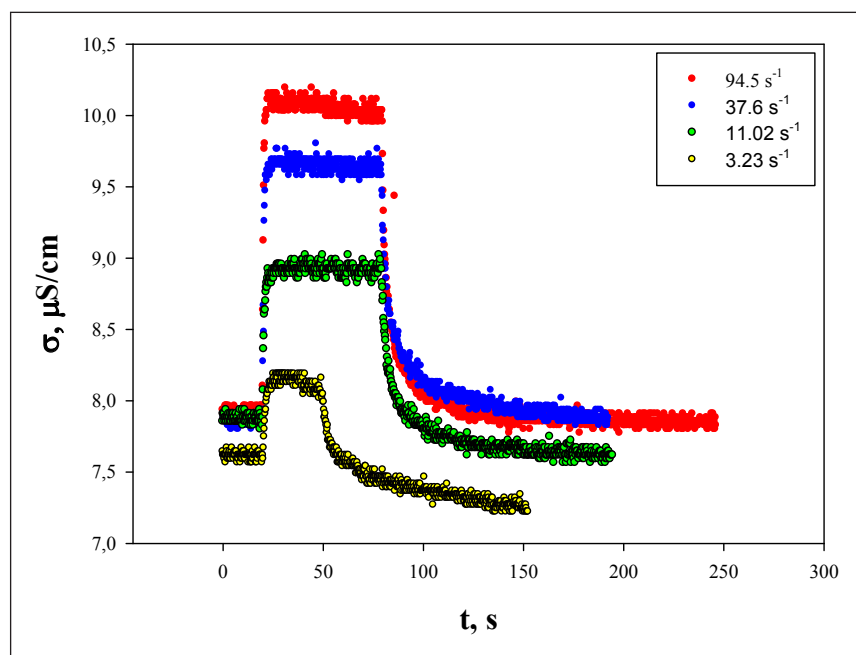


Figure 4. Experimental relationship of changes of conductivity with time under trapezium-shaped changes of shear rates from 3,23 s⁻¹ to 94, 5 s⁻¹ for whole human blood (H=39,6%), measured by LS 30 Contraves, T=370C

CONCEITOS SOBRE HEMORREOLOGIA E MICROCIRCULAÇÃO HUMANAS

J. Martins e Silva¹

TEMA 8 – FLUXO SANGUÍNEO

FLUXO ATRAVÉS DE TUBOS CILÍNDRICOS

O fluxo sanguíneo representa a deslocação intravascular de uma suspensão concentrada maioritariamente constituída por eritrócitos deformáveis em solução aquosa de sais e proteínas. Essa deslocação, contínua, pulsátil, percorre todo o corpo a velocidades variáveis, através de vasta rede circulatória de artérias, veias e capilares, com extensão, conformação e calibres distintos. De modo a entender melhor as particularidades hemorreológicas do fluxo sanguíneo na circulação humana, são analisadas algumas questões básicas sobre o fluxo de soluções viscosas através de tubos cilíndricos e rígidos com raio, extensão e sob temperaturas diferentes.

Há dois principais tipos de fluxo, o *laminar* e o *turbulento*. O primeiro é representado por partículas líquidas que se deslocam em camadas paralelas, entre si e às paredes do tubo em que fluem, de modo constante, suave e independentemente da duração do fluxo (Fig. 1A).

De acordo com os princípios enunciados anteriormente (vide Tema 7), a relação de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) é equivalente ao quociente diferença da velocidade ($\Delta V = V_o - V$) de deslocação de duas camadas paralelas) pelo intervalo de separação entre aquelas camadas (Δy):

$$\dot{\gamma} = \Delta V / \Delta y$$

Pelo contrário, o fluxo turbulento (Fig. 1B) caracteriza-se por ser caótico, quer na velocidade quer pela deslocação irregular das partículas componentes.

Nos líquidos *newtonianos*, o fluxo laminar é proporcional à queda de

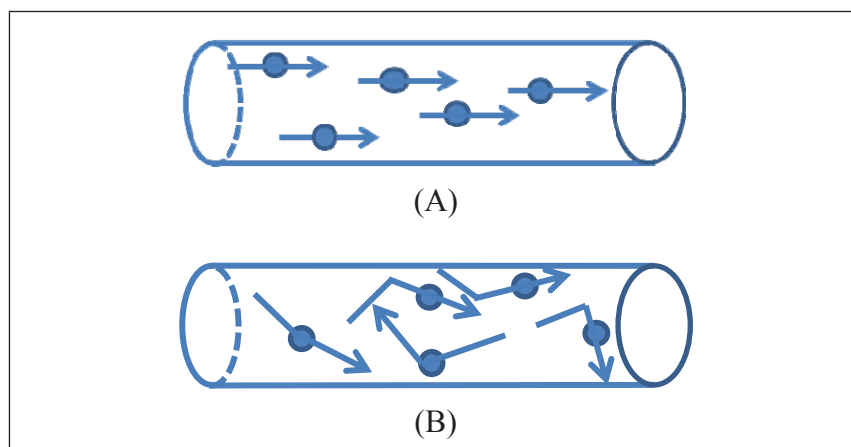


Figura 1. Representação esquemática do fluxo laminar (A) e do turbulento (B) de partículas líquidas (●) em tubo cilíndrico. As setas apenas a cada partícula indicam a respectiva direcção.

¹ 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.

pressão intratubular e depende da tensão de cisalhamento, enquanto no fluxo turbulento, a redução é proporcional ao quadrado da velocidade média. Fazendo aumentar a velocidade do fluxo, a partir de determinado ponto (denominado *número Reynold*, Re , unidade sem dimensão), a corrente deixa de ocorrer em planos paralelos estáveis (fluxo laminar), começando por evidenciar irregularidades e, depois, difusão multidireccional crescente (fluxo turbulento).

O valor de Re num tubo recto e cilíndrico é aproximadamente igual a 2000. Abaixo deste nível o fluxo é laminar, passando a turbulento quando superior. Porém, o valor de Re pode ser muito inferior (p.ex. entre 10 e 100) quando o fluxo ocorre em tubos com geometria variável e ou constricções. A partir do ponto de transição, a irregularidade direccional das partículas, efeitos de inércia e a dissipação de energia cinética justificam o aumento da resistência ao fluxo (Fig.2).

Para a interpretação do fluxo das partículas na circulação sanguínea, é conveniente começar pela análise do

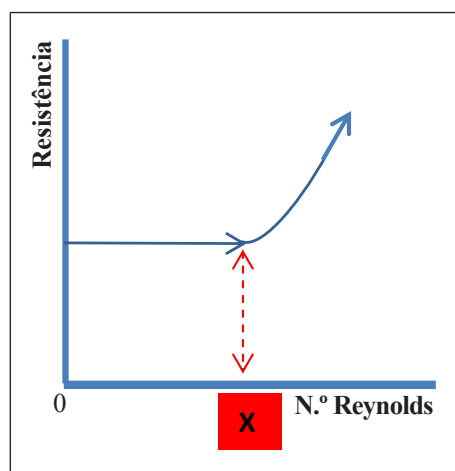


Figura 2. Relação entre resistência ao fluxo e o número Reynolds. Quando o fluxo laminar (A) se transforma em turbulento (B), em X (número Reynolds), a resistência aumenta.

fluxo laminar de um líquido viscoso através de um tubo cilíndrico rígido, com determinadas dimensões.

Conceptualmente, o fluxo laminar é constituído por camadas adjacentes paralelas (entre si e à parede do tubo), ou por um conjunto de cilindros telescópicos (representativos do percurso percorrido pelas partículas em suspensão) que deslizam entre si a velocidades crescentes, desde a parede (valor mínimo, equivalente a repouso) até ao eixo longitudinal do tubo (máximo).

A tensão de cisalhamento, igual a zero no eixo longitudinal, aumenta linearmente com o valor de R até máximo, junto da parede tubular. Sendo mínima a velocidade linear do fluxo junto da parede tubular, e máxima no centro, verifica-se o inverso quanto ao valor do gradiente de velocidade (ou relação de cisalhamento, γ') entre as camadas paralelas (ou cilindros concêntricos), que atingem o valor menor (na dependência da tensão de cisalhamento e das propriedades do líquido) no centro, e o máximo junto da parede tubular (relação de cisalhamento de parede). Deste modo, o perfil de velocidade do fluxo evidencia um perfil em curva parabólica, que atinge o seu máximo no eixo do tubo (Fig.). O atrito entre as camadas (ou cilindros) adjacentes do fluido é anulado pela tensão de cisalhamento (τ).

Nos líquidos newtonianos, a viscosidade pode ser uma função dos valores da tensão ou da relação de cisalhamento, ou ser calculada directamente pela *equação de Hagen-Poiseuille*, a partir das dimensões do tubo (R , raio; L , extensão), valor do fluxo (Q) e diferença de pressão (ou gradiente de pressão) do líquido in-

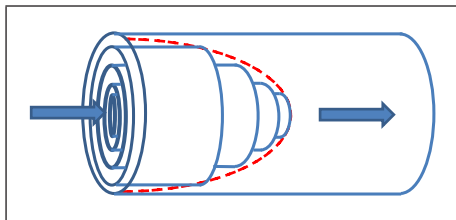


Figura 3. Representação do fluxo laminar (a seta indica a direção) e respectivo gradiente de velocidade (curva a tracejado vermelho), definido pela velocidade relativa de cada cilindro telescópico concêntrico. A velocidade relativa varia do valor zero, junto à parede tubular, até ao máximo, no eixo longitudinal.

tratubular entre dois pontos separados pela distância L (ΔP).

Em alternativa, o valor do fluxo que passa através do tubo pode ser calculado através da mesma equação.

Embora os líquidos não-newtonianos não obedeçam aos critérios dos newtonianos, é usual utilizar a *equação de Hagen-Poiseuille* para o cálculo da respectiva viscosidade. O valor obtido para determinado líquido viscoso, representativo da média intratubular, designa-se *viscosidade aparente* (η_a).

VISCOELASTICIDADE E VISCOSIDADE DO SANGUE

A reologia do sangue (vide Tema 1) e, por consequência, o seu fluxo *in vitro* (em tubos cilíndricos) ou intravascular (*in vivo*), são determinados por factores intrínsecos e extrínsecos. Dos intrínsecos destacam-se quatro factores: *hematócrito*, *viscosidade plasmática*, *agregação eritrocitária* e *deformabilidade eritrocitária*. Entre os extrínsecos cabe citar três: *tensão de cisalhamento*, *diâmetro (tubular ou vascular)* e *temperatura*. Este conjunto será analisado em particular mais adiante (Tema 9).

Os factores intrínsecos justificam (vide Tema 7), que o fluxo (relação de cisalhamento) do sangue não seja proporcional à força externa (tensão de cisalhamento) que lhe é aplicada. Em consequência, quando submetido a uma força deformante, o sangue evidencia características mistas, próprias de uma substância viscosa mas, ao mesmo tempo, também elástica¹, com distensão dependente do tempo de actuação. Por conseguinte, o sangue tende a comportar-se como um meio líquido viscoelástico constituído por partículas elásticas (elementos celulares, maioritariamente eritrócitos) dispersas num meio viscoso, o plasma. Deste modo, o comportamento *não-newtoniano* do sangue, interpretado em termo de *viscoelasticidade*, pode variar no sentido dos materiais sólidos ou dos líquidos, em função da respectiva composição e da tensão de cisalhamento aplicada.

Tendo em conta que o valor da viscosidade sanguínea (η) corresponde ao quociente da tensão (τ) pela relação de cisalhamento ($\dot{\gamma}$),

$$\eta = \tau / \dot{\gamma}$$

conclui-se que, sob valores estáveis da tensão de cisalhamento, o aumento da viscosidade implica numa menor velocidade do fluxo (menor relação de cisalhamento). Se a relação de cisalhamento for constante e houver hiperviscosidade, a tensão de cisalhamento terá de aumentar para que o sangue flua na rede vascular. Por outras palavras, a viscosidade sanguínea

¹ Enquanto um líquido viscoso tende a resistir à deformação imposta pela tensão durante o tempo em que é exercida, mas sem recuperar a forma inicial, um corpo elástico é por natureza um sólido cuja distensão é proporcional à tensão, mas que recupera a forma inicial quando aquela força cessa.

tende a diminuir (maior fluidez) com o aumento da tensão (ou relação) de cisalhamento e respectiva duração, sucedendo o oposto quando diminui o valor destas últimas variáveis.

A determinação da viscosidade sanguínea requer a utilização de instrumentos (viscosímetros) que analisam o sangue sob valores específicos da relação ou da tensão de cisalhamento. Embora a variabilidade nos modelos de viscosímetros disponíveis dificulte a comparação de resultados e a definição de valores idênticos, é possível estabelecer algumas conclusões. Por exemplo, no sangue de indivíduos saudáveis, a viscosidade sanguínea sob valores elevados da relação de cisalhamento ($> 50 \text{ s}^{-1}$) ou da tensão de cisalhamento ($> 0.25 \text{ Pa}$) depende principalmente do hematócrito. A diminuição dos valores de cisalhamento ($\dot{\gamma} < 1 \text{ s}^{-1}$; $\tau < 0,02 \text{ Pa}$) induzem a agregação eritrocitária, e o subsequente aumento da viscosidade sanguínea.

FLUXO DE SANGUE NA REDE CIRCULATÓRIA

O fluxo sanguíneo é determinado pelas suas propriedades reológicas e pela estrutura e características hemodinâmicas do sistema cardiovascular que perfunde (vide Temas 3 e 5). Em humanos normais, o sangue flui continuamente a mais de 100 mm/s nas grandes artérias e a cerca de 0.5 mm/s nos microvasos, numa rede circulatória heterogénea constituída por vasos com calibre entre cerca de 30 e 0,005 mm.

Os vasos sanguíneos não são tubos rígidos e inertes à passagem do sangue. Pelo contrário, são órgãos sensíveis a

mediadores químicos em circulação (p.ex, hormonas, neurotransmissores, citocinas) à acção constante das forças de cisalhamento do fluxo de sangue no endotélio vascular (mecanotransdução). Aparentemente, as propriedades da parede vascular, em que se inclui a adaptação da geometria e capacidade hemodinâmica geral ou localizada, resultam de um sistema complexo de controlo de retro-inibição ou retro-activação em que intervêm sinais moleculares induzidos pelo fluxo sanguíneo. Um dos mecanismos mais característicos (a que acrescem muitos outros, que actuam em simultâneo) é o do controlo da tensão de cisalhamento de parede pelo diâmetro vascular dependente daquela tensão.

A ramificação progressiva da rede vascular desde a aorta até à rede capilar, depois revertida no sentido inverso até ao coração direito, explica a existência de uma profunda variação entre a superfície continente (vasos) e o volume do conteúdo (sangue). Esta relação quase quadruplica no sentido da periferia, representada pela microcirculação, deste modo favorecendo particularmente as trocas de gases e nutrientes entre o sangue e os tecidos periféricos. Todavia, a morfologia e distribuição das vias circulatórias podem ser alteradas em diversas circunstâncias, p. ex., por adaptação rápida ou prolongada a desequilíbrios entre as exigências metabólicas e a quantidade de nutrientes e oxigénio fornecidas aos tecidos ou órgãos (em geral ou restritos), ou em situações patológicas que se acompanham de neovascularização, com destaque para a formação de vasos condutores colaterais.

A subsequente variabilidade do comprimento e calibre da árvore circulatória acarretam numa grande he-

terogeneidade das características hemodinâmicas e hemorreológicas. Na vertente arterial da circulação, a pressão intravascular é substancialmente reduzida a partir dos segmentos arteriulares, pelo que na vertente venosa a pressão de deslocação sanguínea permanece habitualmente baixa. Na vertente arterial, a tensão de cisalhamento de parede aumenta progressivamente, entre cerca de 1 Pa (na aorta e grandes vasos) e 10 Pa (na microcirculação, com destaque nas arteríolas), diminuindo abruptamente a partir das vénulas pós-capilares. Estes valores indicam que a viscosidade aparente do sangue depende pouco dos índices de cisalhamento. Em contrapartida, o eventual aumento da viscosidade sanguínea venular em situações de débito cardíaco subnormal, poderá elevar a resistência vascular ao nível do território pré e pós-capilar.

Para uma melhor elucidação das condições circulatórias do sangue e ilações funcionais e patológicas a nível dos diferentes órgãos, importa rever, em primeiro lugar, as principais características do sistema vascular. Neste propósito, ainda que sem limites morfológicos precisos mas atendendo à respectiva funcionalidade, poderão ser individualizados quatro segmentos/compartimentos principais:

- Vasos condutores (compartimento de alta pressão);
- Vasos de resistência (compartimento de controlo);
- Capilares e vénulas (compartimento de trocas);
- Vasos de capacitância (compartimento de baixa pressão).

O compartimento de alta pressão inclui a aorta e principais artérias co-

laterais, em que o sangue está sujeito a elevada tensão de cisalhamento, em particular durante a sístole. Como a designação indica, é um sector em que a pressão elevada (intravascular e transmural) é determinada, sobretudo, pela contractilidade (ejecção sistólica) cardíaca e pela resistência periférica total. O fluxo pulsátil imposto pelo ritmo cardíaco justifica a variabilidade intermitente da pressão e da velocidade circulatória na fracção (5-10%) de volemia total presente no compartimento. As alterações estruturais e composição da parede vascular, subseqüentes ao envelhecimento e a anomalias patológicas, repercutem-se negativamente no fluxo e pressão intravascular.

O compartimento de controlo é representado pelas arteríolas. A par de características hemodinâmicas semelhantes às do compartimento anterior (designadamente, pulsatilidade do fluxo, valores elevados da tensão e relação de cisalhamento as arteríolas), aqueles vasos, através da resposta do músculo liso arteriolar a estímulos endógenos e exógenos, regulam a resistência ao fluxo local e regional, com repercussões na distribuição de sangue nos tecidos a jusante, perfusão pós-arteriolar e redução da pressão arteriovenosa total (vide Temas 4 e 5). As variações de pressão e distribuição do fluxo sanguíneo podem ser afectadas, a este nível, pelo número de bifurcações, as quais podem ser, também, a causa de repartição heterogénea de corpúsculos celulares e plasma pelos vasos divergentes.

O fornecimento de nutrientes metabólicas e oxigénio e a remoção de produtos teciduais decorrem através da parede de capilares e vénulas pós-capilares, por difusão

simples ou mecanismos específicos de transporte (vide Temas 4, 5 e 6). A eficácia do sistema é particularmente favorecida pela área de contacto estabelecida entre o conteúdo sanguíneo, microvascular e tecidos envolventes, a que acresce a influência de factores hemodinâmicos e hemorreológicos locais. O sangue que perfunde a rede capilar evidencia valores mais elevados de tensão e relação de cisalhamento, embora com episódios frequentes de intermitência circulatória de causa diversa. Em contrapartida, o fluxo nas vénulas pós-capilares tem os níveis de cisalhamento mais baixos de todo o sistema vascular. Esta diferença justifica que a reabsorção ocorra preferencialmente a este nível, enquanto a filtração prevalece ao longo do percurso capilar, ainda que o equilíbrio final entre filtração e reabsorção dependa do sistema linfático. Adicionalmente, a filtração do conteúdo hídrico do sangue para os tecidos induz uma fase transitória de hemoconcentração, que reverte aos valores iniciais somente no percurso das vénulas pós-capilares, excepto em situações de estase de causa patológica.

O compartimento de capacitância, que contém cerca de 80% da volemia total, engloba as grandes veias, incluindo as pulmonares e o coração direito. Como o nome indica, é um sector com pressão intravascular muito reduzida, dependendo essencialmente da distensibilidade induzida pelo sangue que recebe e não do débito cardíaco ou da resistência vascular periférica. O segmento das vénulas pós-capilares apresenta particularidades relevantes. Primeiro, a quantidade de san-

gue recebe é condicionada pela resistência pré-capilar; quando esta diminui, a pressão e o fluxo de sangue a jusante aumentam. Segundo, a parede venular, além de muito fina, está quase desprovida de músculo liso, o que lhe minimiza as possibilidades contrácteis, ao contrário do que sucede nos segmentos venosos que lhe dão continuidade, favorece a quase estagnação local do sangue, com valores mínimos da tensão de cisalhamento de parede ($\leq 1\text{Pa}$). Terceiro, no seguimento do anterior, aumenta a interacção de alguns constituintes do sangue com a parede vascular, e vice-versa, em particular nas situações favoráveis à hemoconcentração local, o que tende a contribuir para o aumento da viscosidade aparente do sangue, coagulação e subsequente trombogénese.

À anterior caracterização do sistema vascular cabe acrescentar outras particularidades da circulação real, em que se destacam.

- Efeito de entrada do fluxo sanguíneo nos grandes vasos;
- Pulsatilidade;
- Efeito da geometria vascular no fluxo sanguíneo.

Na parte inicial de vasos com número Reynolds elevado, a velocidade do fluxo é quase uniforme, desde a parede ao eixo. Este *efeito de entrada* resulta de a viscosidade da camada de sangue mais em contacto com a parede permanecer quase estacionária durante um determinado período, no qual também provoca a contínua redução de velocidade das camadas adjacentes do fluxo. Progressivamente, a viscosidade delimi-

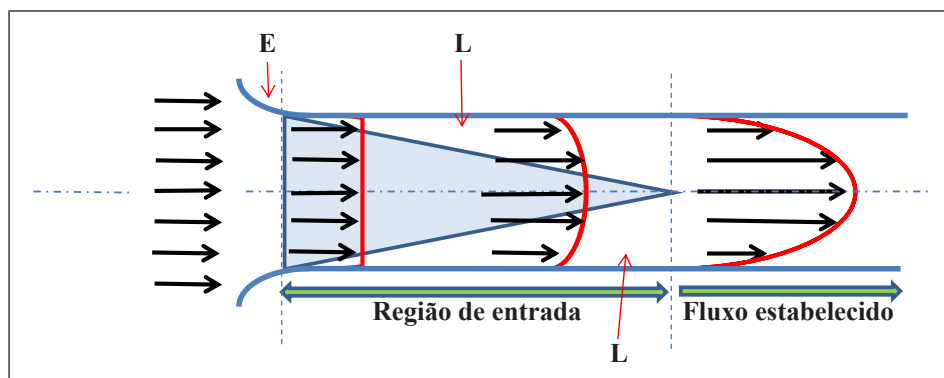


Figura 4. Representação do *efeito de entrada* (E) e formação da *camada limite* (L) no início do fluxo uniforme de um líquido viscoso, de um reservatório para um tubo circular. Devido à viscosidade, a relação de parede é muito elevada, com velocidade quase nula do líquido em contacto com a parede tubular, enquanto a parte central tem viscosidade menor (a azul). A *camada limite* alarga-se progressivamente, aumentando a viscosidade, à medida que aumenta a velocidade do fluxo, da parede ao eixo tubular. Por fim, na região em que o fluxo está completamente desenvolvido e viscoso atingiu-se o equilíbrio entre o gradiente de pressão e tensão de cisalhamento, com perfil de velocidade parabólico.

ta uma *camada limite* que abrange o conteúdo sanguíneo até ao eixo do tubo. Neste ponto, a par com diminuição da relação de cisalhamento (desde a parede até ao eixo), é estabelecido o gradiente de velocidade em fluxo regular (Fig.4).

O fluxo sanguíneo é pulsátil na vertente arterial, sendo já residual ao nível dos capilares. Há, porém, variações de pulsação num mesmo vaso sanguíneo.

A existência de estenoses, ramificações e curvas ao logo do trajecto vascular tende a originar variações súbitas de direcção e de velocidade do fluxo. Daqui podem resultar fluxos secundários, redemoinhos ou zonas de recirculação entre o fluxo e a parede. Este tipo de perturbações contribui potencialmente para a localização de placas ateroscleróticas e trombogénese.

BIBLIOGRAFIA

- Ando J, Yamamoto K. Vascular mechanobiology: endothelial cell responses to fluid shear stress. *Circ J* 2009;73:1983-92.
- Chien S. Blood rheology and its relation to flow resistance and transcapillary exchange, with special reference to shock. *Adv Microcirc* 1969; 2: 89-103.
- Duling BR. Oxygen metabolism and microcirculatory control. In "Microcirculation", G Kaley, BM Altura (eds). Baltimore: University Park Press, 1978, Vol II, pp. 371-400.
- Gaehgtens P, Pries AR, Ley K. Structural and rheological characteristics of blood flow in the circulation. In: "Clinical Hemorheology", S Chien, J Dormandy, E Ernest, A Matrai (eds). Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1987, pp.97-124.
- Lipowsky HH, Kovalcheck S, Zweifach BW. The distribution of blood rheological parameters in the microcirculation of cat mesentery. *Circul Res* 1978;43: 738-49
- Matrai A, Whittington RB, Skalak R. Biophysics. In: "Clinical Hemorheology", S. Chien, J Dormandy, E Ernst, A Matrai (Eds). Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1987, pp. 9-71.
- Meyers MA, and Chawla KK. "Mechanical Behavior of Materials". Cambridge: Cambridge University Press, 2009, pp.120-137.
- Pries AR, Secomb TW. Modeling structural adaptation of microcirculation. *Microcirculation*. 2008;15:753-64.
- Turitto VT, Goldsmith HL. Rheology, transport, and thrombosis in the circulation. In "Vascular Medicine", 2ª edição, J Loscalzo, MA Creager, V Dzau (eds). Boston: Little, Brown and Company, 1996, pp.141-84.

MICROCIRCULATORY ALTERATIONS IN PATIENTS WITH SEVERE SEPSIS: IMPACT OF TIME OF ASSESSMENT AND RELATIONSHIP WITH OUTCOME

De Backer D, Donadello K, Sakr Y, Ospina-Tascon G, Salgado D, Scolletta S, Vincent JL¹

Abstract

Objectives: Sepsis induces microvascular alterations that may play an important role in the development of organ dysfunction. However, the relationship of these alterations to systemic variables and outcome is still not well defined. We investigated which factors may influence microcirculatory alterations in patients with severe sepsis and whether these are independently associated with mortality.

Design: Analysis of prospectively collected data from previously published studies by our group.

Setting: A 36-bed, medicosurgical university hospital Department of Intensive Care.

Patients: A total of 252 patients with severe sepsis in whom the sublingual microcirculation was visualized using orthogonal polarization spectral or sidestream dark-field imaging techniques.

Measurements and main results: Microcirculatory measurements were obtained either early, within 24h of the onset of severe

sepsis (n = 204), or later, after 48h (n = 48). When multiple measurements were obtained, only the first was considered. Although global hemodynamic variables were relatively preserved (mean arterial pressure 70 [65-77] mm Hg, cardiac index 3.3 [2.7-4.0] L/min.m, and SvO₂ 68.3 [62.8-74.7]%), microvascular variables were markedly altered (proportion of perfused small vessels 65 [50-74]%, microvascular flow index 2.15 [1.80-2.60], and heterogeneity of proportion of perfused small vessels 35 [20-50]%). Among microcirculatory variables, proportion of perfused small vessels was the strongest predictor of outcome (receiver operating characteristic curve area 0.818 [0.766-0.871], p < 0.001). Survival rates decreased markedly with severity of alterations in the proportion of perfused small vessels (70% and 75% in the two upper proportion of perfused small vessel quartiles compared with 3% and 44% in the two lower quartiles, p < 0.0001). Multivariable analysis identified proportion of perfused small vessels

¹ Department of Intensive Care, Erasme Hospital, Université libre de Bruxelles, Brussels, Belgium. ddebacke@ulb.ac.be

and sequential organ failure assessment score as independent predictors of outcome. Microcirculatory alterations were less severe in the later than in the earlier (proportion of perfused small vessels, 74 [57-82]% vs. 63 [48-71]%, $p = 0.004$) phase of sepsis. In multivariable analysis focused on the early period of sepsis, pro-

portion of perfused small vessels and lactate were independent predictors of outcome.

Conclusions: Microcirculatory alterations are stronger predictors of outcome than global hemodynamic variables.

[*Crit Care Med.* 2013Mar; 41(3): 791-9. doi: 10.1097/CCM.0b013e3182742e8b.] PMID: 23318492

THE APC TREATMENT IMPROVES MICROCIRCULATION IN SEVERE SEPSIS/SEPTIC SHOCK SYNDROME

Donati A, Damiani E, Botticelli L, Adrario E, Lombrano MR, Domizi R, Marini B, Van Teeffelen JW, Carletti P, Girardis M, Pelaia P, Ince C²

Abstract

Background: The role of recombinant activated protein C (aPC) during sepsis is still controversial. It showed anti-inflammatory effect and improved the microvascular perfusion in experimental models of septic shock. The present study was aimed at testing the hypothesis that recombinant aPC therapy improves the microcirculation during severe sepsis.

Methods: Prospective observational study on patients admitted in a 12-beds intensive care unit of a university hospital from July 2010 to December 2011, with severe sepsis and at least two sepsis-induced organ failures occurring

within 48 hours from the onset of sepsis, who received an infusion of aPC (24 mcg/kg/h for 96 hours) (aPC group). Patients with contraindications to aPC administration were also monitored (no-aPC group). At baseline (before starting aPC infusion, T0), after 24 hours (T1a), 48 hours (T1b), 72 hours (T1c) and 6 hours after the end of aPC infusion (T2), general clinical and hemodynamic parameters were collected and the sublingual microcirculation was evaluated with sidestream dark-field imaging. Total vessel density (TVD), perfused vessel density (PVD), De Backer score, microvascular flow index (MFIs), the proportion of perfused

²Anesthesia and Intensive Care Unit, Department of Biomedical Science and Public Health, Università Politecnica delle Marche, via Tronto 10, 60126 Torrette di Ancona, Italy. a.donati@univpm.it.

vessels (PPV) and the flow heterogeneity index (HI) were calculated for small vessels. The perfused boundary region (PBR) was measured as an index of glycocalyx damage. Variables were compared between time points and groups using non parametric or parametric statistical tests, as appropriate.

Results: In the 13 aPC patients mean arterial pressure (MAP), base excess, lactate, PaO₂/FiO₂ and the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score significantly improved over time, while CI and ITBVI did not change. MFIs, TVD, PVD, PPV significantly increased over time and the HI decreased

($p < 0.05$ in all cases), while the PBR did not change. No-aPC patients ($n=9$) did not show any change in the microcirculation over time. A positive correlation was found between MFIs and MAP. TVD, PVD and De Backer score negatively correlated with norepinephrine dose, and the SOFA score negatively correlated with MFIs, TVD and PVD.

Conclusions: aPC significantly improves the microcirculation in patients with severe sepsis/septic shock (BMC Anesthesiol. 2013 Sep 26;13(1):25. doi: 10.1186/1471-2253-13-25). PMID:24070065

Trial Registration:
NCT01806428

CARDIOVASCULAR BENEFITS OF PHLEBOTOMY: RELATIONSHIP TO CHANGES IN HEMORHEOLOGICAL VARIABLES

Holsworth R Jr, Cho Y, Weidman JJ, Sloop G, St Cyr J³

Abstract

Renewed interest in the age-old concept of "bloodletting", a therapeutic approach practiced until as recently as the 19th century, has been stimulated by the knowledge that blood loss, such as following regular donation, is associated with significant reductions in key hemorheological variables, including whole blood viscosity (WBV),

plasma viscosity, hematocrit and fibrinogen. An elevated WBV appears to be both a strong predictor of cardiovascular disease and an important factor in the development of atherosclerosis. Elevated WBV through wall shear stress is the most direct physiological parameter that influences the rupture and erosion of vulnerable plaques. In addition to WBV reduction, phlebotomy may reduce an indi-

³ Southeast Colorado Hospital, Springfield, CO, USA

vidual's cardiovascular risk through reductions in excessive iron, oxidative stress and inflammation. Reflecting these findings, blood donation in males has shown significant drops in the incidence of cardiovascular events, as well as in procedures such as percutaneous transluminal coronary angioplasty and coronary artery bypass grafting. Collectively, the available data on the benefits of therapeutic phlebotomy point to the importance of monitoring WBV as part of a cardiovascular risk factor, along with other risk-modifying measures,

whenever an increased cardiovascular risk is detected. The development of a scanning capillary tube viscometer allows the measurement of WBV in a clinical setting, which can prove to be valuable in providing an early warning sign of an increased risk of cardiovascular disease.

(Perfusion. 2013 Sep 25. [Epub ahead of print]). PMID:24045034

Keywords: blood donation, cardiovascular disease, hemorheology, phlebotomy, whole blood viscosity

GALARDOADOS COM A BOLSA DE INVESTIGAÇÃO SPHM / SPACV

A Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação e o Núcleo de Biologia Vascular da Sociedade Portuguesa de Angiologia e Cirurgia Vascular, com o patrocínio da Alfa-Wasserman, instituíram uma Bolsa de Investigação de 2.500 Euros, com a finalidade de promover a investigação básica e clínica no âmbito da Hemorreologia, Hemostase e Inflamação em Patologia Vascular. O concurso decorreu até ao dia 31 de Dezembro de 2012, de acordo com o Regulamento previamente divulgado ao público interessado através dos principais pelos órgãos de comunicação nacional.

DECISÃO DO JÚRI

“A Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação e o Núcleo de Biologia Vascular da Sociedade Portuguesa de Angiologia e Cirurgia Vascular, com o patrocínio da Alfa-Wasserman, atribuíram a primeira edição da Bolsa para projectos de investigação na área da “*Hemorreologia, Hemostase e Inflamação em Patologia Vascular*”, com o objectivo de estimular a investigação científica básica ou clínica. O Júri do concurso, constituído pelo Prof. Braz Nogueira, o Prof. Fernandes e Fernandes e o Dr. Pedro Marques da Silva, distinguiu *ex-aequo* os seguintes projectos: – *Evaluation of the influence of circulating microRNA to the prognostic value of sCD40L in acute myocardial infarction*, da autoria da Dra. Patrícia Napoleão, e – *Polimorfismos genéticos nos mecanismos arteriogénicos e angiogénicos associados à doença arterial periférica*, da autoria do Dr. José Daniel Brandão Fernandes”.

ENTREGA DA BOLSA

A entrega oficial da Bolsa será efectuada por ocasião de uma reunião científica a organizar pela Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação e o Núcleo de Biologia Vascular da Sociedade Portuguesa de Angiologia e Cirurgia Vascular.



APRESENTAÇÃO DOS PREMIADOS



Dra. Patrícia Alexandra Veloso Napoleão

- Concluiu o Doutoramento em Biologia (Especialidade de Fisiologia e Bioquímica) pela Universidade de Lisboa em 2009.
- É Bolseira de Pós-doutoramento da FCT no Instituto de Medicina Molecular (IMM) da Universidade de Lisboa desde 2010.
- Publicou 21 artigos em revistas especializadas e 13 trabalhos em actas de eventos, possui 3 capítulos de livros publicados.
- Possui 47 itens de produção técnica.
- Orientou 3 dissertações de mestrado nas áreas de Medicina Básica e Ciências Biológicas.
- Recebeu 3 prémios e/ou homenagens.
- Entre 2003 e 2012 participou em 6 projectos de investigação.
- Actualmente participa em 3 projectos de investigação.
- Actua nas áreas de Ciências Médicas com ênfase em Medicina Básica, Ciências Médicas com ênfase em Medicina Clínica e Ciências Naturais com ênfase em Ciências Biológicas.
- Nas suas actividades profissionais interagiu com 68 colaboradores em co-autorias de trabalhos científicos.
- No seu curriculum os termos mais frequentes na contextualização da produção científica e tecnológica são: Acute myocardial infarction, Inflammation, CD40 ligand (CD40L), Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL), Trace elements, Nitric oxide, T lymphocytes e Tumor necrosis factor alpha (TNF- α).



Dr. José Daniel Brandão Fernandes

Actividade clínica

- *Fellow of the European Board of Vascular Surgery* (2011)
- Especialista de Angiologia e Cirurgia Vasculare (2010)
- *Fellowship no Arizona Heart Institute*, Phoenix, Arizona, Estados-Unidos da América (Setembro – Outubro 2008)
- Estágio no *Servei de Angiologia, Cirurgia Vasculare i Endovascular de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron*, Barcelona, Espanha (Setembro – Outubro 2006)

Sociedades científicas/bolsas/prémios

- Secretário Geral da Sociedade Portuguesa de Angiologia e Cirurgia Vas-
cular (SPACV) (2012-)
- Vogal da Direcção da SPACV (2010-2012)
- Membro da *European Society for Vascular Surgery*
- Bolsas
 - Bolsa de Investigação da SPACV 2012
 - Bolsa de Investigação da SPACV 2011
 - *European Society for Vascular Surgery Congress Travel Grant* 2007
- Prémios
 - Prémio para a melhor comunicação livre no campo da inovação no VI.º Congresso da SPACV (2006)
 - Prémio para a melhor comunicação sob a forma de poster no V.º Con-
gresso da SPACV (2005)

Actividade académica

- Docente no módulo de Angiogénese dos programas doutorais de “Me-
tabolismo: Clínica e Experimentação” e “Medicina e Oncologia Mole-
cular” da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP)
desde o ano lectivo 2007/08
- Mestrado em Medicina Molecular, FMUP (Tese de dissertação: “Expres-
são de Factores de Angiogénese em Membros Inferiores com Isquemia
Crítica”) (2007)
- Licenciatura em Medicina, FMUP (2000)

Actividade científica

- Publicação de 12 artigos como primeiro autor, cinco dos quais em revis-
tas de língua inglesa de reconhecida relevância na Especialidade
- Publicação de 13 artigos como co-autor, quatro dos quais em revistas de
língua inglesa de reconhecida relevância na Especialidade
- Revisor da revista *Journal of Cardiovascular Surgery*.
- Publicação (como primeiro autor) do capítulo *Below the Knee Techni-
ques: Now and Then*, inserido no Livro *Angioplasty, Various Techniques
and Challenges in Treatment of Congenital and Acquired Vascular Ste-
noses*, Thomas Forbes, Intech 2012
- Comunicações em congressos nacionais e internacionais: 90 (22 como
primeiro autor)
- Palestras em congressos nacionais e internacionais: 30 (14 como primei-
ro autor)
- Projectos de investigação: 2

PRÊMIO NOBEL DE MEDICINA/2013

Foram galardoados em conjunto com o Prémio Nobel de 2011, em Medicina os cientistas James E. Rothman (Universidade de Yale), Randy W. Schekman (Universidade da Califórnia em Berkeley) e Thomas C. Südhof (Universidade de Standford), pelas descobertas efectuadas no âmbito da organização do sistema de transporte celular.

Deficiências no sistema de transporte vesicular celular em algumas doenças humanas (p.ex, de causa imunitária, neurológica, entre outras, estão subjacentes a prognósticos clínicos mais reservados. O esclarecimento dos mecanismos envolvidos poderá contribuir para o desenvolvimento de terapêuticas apropriadas



James E. Rothman



Randy W. Schekman



Thomas C. Südhof

James E. Rothman nasceu em 1950, em Haverhill, Massachusetts, USA. Doutorou-se pela Harvard Medical School em 1976, prosseguiu o seu percurso no Massachusetts Institute of Technology e, em 1978, na Stanford University in California, onde iniciou a investigação sobre vesículas celulares. Trabalhou ainda em Princeton University, Memorial Sloan-Kettering Cancer Institute e na Columbia University. Desde 2008, é professor na Yale University in New Haven, Connecticut, USA, onde actualmente dirige o departamento de Biologia Celular.

Randy W. Schekman nasceu em 1948 em St Paul, Minnesota, USA. Estudou na University of California (Los Angeles) e em Stanford University, onde se doutorou em 1974. É actualmente professor do departamento de Biologia Molecular e Celular da University of California (Berkeley), e investigador do Howard Hughes Medical Institute.

Thomas C. Südhof nasceu em 1955 em Göttingen, na Alemanha. Estudou na Georg-August-Universität na mesma cidade, onde se licenciou em Medicina e doutoramento em neuroquímica (1982). Em 1983, prosseguiu a for-

mação pós-doutoramento na University of Texas Southwestern Medical Center, em Dallas, Texas, USA), sendo investigador do Howard Hughes Medical Institute desde 1991 e professor do Molecular and Cellular Physiology, Stanford University, desde 2008.

AGRADECIMENTOS

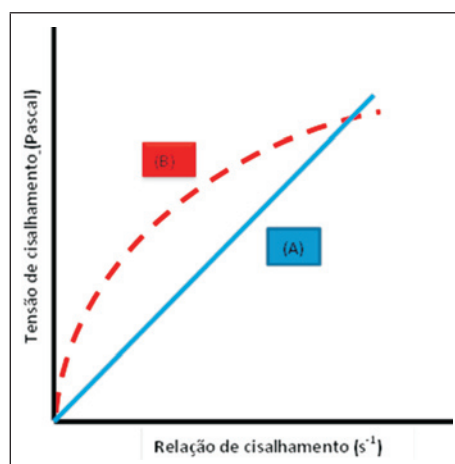
A SPHM AGRADECE OS APOIOS RECEBIDOS NO ANO DE 2013



ERRATA

TEMA 7 de CONCEITOS SOBRE HEMORREOLOGIA E MICROCIRCULAÇÃO HUMANAS

É republicada a versão correcta a figura 4, em substituição da que foi inserida na página 15 do Boletim da SPHM, vol 28 (3), 2013.



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 Hemorrhology 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