

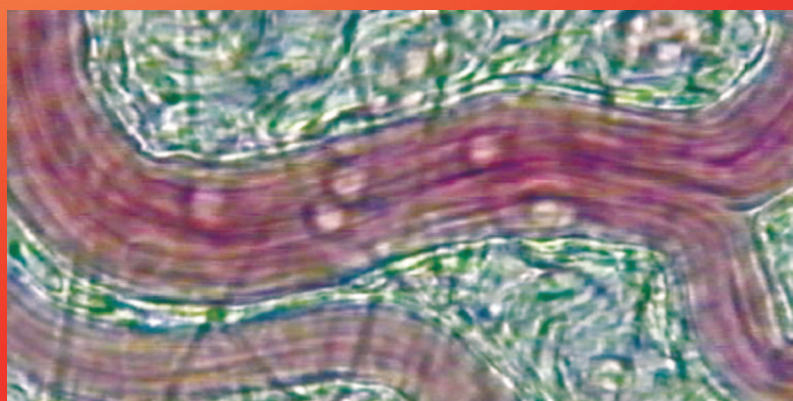


publicação semestral

Julho-Dezembro

vol. 31 n.º 2 2016

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: Jean-Frederic Brun (França), Greet Schmid-Schoenbein (EUA), Nadia Antonova (Bulgária), Yukihide Isogai (Japão). **Coordenador Editorial:** João Martins e Silva.

Vol. 31 n.º 2 Julho-Dezembro 2016

Sumário / Summary

NOTA DE ABERTURA/EDITORIAL

- Difusão Científica 3
Carlota Saldanha

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW ARTICLE

- Effects of chronic dietary nitrate intake in body composition of patients with essential hypertension 5
- Efeito da ingestão crónica de nitratos na composição corporal de indivíduos com hipertensão essencial
Sara Lopes Pereira, Carlos Moreira, José Braz Nogueira, Manuel Bicho

ATUALIZAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS/ARCHIVE

- Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives 12
- Hemorreologie clinique. Concept, physiopathologie et applications aux maladies vasculaires 13
- Red blood cells in retinal vascular disorders 15

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 respetivos 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 (2014-2016)

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> Prof. Doutor 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. ^a Sandra Maria Maurício Hilário Pires	Comissão de Delegados / Committee of Delegates
<i>Secretários-Adjuntos</i> Prof. ^a Doutora Alice Santos Silva Dr. Mário Manuel M. G. Marques 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

Axel Pries (Alemanha)
David Lominadze (Estados Unidos)
Friedrich Jung (Alemanha)
Gregório Caimi (Itália)
J. Braz Nogueira (Portugal)
J. Fernandes e Fernandes (Portugal)
Jean Frederic Brun (França)
Jerard Nash (Reino Unido)
João Morais (Portugal)
José M. Ferro (Portugal)
Nadia Antonova (Bulgária)

Individualidades / / Distinguished Members

A. Diniz da Gama (Portugal)
A. M. Ehrly (Alemanha)
Carlos Ribeiro (Portugal)
Fernando Lacerda Nobre (Portugal)
Helbert J. Meiselman (EUA)
Helena Saldanha Oliveira (Portugal)
J. Esperança Pina (Portugal)
J.M.G. Toscano Rico (Portugal)
Jean François Stoltz (França)
Joaquim Silva Carvalho (Portugal)
John A. Dormandy (Grã-Bretanha)
John Edward Tooke (Grã-Bretanha)

Luís Providência (Portugal)
Luís Teixeira Diniz (Portugal)
M. Freitas e Costa (Portugal)
Manuel Carrageta (Portugal)
Mário Andreia (Portugal)
Michel Boisseau (França)
Políbio Serra e Silva (Portugal)
Rafael Ferreira (Portugal)
Ricardo Seabra Gomes (Portugal)
Sandro Forconi (Itália)
Yukihide Isogai (Japão)

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 transiluminação. No interior do vaso sanguíneo visualizam-se leucócitos a interagir com a parede vascular. Imagem obtida por Henrique Sobral do Rosário (Instituto de Biopatologia Química – Prof.^a Doutora Carlota Saldanha, Faculdade de Medicina de Lisboa; Unidade de Biopatologia Vascular, Instituto de Medicina Molecular)

Esta publicação foi subsidiada por:

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

O **Boletim (ISSN 2182-6005)** é publicado semestralmente pela Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação. **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

DIFUSÃO CIENTÍFICA

Há uns 20 anos perguntei a um jovem médico como ocorria a passagem dos eritroblastos a eritrócitos. Não sabia, reagiu mal à questão porque era e continua a ser muito exigente consigo próprio. Naturalmente, estão a pensar que foi uma linha de investigação que iniciámos. Enganam-se, esta e muitas mais perguntas têm sido respondidas por grupos de investigadores com dinheiro e muita “massa crítica”. Infelizmente, muito bons projetos nunca foram subsidiados, mas isto é outra história que poderei contar e ser descrita também por muitos da minha geração e/ou posteriores. Acredito, que a razão subjacente já tem um ou mais genes nos humanos que se perpetuará, infelizmente.

Porque recordo hoje um episódio de há 20 anos? Ao folhear o livro, do António Piedade, intitulado “Íris Científica 3” (1.ª Edição Coimbra, Novembro 2016) na crónica “Novas sobre os glóbulos vermelhos” deparei-me com uns parágrafos na página 120, que transcrevo...

“Para isto contribuiu uma descoberta publicada num artigo na revista Science em Abril de 201323. Uma equipa de investigadores suíços (da Escola Federal Politécnica de Lusanne) e espanhóis (do Centro de Regulação Genómica de Barcelona) descobriu os mecanismos moleculares que regulam um passo importante na formação dos eritrócitos conhecidos por mitofagia.

Este consiste na eliminação das mitocôndrias (organelos intracelulares envolvidos na respiração celular, assim como em outros processos essenciais da vida) presentes no citoplasma das células hematopoiéticas. Era conhecido há muito tempo, mas a descoberta publicada identifica uma cascata de reações envolvendo proteínas (o sistema KRAB/KAP1 e micro RNAs que regulam a sua transcrição) que em concreto modulam de uma forma subtil e sofisticada a degradação das mitocôndrias presentes no eritroblasto precursor do eritrócito.

Esta descoberta desvenda um novo potencial alvo terapêutico, não só para as doenças que envolvem uma deficiente formação dos glóbulos vermelhos, mas também para outras doenças em que um mau funcionamento das mitocôndrias é verificado.

Por fim, este conhecimento vem potenciar a possibilidade de produção de eritrócitos em laboratório e assim resolver problemas de saúde relacionados com estas células essenciais à vida.”

António Piedade, agradeço-lhe o seu livro e louvo a sua dedicação à divulgação científica que estendo a tantos outros que também e tão bem a praticam.

Acrescento que os estudos, “in vivo”, “in vitro” e “ex vivo” sobre os mecanismos de manipulação de efluxo e manutenção de monóxido de azoto (NO), nos glóbulos vermelhos, que temos desenvolvido, contribuirão para o sucesso das transfusões sanguíneas. Este ano na 18th European Conference on Clinical Hemorheology and Microcirculation ocorrida em Lisboa, em Março passado (www.hemorreologia.com).

com e editorial do BSPHM do número anterior), acrescentámos mais desenvolvimentos sobre os processos de sinalização biomolecular do NO. A possibilidade de modulação intraglobular da concentração de NO pela exposição de biomoléculas/compostos, (exógenas e endógenas) à membrana do eritrócito acrescenta conhecimento necessários à compreensão das propriedades hemorreológicas, antioxidantes, vaso dilatadoras ou vasoconstritoras mediadas pelo NO do eritrócito.

Recordo, que o BSPHM tem como alvos as sociedades civil e científica. Para todos que o lerem desejo em nome da SPHM um Santo e Feliz Natal e que cada um continue a fazer sempre o seu melhor, agora e no ano de 2017.

Carlota Saldanha
Presidente da SPHM

EFFECTS OF CHRONIC DIETARY NITRATE INTAKE IN BODY COMPOSITION OF PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION

EFEITO DA INGESTÃO CRÓNICA DE NITRATOS NA COMPOSIÇÃO CORPORAL DE INDIVÍDUOS COM HIPERTENSÃO ESSENCIAL

Sara Lopes Pereira^{1*}, Carlos Moreira², José Braz Nogueira², Manuel Bicho^{1,3}

ABSTRACT

Introduction: Endothelial dysfunction is intimately related to the pathophysiology of essential hypertension. It courses with abnormal nitric oxide synthase activity but can also be attenuated by environmental factors such as diet. The main goal of this study was to analyze if a nitrate rich diet would modify the metabolic and cardiovascular outcomes in hypertensive patients. **Methods:** Experimental study design (pilot study) involving 12 hypertensive patients randomized to a nitrate rich diet (≥ 185 mg/d) or to a standard nitrate diet (< 185 mg/d) each for a 3 month period. **Results:** During the nitrate diet there was a decrease in body fat percentage ($-1,7 \pm 1,2\%$; $p=0,044$; $h^2_G=0,04$) which correlated to a simultaneous decrease in vitamin E consumption ($r=0,814$; $p=0,001$). All the other metabolic and cardiovascular outcomes exhibited a trend to be adversely affected by dietary nitrate. **Conclusion:** Dietary nitrate reveals ambiguous effects in clinical management of essential hypertension, and is likely dependent on the global diet profile in antioxidant and fat intakes.

Keywords: nitric oxide, nitrates, diabetes, hypertension

RESUMO

Introdução: A disfunção endotelial encontra-se associada com fisiopatologia da hipertensão essencial. A sua evolução relaciona-se com as anomalias na atividade das sintases do óxido nítrico e pode ser atenuada por fatores ambientais como a dieta. O objetivo do estudo foi determinar se uma dieta enriquecida em nitratos modifica a resposta metabólica e cardiovascular na hipertensão arterial. **Métodos:** Estudo experimental cruzado (estudo piloto), envolveu 12 indivíduos com hipertensão arterial aleatorizados para uma dieta rica em nitratos (≥ 185 mg/d) ou para uma dieta padrão (< 185 mg/d), cada uma com a duração de 3 meses. **Resultados:** Durante a dieta nitratos verificou-se uma diminuição da percentagem de massa gorda corporal ($-1,7 \pm 1,2\%$; $p=0,044$; $h^2_G=0,04$), que se correlacionou com a redução concomitante do consumo de vitamina E ($r=0,814$; $p=0,001$). Os restantes parâmetros metabólicos e cardiovasculares foram tendencialmente agravados com o consumo de nitratos. **Conclusão:** O consumo de nitratos apresenta efeitos ambíguos no controlo clínico da hipertensão essencial, sendo potencialmente dependente da composição geral da dieta em antioxidantes e lípidos.

Palavras-chave: óxido nítrico, nitratos, hipertensão

¹ Laboratório de Genética, ISAMB Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

² Serviço de Medicina 1, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte, Lisboa, Portugal

³ Instituto de Investigação Científica Bento da Rocha Cabral, Lisboa, Portugal

*saralopespereira@gmail.com

INTRODUÇÃO

O óxido nítrico (NO) é um radical livre gasoso de carácter lipofílico que a nível vascular modula a vasodilatação dependente do endotélio, a pressão arterial, a agregação plaquetária e a resposta imunitária e inflamatória à lesão vascular ou aterosclerótica. No sistema imunitário o NO desempenha funções efectoras e imunorreguladoras, atuando como agente anti- e pro-inflamatório ou como uma imunotoxina. Em condições homeostáticas o NO é formado a partir da reação catabólica da L-arginina com o oxigénio molecular que é catalizada pelas isoformas do NO. A ação benéfica ou deletéria do NO como mensageiro químico depende do contexto celular envolvido na regulação das quantidades geradas e o período de duração da sua síntese¹.

A disfunção endotelial é reconhecida como a principal comorbilidade da doença cardiovascular (CDV), mas atualmente sabe-se que as anomalias relacionadas com o endotélio podem preceder o desenvolvimento de eventos CDV adversos e pode ainda relacionar-se com o risco CDV futuro. A disfunção endotelial na hipertensão arterial (HTA) parece encontrar-se associada a um desequilíbrio relacionado com uma síntese diminuída de NO, com a sobreprodução de espécies reativas de oxigénio (como o anião superóxido) e com a supressão das defesas celulares antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas².

Alternativamente, a síntese de NO endógeno pode advir da reação de acidificação do nitrito de origem alimentar no sistema digestivo³. O consumo de nitratos e de nitritos na dieta pode contribuir para cerca de metade da concentração de NO no organismo e ainda participar em importantes reações de nitratação e de nitrosação com ácidos gordos e proteínas com efeitos tanto benéficos como prejudiciais no sistema vascular⁴. Porém, estas reações podem ser inibidas pela presença de antioxidantes como as vitaminas C e E e os flavonoides. Em meio gástrico estes antioxidantes promovem também a formação de NO e previnem a ocorrência de reações de nitrosação ao competirem com os agentes nitrosantes para o grupo amina⁴.

Por este motivo, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito uma dieta rica em nitratos/nitritos de origem vegetal (DN) em comparação com uma dieta padrão (DP) na resposta metabólica e cardiovascular de indivíduos com HTA.

MÉTODOS

Estudo analítico de intervenção, longitudinal prospetivo experimental cruzado (estudo piloto). Recrutaram-se indivíduos com diagnóstico de HTA definida por valores de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) superiores a 140 mmHg e/ou a 90 mmHg, respetivamente, ou que se encontrassem a fazer medicação anti-hipertensiva, não relacionados entre si, de ambos os sexos, de idade ≥ 45 anos e $IMC \geq 25$ kg/m², a partir da Consulta de Hipertensão do Hospital de Santa Maria. Foram excluídos os indivíduos com insuficiência renal, que referissem uma perda de peso $>10\%$ nos 6 meses anteriores ao início da sua participação, ou que se encontrassem a fazer medicação/ suplementação com nitratos, glucocorticoides ou para a perda de peso. Os critérios da Declaração de Helsínquia foram cumpridos tendo sido obtido o consentimento informado de todos os participantes. O protocolo de investigação foi aprovado pela Comissão de Ética do CHLN.

Após seleção de elegibilidade os indivíduos foram aleatorizados para a DN (≥ 185 mg/dia de nitratos) ou para a DP (<185 mg/dia de nitratos) cada uma por um período de 90 dias, ao fim do qual se realizou o cruzamento para a intervenção alternativa. A aleatorização procedeu-se através de uma sequência aleatória de números gerada por computador. No momento inicial e no final do 3.º mês os participantes receberam um ensino alimentar e um plano nutricional de 7 dias com as características da dieta aplicada e respetivo ajustamento calórico (1500 kcal/dia para as mulheres e 1800 kcal/dia para os homens). A terapia nutricional seguiu no geral as recomendações da *American Heart Association*. Os dados foram colhidos no momento inicial, ao 3.º e 6.º mês de intervenção.

Os dados socio-demográficos e anamnese clínica foram obtidos através de questionário por entrevista. O nível de atividade física foi determinado pelo Questionário Internacional de Atividade Física (versão curta). O peso e a massa gorda corporal foram avaliados numa balança com impedância elétrica tetrapolar (Tanita® BC-545). O perímetro abdominal foi avaliado com uma fita métrica extensível e para a estatura foram utilizados os valores indicados no documento de identificação pessoal.

O consumo alimentar e a adesão às intervenções foi determinada por diário alimentar de 3 dias em cada fase do estudo. A análise dos diários foi realizada no software Food Processor® ESHA, cuja base de dados foi adaptada aos alimentos portugueses e complementada com os valores nutricionais de nitratos, nitritos, nitrosaminas, conteúdo total em flavonoides, índice glicémico e carga glicémica, de acordo com as informações publicadas em estudos de relevância (5–7).

A pressão arterial casual foi aferida pelo método oscilométrico utilizado um esfigmomanómetro de braço (Omron® Intellisense 705it). A velocidade de onda de pulso (VOP) aórtica foi avaliada de acordo com o método Sphygmocor⁸, tendo-se utilizado micromanómetro de alta-fidelidade (SPC-301).

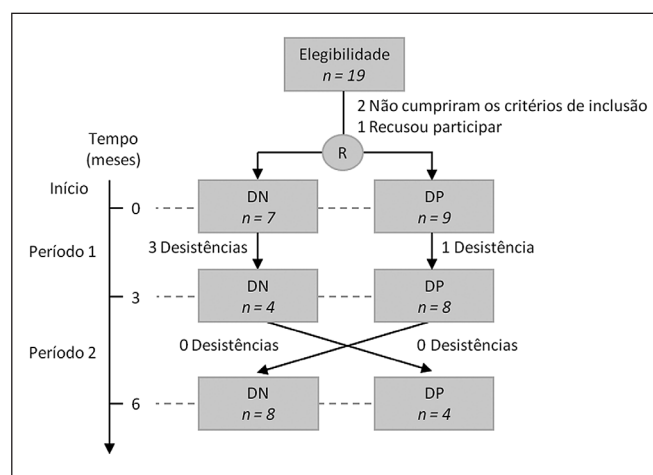
Para determinação dos valores de glicemia em jejum, de HbA1C, de colesterol total e frações LDL e HDL, triglicéridos e proteína C-reativa foram colhidos 6 mL de sangue por venipunção para um tubo com EDTA e de 3 mL de sangue para um tubo seco (sem EDTA) e analisados de acordo com os protocolos usuais. A quantificação da hemoglobina realizou-se pelo método da cianomethemoglobina num espectrofotómetro. A atividade da FA (EC 3.1.3.2.) foi determinada por método espectrofotométrico conforme adaptação do descrito por Dissing num espectrofotómetro UV/Vis da Unicam. A atividade da MHbR (EC 1.6.2.2.) foi determinada por método espectrofotométrico adaptado ao método de Board e as absorvências foram lidas num espectrofotómetro Ultrospec III da Pharmacia-LKB. Todas as leituras foram realizadas em duplicado.

De acordo com as recomendações de Senn para análise de estudos cruzados, empregou-se a ANOVA univariada para descrever as características iniciais dos participantes e a ANOVA para medidas repetidas para descrever os resultados em relação às dietas testadas, com ajustamento ao co-diagnóstico de DM2. A intensidade do efeito das dietas foi calculado pelo h^2_G de acordo com as recomendações de Bakerman e a relação das variações dos resultados entre as dietas com os fatores nutricionais foi calculada pelo r de Pearson. Os dados foram testados para o efeito do período através da ANOVA para medidas repetidas. O efeito residual (*carry-over*) foi excluído da análise dado que a semivida do nitrato é inferior a 8h¹. Os valores-p <0,05 foram considerados estatisticamente significativos e a potência para o teste estatístico foi

determinada a 80%. Para a análise estatística foi utilizado o software SPSS® (Statistical Package for Social Sciences) versão 19.0.

RESULTADOS

O estudo decorreu entre Abril de 2011 e Março de 2012 e envolveu 12 indivíduos que completaram as 2 intervenções nutricionais. Os voluntários foram contactados antes de cada avaliação com vista à redução das perdas por *follow-up*, que se registaram apenas no 1.º período (25%; n=4). O principal motivo para a desistência do participante na continuação do estudo foi a alegação de insuficiência económica para deslocações ao hospital (n=3). Um caso foi ainda considerado como desistência devido à falta de comparência à 2.ª avaliação do estudo. Dos 12 participantes incluídos na análise final, 4 iniciaram a dieta nitratos no 1.º período do estudo e 8 iniciaram esta dieta no 2.º período (Figura 1).



DN, Dieta nitratos. DP, Dieta padrão.

Figura 1. Desenho do estudo.

A amostra foi constituída por indivíduos de raça caucasiana e africana (75%, 25% respetivamente) com uma média de idades de 51,3±11,4 anos, de ambos os sexos (75% homens, 25% mulheres), tendo envolvido alguns casos com co-diagnóstico de diabetes tipo 2 (DM2) para além da HTA (25%) (Quadro 1). O consumo de nitratos e de nitritos encontrou-se de acordo com as estatísticas europeias (Quadro 2). Dado a di-

Quadro 1. Características gerais dos participantes

Características gerais	Amostra (n=12)*
Cafê (unidades/dia)	2 ± 2
Álcool (g/d)	30,0 ± 33,3
Tabaco	2 (17%)
Nível de atividade física	
Baixo	4 (33%)
Médio	5 (42%)
Alto	3 (25%)
Medicação	
ARA II	5 (42%)
Diuréticos	3 (25%)
Beta bloqueadores	2 (17%)
Bloqueadores canais Ca ²⁺	2 (17%)
Estatinas	10 (83%)
Anticoagulantes	3 (25%)
Biguanidas	3 (25%)

Os valores representam média±DP para as variáveis contínuas e frequências absolutas (frequências relativas) para as variáveis qualitativas. ARA II, Antagonistas dos receptores de angiotensina II

mensão reduzida da amostra e para atenuar o potencial viés induzido pela sua heterogeneidade, procedeu-se à análise estatística ajustada à concomitância de DM2 com a HTA.

A variação intencional do consumo de nitratos entre as dietas foi 75,6±13,9 mg/d (p=0,301) mas revelou um efeito prático baixo na amostra estudada ($h^2_G=0,02$). Na análise exploratória verificou-se um consumo superior de flavonoides totais (+5,7±16,6 mg/d; p=0,011; $h^2_G=0,13$) e uma redução do consumo de lípidos totais (-2,9±4,0 g/d; p=0,012; $h^2_G=0,06$), de MUFA (-1,3± 1,4 g/d; p=0,001; $h^2_G=0,09$) e de vitamina E (-0,2±0,9 mg/d; p=0,035; $h^2_G=0,14$), durante a DN. Não foram encontradas diferenças ou relações entre o consumo de arginina, de ácidos gordos polinsaturados, do rácio w6:w3, de colesterol, de ácido fólico, folato e de vitamina C.

Dos parâmetros clínicos analisados foram apenas detetadas diferenças significativas na massa gorda corporal dos participantes que se registou inferior durante a DN (-1,7±1,2%; p=0,044; $h^2_G=0,04$). Os restantes resultados antropométricos revelaram também uma tendência para a redução durante a dieta testada, assim como a atividade da redutase da methemoglobina (MHbR). Contudo, todos os outros parâmetros não revelaram diferenças significativas ou efeito prático durante a DN. Na análise exploratória da relação

da redução da massa gorda corporal com os fatores nutricionais verificou-se que aquele que mais contribuiu para este fenómeno foi a redução do consumo de vitamina E (r=0,814; p=0,001).

DISCUSSÃO

O presente trabalho constituiu o primeiro estudo de uma série de trabalhos que descreveu o efeito a médio prazo do consumo de uma dieta rica em nitratos no contexto de uma intervenção nutricional de nível ecológico e numa doença metabólica de base complexa. O carácter exploratório deste estudo piloto tornou possível analisar importantes interações fenótipo-nutriente e nutriente-nutriente. O desenho cruzado permitiu reduzir o viés inerente à variabilidade entre os indivíduos em estudos de associação fenotípica a fatores ambientais.

A amostra estudada apresentou um risco CDV elevado e diversas características do síndrome metabólico, num contexto de diabetes, hipertensão, dislipidemia ou toma regular de medicação antidiabética, anti-hipertensiva e hipocolesterolimante⁹. No momento inicial verificou-se que embora a pressão arterial se encontrasse clinicamente controlada (PAS<140 mmHg e/ou PAD<90 mmHg) e sem alterações significativas da função aórtica (VOP<12,0 m/s) constatou-se a ocorrência de anomalias da glicemia em jejum na maioria dos participantes (>100 mg/dL), para além dos casos de DM2 identificados *à priori*¹⁰. Os valores de colesterol total encontraram-se dentro das recomendações de tratamento para a doença CDV (<200 mg/dL), mas os níveis de LDL-c, de colesterol não HDL e de triglicéridos registaram-se acima das recomendações para indivíduos de elevado risco CDV (LDL-c<100 mg/dL; colesterol não HDL<130 mg/dL)¹⁰. Do mesmo modo, os valores de HDL-c apenas se encontraram dentro das recomendações nos homens (homens >40 mg/dL; mulheres >50 mg/dL)¹⁰. A atividade da MHbR encontrou-se dentro dos valores documentados para a população geral¹¹. A atividade da fosfatase ácida revelou-se diminuída devido às características de síndrome metabólico da amostra. Alguns estudos revelam uma associação da variante fenotípica desta enzima para uma atividade de mais reduzida, com estados de obesidade e de propensão para valores de glicemia superiores¹².

Quadro 2. Resultados da intervenção nutricional

	Dieta inicial ^a	Diets testadas ^b		P
		Padrão (n=12)	Nitratos (n=12)	
Resultado principal				
PAS (mmHg)	139±33	132 ± 6	139 ± 8	0,814
PAD (mmHg)	80±13	77 ± 3	79 ± 3	0,093
Resultados clínicos				
Peso (kg)	89,2±16	89,6 ± 4,9	88,1 ± 5,3	0,478
IMC (kg/m ²)	30,9±4,8	31,1 ± 1,4	30,6 ± 1,6	0,540
Massa gorda (%)	31,2±7,3	32,8 ± 2,3	31,2 ± 1,9	0,044*
Per. Abd. (cm)	105,8±9,7	103,7 ± 3,2	103,9 ± 3,1	0,616
VOP (m/s)	11,5±4,6	11,7 ± 1,1	12,7 ± 1,1	0,084
Glicemia (mg/dL)	104,5±13,2	112,0 ± 7,0	113,9 ± 6,6	0,064
HbA1C (%)	5,8±0,5	5,8 ± 0,2	5,8 ± 0,2	0,079
Colesterol-T (mg/dL)	189,8±43,4	187,8 ± 13,3	201,4 ± 14,3	0,133
HDL-c (mg/dL)	44,9±12,8	45,2 ± 2,9	49,2 ± 3,6	0,726
LDL-c (mg/dL)	118,6±40,4	105,2 ± 1,1	113,7 ± 0,1	0,093
Não HDL (mg/dL)	145,0±34,9	142,6 ± 12,3	152,2 ± 12,7	0,143
Triglicéridos (mg/dL)	186,9±120,1	148,3 ± 15,1	150,3 ± 9,7	0,542
MHBR (μmol/g Hb/min)	22,1±5,3	27,0 ± 1,3	25,0 ± 1,1	0,306
FA (μmol/g Hb/h)	109,9±68,0	117,2 ± 16,3	134,1 ± 10,0	0,289
Resultados nutricionais				
Nitratos (mg)	90,5±49,5	80,1 ± 11,1	155,7 ± 20,2	0,301
Nitritos (mg)	3,2±1,8	3,0 ± 0,4	3,0 ± 0,3	0,736
Nitrosaminas (μg)	1,4±0,9	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,577
Flavonóides (mg)	135,6±99,8	113,2 ± 13,9	118,9 ± 23,6	0,011*
Energia (kcal)	2295±1073	2227 ± 167	2178 ± 155	0,345
Proteína (g)	112,6±59,7	120,7 ± 8,3	119,2 ± 8,8	0,157
Glícidos (g)	241,9±140,3	243,5 ± 22,2	232,1 ± 17,8	0,699
Lípidos (g)	81,6±33,1	77,8 ± 6,6	75,0 ± 6,5	0,012*
MUFA (g)	32,1±12,5	30,8 ± 2,4	29,5 ± 2,5	0,001*
Vitamina E (mg)	7,9±5,8	8,1 ± 1,1	7,8 ± 1,1	0,027*

^a Os valores representam média±DP. ^b Os valores representam média±EPM. *Valor estatisticamente significativo para p<0,050. FA, fosfatase ácida; IMC, índice de massa corporal; MHBR, redutase da methemoglobina; PAD, pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; Per.Abd., perímetro abdominal; VOP, velocidade de onda de pulso.

A nível nutricional constatou-se no momento inicial que o consumo de nitratos e de nitritos se encontrava de acordo com as estatísticas europeias (30-181 mg/d e 0-20 mg/d, respetivamente) e que se registaram alguns agravantes do risco CDV como um consumo de uma dieta rica em gordura saturada (>7% do consumo calórico total) e colesterol (>200 mg/d), com efeito pró-inflamatório (rácio w6:w3 de 5:1)^{1,13}. Em contrapartida, os participantes revelaram alguns fato-

res de proteção CDV como um baixo índice de sedentarismo, um consumo moderado de álcool (20-72 g/d) e uma prevalência reduzida de hábitos tabágicos¹³.

A adesão dos participantes foi satisfatória dado que se atingiu apenas 84% do objetivo mínimo para o consumo de nitratos durante a DN (≥185 mg/d). Nesta dieta também se registou um consumo superior de flavonóides e inferior de lípidos, de MUFA e de vitamina E. O principal benefício que adveio da dieta nitratos

verificou-se a nível antropométrico, com a redução da massa gorda corporal e uma propensão para menores IMC, que melhor se correlacionou com a redução da ingestão de vitamina E. Esta relação presume-se ter sido encontrada devido à diminuição do consumo global de alimentos ricos em lípidos e vitaminas lipossolúveis durante a DN, tendo produzido a melhoria dos parâmetros antropométricos como a massa gorda. Porém seria expectável um efeito mais benéfico do aumento da ingestão de vitamina E já que este nutriente antioxidante tem sido associado à proteção CDV ao prevenir a peroxidação lipídica das partículas de LDL-c que conduzem ao desenvolvimento da placa aterosclerótica¹⁴.

Apesar da intervenção não ter produzido alterações relevantes nos marcadores da dislipidemia, da inflamação e da disfunção endotelial, verificou-se uma tendência para o agravamento geral do quadro clínico. Estes resultados são em parte corroborados por outro estudo onde se verificou que a ingestão de um sumo de beterraba rico em nitratos (434 mg/d) durante 15 dias não produziu efeitos na PAS, na função endotelial ou na sensibilidade à insulina apesar do aumento da concentração plasmática de nitratos e nitritos¹⁵. Outros trabalhos têm indicado efeitos promissores dos nitratos na redução da pressão arterial, da glicemia e da peroxidação lipídica^{16,17}. Note-se que estes estudos diferem do atual em relação ao método de suplementação empregado, verificando-se com frequência o enriquecimento da dieta em sais de nitrato (137-548 mg/d) ou de nitrito (50-1500 mg/L água/dia), em bebidas e alimentos padronizados como o sumo de beterraba (500-750 ml/d) e os espinafres (120-200 g/d), sempre de forma aguda ou por períodos de tempo ≤ 30 dias (16-18). Inclusive, o estudo da dieta DASH demonstrou um efeito atenuante da PAS e da PAD em indivíduos hipertensos após 8 semanas de ingestão de 4 a 5 porções de frutas e vegetais ricas em nitratos, equivalente a uma ingestão diária média de 785,6 mg/d nitratos e de 0,2 mg/dia de nitritos¹⁹. Porém o grupo incluído no estudo DASH apresentava um fenótipo de risco CDV substancialmente inferior em relação ao da presente amostra, dado que incluiu apenas pessoas saudáveis com PAS < 160 mmHg e/ou PAD < 95 mmHg, sem toma de medicação anti-hipertensiva, tendo excluído todos aqueles com DM2 e hiperlipidemia¹⁹.

Por este motivo, é possível assumir que com o aumento dos fatores de risco CDV, o consumo de uma

dieta rica em nitratos possa exercer efeitos ambíguos na resposta metabólica e CDV de indivíduos com HTA. Ao promoverem a síntese de NO, os nitratos dietéticos podem modular igualmente os seus efeitos ambivalentes na evolução da disfunção endotelial e do estado inflamatório. Por outro lado, é importante considerar a influência das características gerais da dieta na atividade biológica do NO. Juntamente com os nitratos, se tivesse ocorrido um consumo mais elevado de antioxidantes como a vitamina E e de lípidos insaturados durante a DN podia ter sido favorecida a ocorrência de importantes reações de nitração e potenciado os efeitos benéficos do NO relacionadas com a formação de nitrosotióis inibidores da agregação plaquetária, da quimiotaxia de neutrófilos e da ação dos macrófagos na lesão vascular, bem como na melhoria do perfil lipídico e da sensibilidade à insulina²⁰.

Contudo, os resultados devem ser interpretados com precaução, dado o tamanho amostral reduzido e a existência de fontes de viés como a impossibilidade de utilizar estimativas nacionais sobre o conteúdo em nitratos, nitritos, nitrosaminas e de flavonoides dos alimentos. Por outro lado, os valores de ingestão de nitratos observados durante a DN não atingiram significado estatístico na maioria das análises realizadas em relação à DP, devido à adesão dos participantes, pelo que alguns dos efeitos metabólicos dos nitratos não puderam ser observados ou evidenciados com potência estatística ou relevância clínica.

Em trabalhos futuros recomenda-se a utilização de tamanhos amostrais apropriados, que permitam aprofundar a análise da relação dos nitratos inorgânicos com a função endotelial em populações de elevado risco CDV e do estudo de interações nutriente-nutriente com relevância biológica. Será ainda oportuno considerar a influência de fatores genéticos com relevância funcional para a síntese de NO e que possam explicar qual o impacto da dieta nas diferentes respostas fenotípicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Hord N, Tang Y, Bryan N. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *Am J Clin Nut.* 2008;90:1-10.
2. Endemann D, Schiffrin E. Endothelial Dysfunction. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(8):1983-92.
3. Lundberg J, Weitzberg E. NO generation from inorganic nitrate and nitrite: Role in physiology, nutrition and therapeutics. *Arch Pharm Res.* 2009;32(8):1119-26.

4. Trostchansky A, Rubbo H. Nitrated fatty acids: Mechanisms of formation, chemical characterization and biological properties. *Free Rad Biol Med*. 2008;44(11):1887–96.
5. Griesenbeck J, Steck M, Huber Jr J, et al. Development of estimates of dietary nitrates, nitrites, and nitrosamines for use with the short willet food frequency questionnaire. *Nutr J*. 2009;8(16):doi:10.1186/1475–2891–8–16.
6. Bhagwat S, Haytowitz D, Holden J. USDA database for the flavonoid content of selected foods. Release 3.0 [Internet]. Maryland: U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service; 2011 p. 159. Available from: <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>
7. Atkinson F, Foster-Powell K, Brand-Miller J. International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care*. 2008;31(12):2281–2283.
8. Rajzer M, Wojciechowska W, Klocek M, et al. Comparison of aortic pulse wave velocity measured by three techniques: Complior, SphygmoCor and Arteriograph. *J Hypertens*. 2008;26(10):2001–7.
9. Grundy SM, Brewer S, Cleeman J, Smith S, et al. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation*. 2004;109(3):433–8.
10. Mancia G, Backer G, Dominiczak A, et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension. The task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2007;28:1462–536.
11. Silva A, Marinho C, Gonçalves M, et al. A diminuição da actividade enzimática das redutases da metahemoglobina e do glutatióno no eritrócito pode explicar a hipertensão associada à idade? *Rev Port Cardiol*. 2010; 29(3):403–12.
12. Apelt N, da Silva A, Ferreira J, et al. ACP1 genotype, glutathione reductase activity, and riboflavin uptake affect cardiovascular risk in the obese. *Metabolism*. 2009;58(10):1415–23.
13. National Institutes of Health – National Heart, Lung, and Blood Institute. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). Executive summary. 2001 p. 40. Report No.: 01-3670.
14. Pryor W. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med*. 2000;28(1):141–64.
15. Gilchrist M, Winyard P, Aizawa K, et al. Effect of dietary nitrate on blood pressure, endothelial function, and insulin sensitivity in type 2 diabetes. *Free Rad Biol Med*. 2013;60:89–97.
16. Webb A, Patel N, Loukogeorgakis S, et al. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*. 2008;51(3):784–790.
17. Carlstrom M, Larsen F, Nystrom T, et al. Dietary inorganic nitrate reverses features of metabolic syndrome in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *PNAS*. 2010;108(28):17716–20.
18. Bondonno C, Yang X, Croft K, et al. Flavonoid-rich apples and nitrate-rich spinach augment nitric oxide status and improve endothelial function in healthy men and women: a randomized controlled trial. *Free Rad Biol Med*. 2012;52(1):95–102.
19. Appel L, Moore T, Obarzanek E, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1997;336(16):1117–24.
20. Lidder S, Webb A. Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables and beetroot) via the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. *Br J Clin Pharmacol*. 2013;75(3):677–96.

EFFECTS OF DISTURBED FLOW ON VASCULAR ENDOTHELIUM: PATHOPHYSIOLOGICAL BASIS AND CLINICAL PERSPECTIVES

Chiu JJ*, Chien S*

Abstract

The vascular network carries blood throughout the body, delivering oxygen to tissues and providing a pathway for communication between distant organs. The network is hierarchical and structured, but also dynamic, especially at the smaller scales. Remodeling of the microvasculature occurs in response to local changes in oxygen, gene expression, cell-cell communication, and chemical and mechanical stimuli from the microenvironment. These local changes occur as a result of physiological processes such as growth and exercise, as well as acute and chronic diseases including stroke, cancer, and diabetes, and pharmacological intervention. While the vasculature is an important therapeutic target in many diseases, drugs designed to inhibit vascular growth have achieved only limited success, and no drug has yet been approved to promote therapeutic vascular remodeling. This highlights the challenges involved in identifying appropriate therapeutic targets in a system as complex as the vasculature. Systems biology approaches provide a means to bridge current understanding of the vascular system, from detailed signaling dynamics measured in vitro and pre-clinical animal models of vascular disease, to a more complete picture of vascular regulation in vivo. This will translate to an improved ability to identify multi-component biomarkers for diagnosis, prognosis, and monitoring of therapy that are easy to measure in vivo, as well as better drug targets for specific disease states. In this review, we summarize systems biology approaches that have advanced our understanding of vascular function and dysfunction in vivo, with a focus on computational modeling. [Physiol Rev. 2011 Jan;91(1):327-87]. PMID: 25839068.

* Division of Medical Engineering Research, National Health Research Institutes, Taiwan.

HEMORHEOLOGIE CLINIQUE. CONCEPT, PHYSIOPATHOLOGIE ET APPLICATIONS AUX MALADIES VASCULAIRES

Boisseau M-R*

Résumé

Il revient à A.L. Copley (1910–1992) d’avoir compris que le sang et la paroi des vaisseaux constituaient un organe unique, en ce sens que l’influence du contenu sur le contenant, objet de l’hémorhéologie, est déterminante. Sous l’effet de la pression motrice, le flux sanguin se dispose en lames concentriques (flux laminaire), développant une friction entre elles, ou shear stress, accentuée à la paroi fortement «cisailée». Au centre du vaisseau, où les lames sont moins individualisées, les hématies épousent les lames en se déformant longitudinalement rendant le sang fluide (viscosité basse). Dans tous les secteurs vasculaires où la pression diminue et le shear stress est faible, le sang est plus visqueux du fait de l’apparition de gros agrégats de globules rouges proportionnels au taux du fibrinogène (phénomène de thixotropie, agrégation érythrocytaire), dérégulant et diminuant le cisaillement de la paroi. Cet aspect biphasique du shear stress est caractéristique de la réactivité du flux sanguin vis-à-vis du vaisseau. L’exploration de la viscosité se fait par la viscosité plasmatique et du sang total et surtout la mesure du temps et des seuils de l’agrégation des hématies. La mécanotransduction du shear stress s’effectue par des récepteurs membranaires endothéliaux (caveoli, canaux ioniques, intégrines), puis par les systèmes des mitogen activated protein (MAP-kinases), enfin par des facteurs de transcription qui activent des zones spécifiques des promoteurs géniques. Aujourd’hui plus de 10 000 gènes sont connus pour être influencés par le shear. Au niveau des artères, le cisaillement assure la production du NO (oxyde nitrique), agent vasodilatateur et de la désactivation plaquettaire. La friction de la paroi endothéliale est souvent affaiblie, sous l’effet du flux pulsé et dans des zones situées aux embranchements. La sécrétion de NO est alors faible et les fonctions, sous-régulées par le shear stress, sont libérées, surtout l’adhésion-migration des leucocytes. Au niveau veineux la variation des cisaillements est encore plus variable, en particulier au niveau des valvules. La microcirculation fonctionne en unités fonctionnelles comportant un versant artériel précapillaire vasoactif, des capillaires dont le diamètre moyen est inférieur à celui des hématies et un versant veinulaire postcapillaire, à débit faible, où les shears stress sont bas. Les cellules endothéliales à ce niveau sont très actives pour l’adhésion-migration leucocytaire, l’inflammation et l’hémostase. L’athérosclérose a, comme point de départ, les zones où les monocytes macrophages pénètrent dans la paroi et véhiculent une grande partie des lipoprotéines constituant la plaque. L’hyperagrégation des hématies, consécutive aux facteurs de risque qui augmentent le fibrinogène, accentue les variations du shear à la paroi, ce qui active le récepteur des low density lipoprotein (LDL), accélère la formation des plaques et les étend aux gros troncs. L’artériopathie des membres inférieurs développe largement de tels troubles rhéologiques, actifs aussi sur l’ischémie. Il

* Laboratoire de pharmacologie, université Victor-Segalen Bordeaux 2, 146, rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux cedex, France.

en est de même au cours du diabète, où s'ajoute l'effet des pics d'hyperglycémie, de la viscosité de l'HbA1C et des hématies glycatées, le tout étant actif sur la rétinopathie. Les accidents vasculaires cérébraux ischémiques sont accompagnés d'hyperagrégation des hématies influençant le pronostic, surtout chez les personnes âgées. L'accident vasculaire cérébral (AVC) lacunaire de Binswanger présente une forte hyperviscosité. Les troubles hémorhéologiques sont aggravants au cours de l'occlusion veineuse de la rétine, de la surdité brusque, des formes secondaires de la maladie de Raynaud. Ils sont déterminants au cours de l'insuffisance veineuse chronique, où ils contribuent à la croissance de la varice et à la genèse de l'ulcère, en facilitant l'adhésion-migration des leucocytes. L'hémodilution est proposée dans les épisodes aigus, surtout l'AVC. La restauration du débit (pontage), la lutte contre les facteurs de risque, la contention élastique et les traitements vasoactifs réduisent l'influence des troubles rhéologiques dans les maladies vasculaires. **[EMC – Cardiologie-Angéiologie, Vol 1, Issue 4, November 2004, Pages 364-381].**

RED BLOOD CELLS IN RETINAL VASCULAR DISORDERS

Agrawal R*, Sherwood J, Chhablani J, Ricchariya A, Kim S, Jones PH, Balabani S, Shima D.

Abstract

Microvascular circulation plays a vital role in regulating physiological functions, such as vascular resistance, and maintaining organ health. Pathologies such as hypertension, diabetes, or hematologic diseases affect the microcirculation posing a significant risk to human health. The retinal vasculature provides a unique window for non-invasive visualisation of the human circulation in vivo and retinal vascular image analysis has been established to predict the development of both clinical and subclinical cardiovascular, metabolic, renal and retinal disease in epidemiologic studies. Blood viscosity which was otherwise thought to play a negligible role in determining blood flow based on Poiseuille's law up to the 1970s has now been shown to play an equally if not a more important role in controlling microcirculation and quantifying blood flow. Understanding the hemodynamics/rheology of the microcirculation and its changes in diseased states remains a challenging task; this is due to the particulate nature of blood, the mechanical properties of the cells (such as deformability and aggregability) and the complex architecture of the microvasculature. In our review, we have tried to postulate a possible role of red blood cell (RBC) biomechanical properties and laid down future framework for research related to hemorrheological aspects of blood in patients with retinal vascular disorders. [Blood Cells Mol Dis. 2016 Jan;56(1):53-61.]. PMID: 26603725.

* National Healthcare Group Eye Institute, Tan Tock Seng Hospital, Singapore; Institute of Ophthalmology, University College London, London, United Kingdom; Department of Mechanical Engineering, University College London, London, United Kingdom; School of Material Science and Engineering, Nanyang Technological University, Singapore. Electronic address: rupesh_agrawal@tsh.com.sg



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