

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).

Vol. 25 n.º 4 Outubro, Novembro, Dezembro 2010

Sumário / Summary

NOTA DE ABERTURA / EDITORIAL

- Eritrocito e exercício físico 3
- *Red cell and physical exercise*
Carlota Saldanha

SIMPÓSIO / SYMPOSIUM

ARTIGOS DE REVISÃO / REVIEW ARTICLES

- Forças hemodinâmicas em aterosclerose – Repercussões sobre as características e actividade endotelial 6
- *Hemodynamic forces in atherosclerosis – Repercussions on the endothelial characteristics and activity*
Henrique S. Rosário
- *Is atherosclerosis an inflammatory disease?* 14
- *É a aterosclerose uma doença inflamatória?*
João Eurico Fosneca
- Consequências vasculares e circulatórias da aterosclerose. O modelo carotídeo 17
- *Vascular and circulatory consequences of atherosclerosis. The carotid model*
L. Mendes Pedro

ACTUALIZAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS / ARCHIVES

- Effects of hydration and dehydration on blood rheology in sickle cell trait carriers during exercise 23
- Blood rheology abnormalities and vascular cell adhesion mechanisms in sickle cell trait carriers during exercise 24
- Hemodilution therapy using automated erythrocytapheresis in central retinal vein occlusion: results of a multicenter randomized controlled study 25

NOTÍCIAS / NEWS AND INFORMATION

- Prémio Nobel da Medicina 2010 27
- Próxima reunião mundiais sobre microcirculação 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 (2007-2009)

Direcção / 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 A. Diniz da Gama	<i>Presidente</i> Prof. Doutor Victor Oliveira
<i>Vice-Presidentes</i> Prof. Doutor J. M. Braz Nogueira Prof. Doutor Carlos Perdigão	<i>1.º Secretário</i> Dr. João Paulo Guimarães	<i>1.º Vogal</i> Dr. ^a Maria Helena Baptista Manso Ribeiro
<i>Secretário-Geral</i> Dr. José António Pereira Albino	<i>2.º Secretário</i> Dr. Miguel Frederico Leal Galvão	<i>2.º Vogal</i> Dr. Carlos Manuel dos Santos Moreira
<i>Tesoureiro</i> Prof. Doutor Flávio Reis	<i>1.º Secretário Suplente</i> Dr. Luís Sargento	Comissão de Delegados / Committee of Delegates
<i>Secretários-Adjuntos</i> Prof. Doutor Henrique Luz Rodrigues Prof. Doutor J. Ducla Soares Dr. Jorge Lima	<i>2.º Secretário Suplente</i> Dr. Paulo Ferreira da Silva	<i>Delegado da Região Norte</i> – Dr. Manuel Campos <i>Delegado da Região Centro</i> – Dr. João Morais <i>Delegado da Região Sul e Regiões Autónomas</i> – Dr. Mário Marques

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

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

FILIAÇÃO INTERNACIONAL EUROPEAN SOCIETY FOR CLINICAL HEMORHEOLOGY EUROPEAN SOCIETY FOR MICROCIRCULATION

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

Esta publicação é subsidiada em 2010 por:

FCI: Fundação para a Ciência e Tecnologia (Ministério da Ciência e do Ensino Superior – Portugal)

Ao abrigo do: **Apoio do Programa Operacional Ciência, Tecnologia, Inovação do Quadro Comunitário de Apoio III**

O Boletim (ISSN 0872-4938) 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 Biopatologia Química, Faculdade de Medicina de Lisboa. **Endereço do Secretariado:** Apartado 4098, 1501-001 Lisboa Codex, Portugal. **Telefone** 217 985 136; **Fax:** 219 999 477 **Execução Gráfica:** Publicações Ciência e Vida, Lda. Apartado 44 – 2676-901 Odivelas. **Telef.:** 21 478 78 50; **Fax:** 21 478 78 59. **E-mail:** pub@cienciaevida.pt

ERITROCITO E EXERCÍCIO FÍSICO/RED CELL AND PHYSICAL EXERCISE

Algumas das propriedades e das funções do eritrócito são utilizadas como biomarcadores do exercício físico. A descrição da hemólise associada ao exercício físico vem de 1881, por R. Fleischer, que considerou o mecanismo hemolítico como a doença primária do sangue e, posteriormente, por L. Lichtwitz, em 1916, como um defeito dos glóbulos vermelhos. Muitos são os trabalhos publicados sobre a fisiopatologia do exercício físico relacionada com a hemólise. Esta deixou de ser uma particularidade apenas dos maratonistas ou praticantes de corrida para ser também de outras modalidades, tais como ciclismo, natação e futebol. Há no exercício físico comprometimento das concentrações sanguíneas de ferro, ferritina, haptoglobina, e hemoglobina.

Assim, a fragilidade osmótica eritrocitária, as concentrações da hemoglobina plasmática e da haptoglobina são considerados marcadores de hemólise dos praticantes das modalidades de corrida e de ciclismo. No entanto, nos corredores, os níveis de ferro e ferritina são inferiores aos dos ciclistas.

Estudos efectuados em praticantes das modalidades de natação, futebol e ciclismo evidenciaram ocorrências, no exercício, de marcadores de *stress* oxidativo no eritrócito, responsáveis e explicativos do aparecimento dos biomarcadores de hemólise, anteriormente atribuídos aos maratonistas.

Na tentativa de melhorar a compreensão do mecanismo de hemólise, o grupo de R. M. Leithauser interessou-se pela avaliação quantitativa das proteínas do citoesqueleto, verificando decréscimo das cadeias alfa e beta da espectrina do eritrócito em atletas submetidos a provas de resistência de ciclismo, em que essa diminuição estava associada (i) à intensidade do exercício e (ii) aos marcadores de *stress* oxidativo eritrocitário.

Os trabalhos efectuados com atletas de competição apontam para a ocorrência mantida de *stress* oxidativo e proteolítico, cujos marcadores devem ser tomados em conta para estabelecer limites de duração, intensidade e regularidade do exercício físico. O *stress* oxidativo manifesta-se a nível da proteína mais abundante na membrana eritrocitária, a banda 3, pela formação de agregados de elevado peso molecular visualizados por electroforese.

Embora o exercício moderado seja aconselhado como protector cardiovascular, a controvérsia resultante ainda continua e a sugestão que se pode retirar dos estudos efectuados apontam para o controlo regular da avaliação dos marcadores de activação leucocitária e eritrocitária, nomeadamente a peroxidação lipídica e a oxidação proteica. Estas preocupações diminuem para os atletas de resistência sujeitos a treino eficiente.

Apesar de haver condições fisiológicas capazes de explicarem a hemó-

lise no exercício, a preocupação com os níveis plasmáticos deficientes em ferro – passíveis de serem justificados pela própria hemólise, pela hematúria, suor ou hemorragia gastrointestinal – levou os investigadores a reflectir sobre o metabolismo do ferro e seus factores hormonais reguladores. Esta preocupação é evidente, tendo em conta que o ferro é um elemento fundamental na existência funcional da hemoglobina, transportadora de oxigénio aos tecidos, e na dos complexos moleculares da cadeia de transferência de electrões e translocação de prótons, que contribuem para a formação de energia química e água.

A hepcidina produzida no fígado é uma hormona reguladora do metabolismo do ferro que induz a inibição da ferroportina (com consequente diminuição, no enterócito, da absorção do ferro proveniente da dieta) e a acumulação do ferro no macrófago (resultante da destruição dos glóbulos vermelhos). O aumento da síntese e libertação de hepcidina pelo fígado é uma resposta à acção da citocina de fase aguda, a

IL-6, a qual aumenta em circulação tal como o factor de necrose tumoral alfa e a IL-1 β , quantificados em atletas ao fim da prova de maratona.

Este trabalho de K. Ostrowski associou ao exercício físico uma resposta inflamatória sistémica e, ainda, detectou IL-6 em biopsias musculares efectuadas após o exercício, cuja concentração de IL-6 aumenta com a consequente diminuição das reservas de glicogénio muscular. Roecker e o seu grupo quantificaram níveis elevados de hepcidina na urina de maratonistas.

Pode residir neste triângulo inflamação – exercício físico – hepcidina um reforço para explicar a diminuição do ferro em circulação. Daqui resulta, como aconselha D Trinder, a necessidade de multiplicar o estudo de Roecker.

Podemos dizer que a hemólise da pisada repetitiva e traumática dos corredores tem sido uma estrela no firmamento da investigação do exercício físico.

A todos um Bom Natal e que o futuro nos traga mais conhecimento.

Carlota Saldanha
Presidente da SPHM

REFERÊNCIAS

Robinson Y, Cristancho E, Boning D. Intravascular Hemolysis and Mean Red Blood Cell Age in Athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38: 480-483.
Schumacher Y O, Schmid A, Grathwohl D, Bultermann D, Berg A. Hematological Indices and Iron Status in Athletes of Various Sports and Performance. *Med Sci. Sports Exerc* 2002; 34: 869-875.
Peeling P, Dawson B, Goodman C, Landers G, Trinder D. Athletic Induced Iron Deficiency: New Insights Into The Role of Inflammation, Cytokines and Hormones. *Eur J Appl Physiol* 2008; 103: 381-391.

Nemeth E. Targeting the Heparin-Ferroportin Axis in the Diagnosis and Treatment of Anemias. *Advances in Hematology Volume 2010 (2010)*, Article ID 750643, 9 pages.
L. Roecker, R. Meier-Buttermilch, L. Brechtel, E. Nemeth, T. Ganz. Iron-regulatory protein hepcidin is increased in female athletes after a marathon. *Eur J Appl Physiol* 2005; 95: 569-571.
Peeling P, Dawson B, Goodman C, Landers G, Wiegand ET, Swinkels DW, Trinder D. Training Surface and Intensity: Inflammation, Hemolysis and hepcidin expression. *Med Sci Sports Exerc* 2009; 41:1138-1145.

“ACTUALIZAÇÃO SOBRE CAUSAS E REPERCUSSÕES DA ATEROSCLEROSE”

Este Simpósio, representado pela apresentação de três conferências sequenciais no âmbito do tema “Aterosclerose”, decorreu no dia 11 de Maio de 2010, na Aula Magna da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa¹. Constituiu a 1.ª parte da Sessão de Apresentação do livro *Bioquímica em Medicina*, em três volumes, editado pelo anterior e actual presidente da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, respectivamente, Professores J. Martins e Silva e Carlota Saldanha. O tema escolhido constituiu a evocação simbólica de um Seminário, como um dos formatos pedagógicos utilizados no ensino das disciplinas de Bioquímica Celular e Fisiológica naquela Faculdade, e dos que maior interesse suscitava entre os alunos.



¹ <http://news.fm.ul.pt/content.aspx?tabid=62&mid=393&cid=923>

FORÇAS HEMODINÂMICAS EM ATEROSCLEROSE – REPERCUSSÕES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS E ACTIVIDADE ENDOTELIAL / HEMODYNAMIC FORCES IN ATHEROSCLEROSIS – REPERCUSIONS ON THE ENDOTHELIAL CHARACTERISTICS AND ACTIVITY

Henrique S. Rosário¹

INTRODUÇÃO

A interacção entre hemodinâmica e o endotélio é um determinante importante da função cardiovascular. Tensão de cisalhamento é a força por unidade de superfície criada quando uma força tangencial (fluxo sanguíneo) actua sobre uma superfície (endotélio) — sempre que ocorre o fluxo, existe tensão de cisalhamento.

A mecanotransdução induzida por cisalhamento (a conversão de tensões mecânicas para respostas bioquímicas) é particularmente importante nas artérias, na qual o fluxo sanguíneo regula a estrutura e o tónus vascular. Esta regulação ocorre através da libertação de factores derivados do endotélio tais como monóxido de azoto, prostaglandinas, lipoxigenases, factores hiperpolarizantes, factores de crescimento e outras moléculas¹⁻⁵. Contrastando com as alterações observadas durante vasoregulação aguda, as alterações sustentadas da hemodinâmica local facilitam a remodelação adaptativa da parede arterial através da modulação da expressão génica e da síntese proteica na célula endotelial^{6,7}.

A célula endotelial é o elemento regulador essencial da função da parede vascular. Possui propriedades anticoagulantes e permite o controlo fisiológico do diâmetro vascular e a modulação da permeabilidade vascular. Também está envolvida como mediador na sinalização vascular dependente da inflamação aguda e crónica, cicatrização lesional e alterações fisiopatológicas como a aterogénese⁸.

O fluxo sanguíneo é o mediador mais importante destas funções e exerce os seus efeitos através de processos de mecanotransdução endotelial. Estas interacções entre tensão de cisalhamento e o endotélio são mecanismos homeostáticos de adaptação sendo simultaneamente, como acima foi referido, participantes-chave na fisiopatologia cardiovascular, particularmente no que diz respeito a localizações mais susceptíveis e a progressão da aterosclerose.

Na circulação arterial, a tensão de cisalhamento tem um papel decisivo na determinação de onde a maioria das patologias vasculares tem origem⁹, estando implicada no desenvolvimento de fenótipos endoteliais

¹ Professor auxiliar, Instituto de Bioquímica, Faculdade de Medicina de Lisboa, Unidade de Biologia Microvascular e Inflamação, Instituto de Medicina Molecular

associados tanto a vasoproteção como a susceptibilidade aumentada para aterosclerose^{10,11}.

TENSÃO DE CISALHAMENTO

Fenótipo endotelial

A tensão de cisalhamento elevada é geralmente benéfica pois promove a vasodilatação adaptativa ou remodelação adaptativa da parede arterial através de mecanismos endotélio-dependentes¹². No entanto, em doenças cardiovasculares, como hipercolesterolemia, diabetes mellitus, hipertensão arterial e doenças inflamatórias sistêmicas a disfunção endotelial surge como manifestação precoce. Esta disfunção vascular normalmente é caracterizada por uma perturbação da vasoregulação dependente do fluxo (com diminuição dos processos vasodilatadores e aumento da vasoconstrição). O mecanismo dominante que define esta disfunção endotelial generalizada é a diminuição do efeito da tensão de cisalhamento sobre a expressão e actividade da sintase do monóxido de azoto endotelial (eNOS)^{2,3}, essencial para a síntese e libertação do monóxido de azoto, potente mediador endógeno vasodilatador, mediador antioxidante e anti-inflamatório.

Alterações endoteliais nos locais de aterosclerose

De grande importância clínica são os diferentes fenótipos endoteliais funcionais associados com as características particulares do fluxo e tensão de cisalhamento que se desenvol-

vem em curvaturas (por exemplo, o arco aórtico), ramos e bifurcações arteriais¹³⁻¹⁶. Nestas áreas o fluxo perde características de tensão de cisalhamento unidireccional e pulsátil para criar zonas de separação do fluxo que incluem inversão de fluxo e turbulência (fluxo caótico). Essas regiões, onde a tensão de cisalhamento adquire características oscilatórias, (com baixas velocidades e gradientes temporo-espaciais intensos) são sensíveis ao desenvolvimento focal da aterosclerose.

Uma lesão aterosclerótica em desenvolvimento pode alterar o padrão de tensão de cisalhamento local sobre o endotélio. Quando uma estenose significativa está presente, uma maior velocidade de fluxo através do espaço luminal pode criar fluxo turbulento na região imediatamente a jusante. Ao longo do tempo este fluxo turbulento induzido pela lesão pode contribuir para o seu crescimento. Estudos *in vitro* e *in vivo* de células endoteliais têm demonstrado que tal ambiente promove a expressão de genes e proteínas pro-inflamatórias favoráveis ao aumento da susceptibilidade à aterosclerose^{15,16}, crescimento e instabilidade da placa aterosclerótica¹⁷ e maior risco de trombose¹⁸.

FORÇAS HEMODINÂMICAS E FENÓTIPOS ENDOTELIAIS

A resposta endotelial às tensões de cisalhamento, factor determinante para o desenvolvimento de fenótipos regionais que promovem a susceptibilidade e protecção para progressão da placa aterosclerótica, são regulados estreitamente por processos de expressão^{10,15,16,19}.

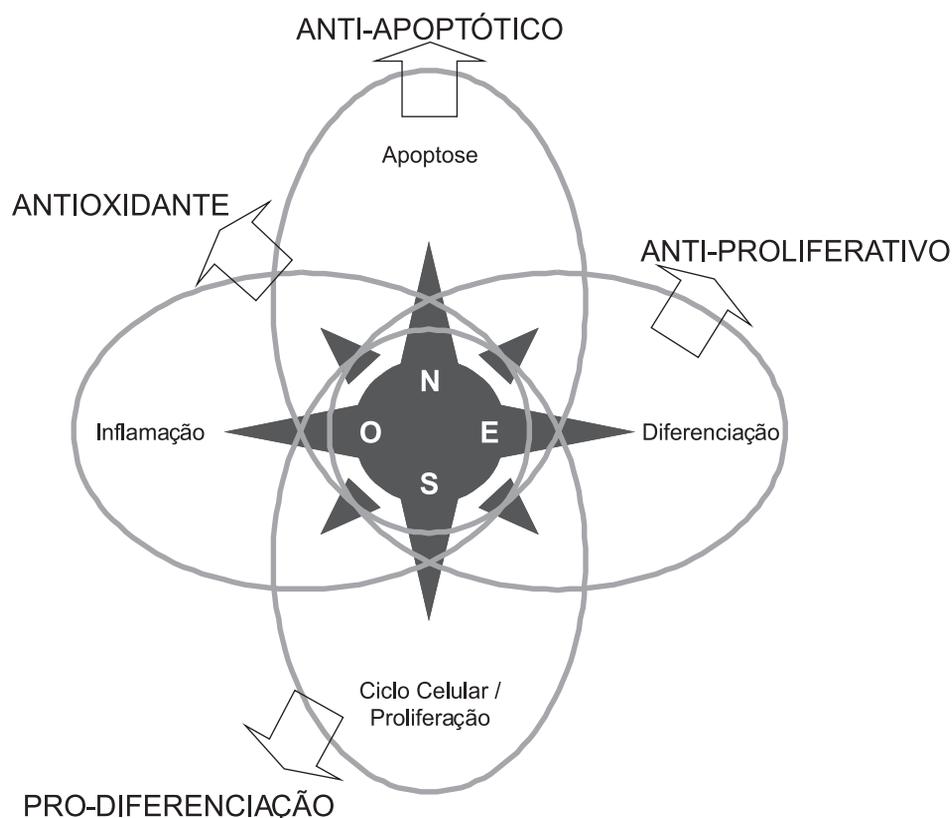


Fig. 1 – O fluxo hemodinâmico aplicado sobre a célula endotelial coordena, em termos fenotípicos, o padrão de expressão genética no sentido de diferentes programas transcripcionais de activação. A interacção entre estes padrões de activação endotelial produz diferentes linhas orientadoras, como uma bússola, para o funcionamento da célula endotelial. Nesta imagem representa-se as orientações (setas) genericamente induzidas sobre a célula endotelial por um fluxo hemodinâmico laminar.

A tensão de cisalhamento laminar unidireccional correlaciona-se com a indução *in vitro* de perfis de transcrição considerados protectores (por exemplo, antioxidante, anti-inflamatório, antiproliferativo – ver Fig. 1), e *in situ* com a expressão endotelial dos genes envolvidos em locais que estão protegidos contra aterosclerose²⁰⁻²².

Em modelos murinos transgénicos o padrão transcripcional de genes específicos na célula endotelial correlaciona-se estreitamente com as condições hemodinâmicas específicas^{23,24}. Da mesma forma, estudos de expressão genética global no endotélio forneceram um panorama mais abrangente das interacções que ocorrem nos locais de fluxo perturba-

do^{10,20,25,26}. Contudo o quadro geral torna-se mais complexo pelo facto de ocorrerem interacção de múltiplos factores fisiopatológicos com as forças hemodinâmicas. A análise diferencial do transcriptoma em amostras da curvatura interna da aorta torácica descendente e do arco aórtico em modelo porcino revelou que a expressão de genes de susceptibilidade (proinflamatórios e procoagulantes) e de protecção (antioxidantes e anticoagulantes) podem coexistir nas áreas de maior susceptibilidade hemodinâmica à lesão aterosclerótica¹⁰. Assim, o conceito actual propõe a existência de um fenótipo endotelial equilibrado, com promoção da expressão de genes protectores que defendam a

parede vascular na presença de fluxo perturbado. Contudo, este equilíbrio transcripcional e de síntese proteica desaparecerá facilmente na presença de factores de risco adicionais, nomeadamente hipercolesterolemia e aumento da pressão transmural (i.e., hipertensão), que desviarão o balanço a favor de um fenótipo endotelial pró-aterosclerótico²⁷.

Sintase do monóxido de azoto (NOS)

Estudos *in vivo* demonstraram que a expressão genética da NOS endotelial é alterada por intervenções (por exemplo, estreitamento concêntrico do lúmen) que aumentem a tensão de cisalhamento laminar²³. Esta forte indução da expressão da NOS na zona de estreitamento é contudo acompanhada de uma diminuição da sua expressão imediatamente a jusante, onde se encontra uma região de fluxo turbulento. Em ratinhos “knockout” para a apolipoproteína-E, com elevada susceptibilidade a desenvolvimento de aterosclerose, esta associa-se invariavelmente a esta região de fluxo turbulento a jusante do estreitamento arterial onde a expressão da NOS endotelial está reduzida²⁴. O nexos de causalidade entre a hemodinâmica alterada e a reduzida produção de monóxido de azoto *in vivo* está assim bem estabelecido.

Inflamação

O estudo das alterações do fenótipo endotelial no ambiente complexo do fluxo arterial à superfície da placa aterosclerótica é limitada por desa-

fos técnicos. Contudo, foi identificada a expressão endotelial diferenciada de quimiocinas, NF- κ B, p53, TGF- β e outras proteínas pró-inflamatórias em placas ateroscleróticas avançadas, em comparação com lesões precoces¹¹. Embora não tenham sido tomadas em consideração possíveis padrões temporo-espaciais na progressão da placa aterosclerótica, este estudo fornece pistas para o estudo do envolvimento de mediadores inflamatórios na regulação do fenótipo endotelial

MECANOTRANSDUÇÃO DAS FORÇAS HEMODINÂMICAS

O estudo experimental detalhado do efeito mecânico e biofísico da tensão de cisalhamento sobre a célula endotelial exige a utilização de técnicas laboratoriais morfo-funcionais a um nível subcelular^{1,5,28-31}. A tensão de cisalhamento depende da geometria detalhada da superfície da artéria concluindo-se que simplificar a superfície endotelial (tratando-a como homogénea) não permitirá conhecer a heterogeneidade espacial de distribuição sub-celular da tensão de cisalhamento; para este fim é necessário caracterizar detalhadamente a topografia da célula endotelial³².

A mecanotransdução endotelial da tensão de cisalhamento exige várias etapas sequenciais^{5,33}: i) deformação da superfície celular; ii) transmissão intracelular do sinal; iii), conversão da força mecânica em actividade bioquímica e cascatas de segundos mensageiros; iv) conversão da sinalização em actividade efectora e retrocontrolo dos mecanismos de mecanotransdução.

Estas relações temporais não estão ainda bem estabelecidas, podendo, por exemplo, as duas etapas iniciais ocorrer praticamente em simultâneo. Contudo, este modelo apresenta a vantagem de permitir interpretar os dados já conhecidos e facilmente integrar novos resultados. Como exemplo, as alterações do potencial de membrana endotelial podem ser suficientes para induzir a libertação de mediadores vasoactivos nas etapas i), iii) e iv) através da activação de canais iónicos, dispensando a transmissão intracelular das forças mecânicas que ocorre em ii)^{34,35}. Na maioria das situações, contudo, para a sinalização da tensão de cisalhamento para localizações subcelulares a importância da transmissão de forças para o interior da célula a partir do lúmen vascular exige a mobilização do citoesqueleto (modelo descentralizado de mecanotransdução)⁵.

Deformação física

A mobilização de um ou mais elementos celulares é necessário para iniciar mecanicamente induzida por respostas de sinalização. Como a tensão de cisalhamento actua na superfície luminal da célula, esta vai conter os elementos iniciais de participação na mecanotransdução. Exemplos incluem a activação dos canais iónicos, proteínas G e alterações na fluidez membranar³³ e metabolismo fosfolipídico. A distribuição das forças que actuam sobre a superfície luminal da membrana endotelial é determinada pela microgeometria da superfície, secundariamente às características do fluxo de sangue em massa. O mapeamento detalhado da superfície endo-

telial por microscopia de força atómica seguida de modelagem computacional do fluxo permitiu identificar heterogeneidade intercelular e subcelular da distribuição de forças mecânicas³². Em particular, a zona de superfície celular mais saliente no fluxo é sujeita às forças mais altas tensão de cisalhamento. Esta estrutura mais elevada é habitualmente a área de superfície celular que se estende ao longo da região nuclear, com uma altura de pico típico de 5 a 7 μm .

Para além desta área, foram identificadas outras estruturas especializadas que detectam e ampliam a tensão de cisalhamento à superfície da célula endotelial. Duas destas estruturas celulares que se projectam em direcção à região de fluxo são o glicocálice, rico em glicoproteínas alongadas da superfície celular³⁶⁻³⁷, e os cílios primários, que se ligam ao citoesqueleto na sua base e se estendem através da superfície celular luminal para a região de fluxo³⁸.

Transmissão de força (mecanotransmissão)

A deformação endotelial sob tensão luminal permite a transmissão de forças para o citosol através dos seus elementos estruturais. No endotélio este sistema compreende os filamentos do citoesqueleto distribuídos por todo o corpo da célula e o citoesqueleto cortical submembranar rico em espectrina. Estes elementos próprios estão interligados e também estão ligados a proteínas de membrana em toda a célula, fornecendo rigidez elástica enquanto mantêm a forma e a estrutura da célula. Se a integridade e dinâmica do citoesqueleto forem per-

turbadas experimentalmente verificou-se inibição da resposta endotelial ao fluxo³⁹. Por seu lado, o fluxo induz a realocização celular das mitocôndrias ao longo dos microtúbulos, mobilização dos filamentos intermediários e deformação dos filamentos de actina. As forças associadas a estas deformações celulares podem inclusivamente ser transmitidas às células adjacentes através de estruturas juncionais e pela matriz extracelular^{40,41,42}.

Respostas de sinalização imediatas

Em várias localizações subcelulares ocorrem respostas rápidas que incluem activação dos canais iónicos localizados na membrana luminal, libertação de íons de cálcio intracelulares, clivagem de fosfolípidos membranares, alteração na fluidez da membrana e fosforilação de várias proteínas, todos eles com a função de activar vias de sinalização secundárias. A sua organização espacial e integração são mal compreendidas, mas envolvem eventos locais de fosforilação de proteínas e aparecimento de moléculas de sinalização difusíveis. Foi igualmente proposto que a aplicação de força através do citoesqueleto pode alterar directamente a conformação (e assim a actividade) de proteínas acopladas a este⁴³. A integração temporal destas múltiplas respostas é essencial para permitir às células discriminar rápida e eficientemente alterações do fluxo e reagir rapidamente a este.

CONCLUSÃO

A evolução das respostas relacionadas a aplicação de fluxo hemodinâmico no endotélio é uma das muitas especializações essenciais para o funcionamento eficiente do sistema vascular. A diversidade de funções endoteliais reflecte-se na variedade de mecanismos de mecanotransdução e sugere que a sua regulação através de um único mecanismo é improvável. Uma abordagem de biologia de sistemas poderá ser útil e até necessária para determinar como ocorre a resposta celular de mecanotransdução em contexto fisiológico ou patológico de interesse, com valorização e discriminação do potencial de redundância entre os diversos elementos dentro do sistema.

Novas terapêuticas farmacológicas dirigidas aos mecanismos intracelulares reguladores de tensão de cisalhamento podem ser benéficas. Uma abordagem alternativa é a “renormalização” das características indesejáveis do fluxo, sistematicamente e em locais que exigem intervenção; a este respeito, o controlo da pressão arterial e o exercício físico são terapêuticos; este último, nomeadamente, pode induzir vasodilatação mediada por fluxo em diversos territórios arteriais e pode induzir alterações hemodinâmicas localizadas benéficas. Outras intervenções possíveis incluem modificações para o design de *stents* e outros dispositivos que visem otimizar as características localizadas do fluxo.

REFERÊNCIAS

1. Pohl U, *et al.* Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 1986; 8:37-44.
2. Moncada S. Adventures in vascular biology: a tale of two mediators. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361:735-759.
3. Corson MA, *et al.* Phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase in response to fluid shear stress. *Circ Res* 1996; 79: 984-991.
4. Griffith TM. Endothelial control of vascular tone by nitric oxide and gap junctions: a haemodynamic perspective. *Biorheology* 2002; 39:307-318.
5. Davies PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995; 75:519-560.
6. Langille BL, O'Donnell F. Reductions in arterial diameter produced by chronic decreases in blood flow are endothelium-dependent. *Science* 1986; 231:405-407.
7. Zhang H, *et al.* Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor signaling in flow-induced arterial remodeling. *Circ Res* 2008; 102:1275-1285.
8. Aird WC. Proximate and evolutionary causation of endothelial heterogeneity. *Semin Thromb Hemost.* 2010; 36:276-285.
9. Glagov S, *et al.* Hemodynamics and atherosclerosis. Insights and perspectives gained from studies of human arteries. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112:1018-1031.
10. Passerini AG, *et al.* Coexisting proinflammatory and antioxidative endothelial transcription profiles in a disturbed flow region of the adult porcine aorta. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101:2482-2487.
11. Volger OL, *et al.* Distinctive expression of chemokines and transforming growth factor-beta signaling in human arterial endothelium during atherosclerosis. *Am J Pathol* 2007; 171:326-337.
12. Mattsson EJ, *et al.* Increased blood flow induces regression of intimal hyperplasia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17: 2245-2249.
13. Suo J, *et al.* Blood flow patterns in the proximal human coronary arteries: relationship to atherosclerotic plaque occurrence. *Mol Cell Biomech* 2008; 5:9-18.
14. Steinman DA, Taylor CA. Flow imaging and computing: large artery hemodynamics. *Ann Biomed Eng* 2005; 33:1704-1709.
15. Davies PF, *et al.* A spatial approach to transcriptional profiling: mechanotransduction and the focal origin of atherosclerosis. *Trends Biotechnol* 1999; 17:347-351.
16. García-Cardena G, *et al.* Mechanosensitive endothelial gene expression profiles: scripts for the role of hemodynamics in atherogenesis? *Ann NY Acad Sci* 2001; 947:1-6.
17. Libby P. Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis, and stabilization. *Am J Cardiol* 2000; 86:3J-8J.
18. Folie BJ, McIntire LV. Mathematical analysis of mural thrombogenesis. Concentration profiles of platelet-activating agents and effects of viscous shear flow. *Biophys J* 1989; 56:1121-1141.
19. Suo J, *et al.* Hemodynamic shear stresses in mouse aortas: implications for atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:346-351.
20. Dekker RJ, *et al.* Prolonged fluid shear stress induces a distinct set of endothelial cell genes, most specifically lung Krüppel-like factor (KLF2). *Blood* 2002; 100:1689-1698.
21. Dai G, *et al.* Biomechanical forces in atherosclerosis-resistant vascular regions regulate endothelial redox balance via phosphoinositol 3-kinase/Akt-dependent activation of Nrf2. *Circ Res* 2007; 101:723-733.
22. Ziegler T, *et al.* Influence of oscillatory and unidirectional flow environments on the expression of endothelin and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:686-692.
23. Cheng C, *et al.* Shear stress affects the intracellular distribution of eNOS: direct demonstration by a novel in vivo technique. *Blood* 2005; 106:3691-3698.
24. Cheng C, *et al.* Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. *Circulation* 2006; 113:2744-2753.
25. Iiyama K, *et al.* Patterns of vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression in rabbit and mouse atherosclerotic lesions and at sites predisposed to lesion formation. *Circ Res* 1999; 85:199-207.
26. De Nigris F, *et al.* Beneficial effects of antioxidants and l-arginine on oxidation-sensitive gene expression and endothelial NO synthase activity at sites of disturbed shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:1420-1425.
27. Magid R, Davies PF. Endothelial protein kinase C isoform identity and differential activity of PKC ζ in an athero-susceptible region of porcine aorta. *Circ Res* 2005; 97:443-449.
28. García-Cardena G, Gimbrone MA. Biomechanical modulation of endothelial phenotype: implications for health and disease. *Handb Exp Pharmacol* 2006; 176:79-95.
29. Davies PF, *et al.* Influence of hemodynamic forces on vascular endothelial function. In vitro studies of shear stress and pinocytosis in bovine aortic cells. *J Clin Invest* 1984; 73:1121-1129.
30. Davies PF, *et al.* Turbulent fluid shear stress induces vascular endothelial cell turnover in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83:2114-2117.
31. Shyy YJ, *et al.* Fluid shear stress induces a biphasic response of human monocyte chemotactic protein 1 gene expression in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4678-4682.
32. Barbee KA, *et al.* Subcellular distribution of shear stress at the surface of flow aligned and non-aligned endothelial monolayers. *Am J Physiol* 1995; 268:H1765-H1772.
33. Califano JP, Reinhart-King CA. Exogenous and endogenous force regulation of endothelial cell behavior. *J Biomech* 2010; 43:79-86.
34. Olesen S-P, *et al.* Hemodynamic shear stress activates a K⁺ current in vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 331:168-170.
35. Gautam M, *et al.* Flow-activated chloride channels in vascular endothelium. Shear stress sensitivity, desensitization dynamics, and physiological implications. *J Biol Chem* 2006; 281:36492-36500.

36. Weinbaum S, *et al.* The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng* 2007; 9:121-167.
37. Vink H, Duling BR. Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ Res* 1996; 79:581-589.
38. Van der Heiden K, *et al.* Endothelial primary cilia in areas of disturbed flow are at the base of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008; 196:542-550.
39. Malek AM, Izumo S. Mechanism of endothelial cell shape change and cytoskeletal remodeling in response to fluid shear stress. *J Cell Sci* 1996; 109:713-726.
40. Helmke BP, *et al.* Spatial concentration of intracellular strain induced by hemodynamic shear stress. *Biophys J* 2003; 84:2691-2699.
41. Mott RE, Helmke BP. Mapping the dynamics of shear stress-induced structural changes in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 293:C1616-C1626.
42. Hu S, Wang N. Control of stress propagation in the cytoplasm by prestress and loading frequency. *Mol Cell Biomech* 2006; 3:49-60.
43. Dahl KN, *et al.* Mechanobiology and the microcirculation: cellular, nuclear and fluid mechanics. *Microcirculation* 2010; 17:179-191.

É A ATEROSCLEROSE UMA DOENÇA INFLAMATÓRIA? / IS ATHEROSCLEROSIS AN INFLAMMATORY DISEASE?

João Eurico Fonseca¹

Cardiovascular disease (CVD) is a major public health problem and the leading cause of death in industrialized nations. In Portugal more than 37 000 deaths per year are attributed to CVD.

It has been recognized that patients with chronic inflammatory diseases, such as rheumatoid arthritis (RA) or systemic lupus erythematosus (SLE) die prematurely largely due to CVD (Goodson NJ *et al.* *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2010-2019; Bruce N *Rheumatology* 2005; 44:1492-1502). RA patients have a 2-3 times higher risk of myocardial infarction and in young women with SLE, ages 35-44 years, this excess risk is more than 50-fold compared to the general population (Manzi S *et al.* *Am J Epidemiol* 1997; 145: 408-415). Traditional cardiovascular risk (CV) factors do not explain this increase and Framingham 10 year risk equation underestimates the true cardiovascular risk in this population (Esdaile JM *et al.* *Arthritis Reum* 2001; 41:2331-2337).

Atherosclerosis is the main determinant of CV morbidity and mortality. Traditional risk factors such as

hypercholesterolemia, hypertension, diabetes, smoking and family history have long been identified as major contributors to the pathogenicity of atherosclerotic lesions. However these risk factors are present in only about 50% of patients with CV events. (Braunwald E. *N Eng J Med* 1997; 337: 1360-1369). Therefore, other determinants for atherosclerosis and CV events remain to be identified.

Atherosclerosis is now accepted to be a multifactorial process where inflammation plays a crucial role at each stage of the pathology. Disrupted endothelial homeostasis and infiltration of the intima by activated T cells (CD4+, HLA-DR+ and IL-2R+) and monocytes are observed in earlier stages. Local production of a variety of inflammatory mediators including interleukin (IL)-1, tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), lymphotoxin alpha (LTA), IL-2, IL-6, IL-8 and interferon gamma, which can modulate and perpetuate the immunologic reaction within atherosclerotic lesions, have been demonstrated. Ongoing inflammation stimulates smooth muscle cell proli-

¹ Professor auxiliar com Agregação, Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

feration, artery wall remodelling and foam-cell formation (i.e. fatty-streaks). Further injury includes focal necrosis and a fibroproliferative healing process that narrows the vessel lumen and alters blood flow (i.e. atherosclerotic plaque). Calcification is a frequent finding in advanced atherosclerosis. Plaque disruption and subsequent thrombosis is the major cause of symptoms and clinical events (Russel R. *N Eng J Med* 1999; 340: 115-126). A state of chronic inflammation of the arterial wall may contribute to haemorheological disturbances. The adhesive interactions between white blood cells and the endothelium may be affected by the erythrocyte aggregation tendency. Temporary occlusion could occur also as a result of local oedema and swelling of the tissue producing local hemoconcentration and increased blood viscosity. There is evidence from longitudinal as well from follow-up studies that haemorheologic profile is accompanied by similar variations in the inflammatory profile (Luquita A *et al.* *Clin Hemorheol Microcirc*). Hence it is expected that patients with SLE and RA might have abnormal values of haemorheological parameters namely increased whole blood viscosity, plasma viscosity and aggregation, and decreased erythrocyte deformability that are characteristics of inflammatory states.

Additionally, chronic inflammatory mediators are believed to contribute to the atherosclerotic process, yet the interaction between these mediators on specific atherogenic processes remains to be elucidated. Increased levels of C-reactive protein (CRP), IL-6, TNF superfamily cyto-

kines, and adhesion molecules independently predict the risk of future CV events in the general population (Danesh J. *N Eng J Med* 2004; 350: 1387-1397; Reilly MP *J Investig Med*. 2007; 55: 26-35). On the other hand, chronic inflammation may aggravate traditional CV risk, inducing a more proatherogenic lipid pattern and decreasing insulin sensitivity (Dessein PH *et al.* *Arthritis Res*. 2002; 4: R5).

TNF-alpha is one of the best-studied proinflammatory cytokines, crucial in RA pathophysiology, which has emerged as an important contributor to the development of atherosclerotic lesions. It acts by promoting the expression of adhesion molecules on endothelial cells and the recruitment and activation of inflammatory cells and initiates an inflammatory cascade within the arterial wall. In addition, TNF-alpha induces insulin resistance and modifies plasma lipids, suggesting that the increase in the production of this cytokine is an early and central event in atherogenesis (Skoog T *et al.* *Eur Heart J* 2002; 23: 376-383; Hotamisligil GS *et al.* *Science* 1993; 259: 87-91). In fact, TNF alpha increases triglyceride level, decreases HDL and total cholesterol and is likely to induce changes in LDL composition that eventually increase the atherogenicity of this particle. Reinforcing this, blockade of TNF-alpha in RA patients has a positive effect on insulin resistance, lipid profile at short term and risk of developing CV events (Gonzalez-Gay MA *et al.* *Clin Exp Rheumatol*. 2006; 24: 83-86; Popa C *et al.* *Ann Rheum Dis*. 2007 66:1503-1507; Jacobsson LT *et al.* *J Rheumatol* 2005; 32:1213-1218).

Lymphotoxin-alpha (LTA) is also a proinflammatory cytokine structu-

rally similar to TNF-alpha. The role of LTA in atherosclerosis is poorly characterized, but in rodents it seems more relevant in promoting atherosclerotic lesions than TNF-alpha. In LTA knockout mice there is a three fold reduction in atherosclerotic lesion size, lower levels of total cholesterol and higher levels of HDL, as compared to the TNF-alpha deficient mice (Scheryer S *et al.* J Biol Chem 2002; 277: 12364-12368).

More recently a link between bone remodelling cytokines, in particular osteoprotegerin (OPG), and atheroma calcification was identified. Local atheroma and circulating levels of this cytokine have been associated with CV events in a variety of patient populations, but its exact role remains controversial (Kiechl S *et al.* Circulation 2004; 109:2175-2180).

Vitamin D may represent another link between bone metabolism and CVD. Beyond its effect on mineral metabolism, vitamin D exhibits anti-inflammatory and antiproliferative effects and may protect against CV mortality (Levin A *et al.* Kidney Int 2005; 68:1973-1981). Interestingly, as we have stated before, RA and SLE seriously disrupt bone metabo-

lism and influence the RANKL/OPG system (Fonseca JE *et al.* Clin Exp Rheumatol 2005; 23: 185-92).

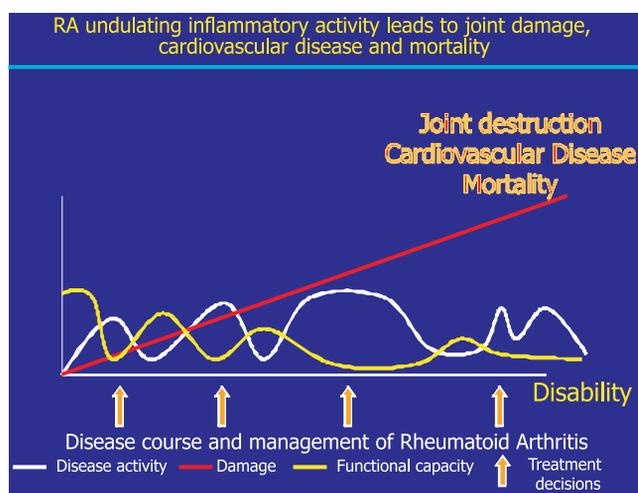
Moreover, several lines of evidence suggest that genetic traits contribute to the risk of CVD, but the precise magnitude of its influence is poorly described. Genetic factors may interact with the environment and modulate atherosclerosis-related process, including inflammation. Polymorphisms in the -308 TNF promoter position predispose to the development of coronary artery disease (Sbarsi I *et al.* Int J Immunopathol Pharmacol 2007; 20:145-154) and as confirmed in our patients are also associated with a worse outcome and with the response pattern to treatment in RA (Fonseca JE *et al.* Ann Rheum Dis 2005; 64: 793-794; Fonseca JE *et al.* Arthritis Res Ther 2007; 9: R37;). Polymorphisms of the LTA gene have been associated with increased levels of CRP, carotid artery atherosclerosis, myocardial and cerebral infarction (Naoum JJ *et al.* Med Sci Monit 2006; 12:RA121-124). This was not confirmed in a multinational trial, but the heterogeneity of the population genetic background limits the interpretation of the results.

Atherosclerosis is an inflammatory process

RA patients have higher CVD risk

Inflammatory markers contribute to CVD in healthy subjects

Atherosclerotic plaque and rheumatoid synovium share common mechanisms



CONSEQUÊNCIAS VASCULARES E CIRCULATÓRIAS DA ATEROSCLEROSE. O MODELO CAROTÍDEO / VASCULAR AND CIRCULATORY CONSEQUENCES OF ATHEROSCLEROSIS. THE CAROTID MODEL *

Luis Mendes Pedro¹

INTRODUÇÃO

A aterosclerose é uma doença generalizada da parede arterial que, no entanto, tem uma expressão clínica focal atingindo de forma particularmente grave alguns territórios como as artérias cerebrais, coronárias, abdominais e dos membros inferiores.

No território cerebrovascular, um dos locais mais envolvidos é a bifurcação da carótida primitiva onde, para além dos mecanismos patogénicos sistémicos, há a considerar factores hemodinâmicos especiais decorrentes da morfologia particular desta bifurcação e do alargamento do segmento inicial da carótida interna (bulbo carotídeo).

A bifurcação carotídea configura um modelo adequado ao estudo da aterosclerose uma vez que é superficial e acessível ao estudo, a doença apresenta elevada prevalência (20-40%), a lesão é em regra circunscrita, não se estendendo distalmente, e a repercussão no órgão-alvo (sintomatologia / métodos de imagem) encontra-se bem padronizada. Por outro

lado, persistem controvérsias no diagnóstico e na terapêutica da doença carotídea oclusiva pelo que a necessidade de investigação se mantém de forma activa.

Um desses tópicos controversos diz respeito à indicação terapêutica nos doentes assintomáticos e com estenoses graves (>60%), em que o tratamento cirúrgico por endarterectomia é benéfico na prevenção do acidente vascular cerebral (AVC). No entanto, o benefício absoluto é pequeno sendo necessário operar um grande número de doentes (*number need to treat*- NNT), com um risco cirúrgico baixo, para prevenir apenas um AVC¹. Permanece, assim, a necessidade de identificar o subgrupo de placas associadas a maior risco dentro do universo alargado de todas as lesões assintomáticas para que a intervenção incida apenas naquele grupo, diminuindo o NNT para prevenir AVC e deste modo poupar doentes ao risco cirúrgico e também reduzir a utilização de recursos de saúde.

Outra área controversa refere-se à modalidade terapêutica. Nos últimos

*Este texto tem como base a conferência “Consequências vasculares e circulatórias da aterosclerose” integrada na Sessão de apresentação do livro *Bioquímica em Medicina* de J. Martins e Silva e Carlota Saldanha. Lisboa, Maio de 2010.

¹ Professor associado da Faculdade de Medicina de Lisboa. Assistente graduado de Cirurgia Vascular do Hospital de Santa Maria. Cirurgião vascular do Instituto Cardiovascular de Lisboa.

anos foi introduzido o tratamento endovascular como uma alternativa à cirurgia convencional mas vários estudos de nível I não conseguiram provar a superioridade (nem a equivalência) do *stenting* carotídeo em relação à endarterectomia a qual mostrou sistematicamente um risco neurológico peri-operatório inferior. No entanto, alguns trabalhos sugeriram uma relação da taxa de AVC “peri-*stenting*” com as características da placa de ateroma e mostraram que as lesões mais hipoecogénicas se associavam a complicações embólicas mais frequentes².

Estas duas áreas parecem constituir na actualidade as necessidades de investigação mais relevantes relacionadas com a caracterização da placa de ateroma.

PLACA DE ATEROMA DA BIFURCAÇÃO CAROTÍDEA

As características macroscópicas e histológicas das placas de ateroma são bem conhecidas após múltiplos estudos realizados nos territórios coronário e carotídeo e menos frequentemente nas artérias periféricas.

As lesões ateroscleróticas da bifurcação carotídea apresentam características genéricas semelhantes às de outros territórios, nomeadamente nas artérias coronárias. Com efeito, estudos que tiveram por base a análise patológica das lesões subjacentes à oclusão carotídea mostraram claramente que as placas apresentavam as características de instabilidade previamente identificadas naquelas que constituíam as lesões-alvo de acidentes coronários agudos^{3,4}. Deste modo, não parece haver razão para se con-

siderarem diferenças significativas, do ponto de vista histo-patogénico e morfológico, entre as lesões dos vários territórios excepto, naturalmente, no que diz respeito ao diâmetro dos vasos em causa e da quantidade de aterotrombose necessária à sua oclusão aguda.

Face ao exposto, algumas lesões exibem características de estabilidade mas outras apresentam o perfil oposto, com aspectos morfológicos macro e microscópicos que foram inquestionavelmente relacionados com o maior risco de ocorrência de eventos clínicos agudos. Este padrão da placa “activa” (ou seja, da placa com rotura, com aterotrombose ou com vulnerabilidade à rotura e à aterotrombose) é conhecido e as suas características essenciais são um centro lipídico-necrótico de grande dimensão, a localização juxta-luminal do centro lipídico-necrótico com capa fibrosa superficial fina, rota ou inexistente, a presença de erosão ou ulceração na superfície da lesão, a hemorragia intra-placa e a trombose superficial bem como o aumento de células inflamatórias, em particular nas zonas de transição da placa para a parede arterial (*shoulder*).

IDENTIFICAÇÃO DA PLACA CAROTÍDEA “ACTIVA”

A identificação das lesões “activas” tem constituído um objectivo de investigação importante e foram utilizadas várias técnicas, algumas das quais se encontram ainda em desenvolvimento.

Com efeito, as primeiras informações sobre a caracterização das lesões tiveram proveniência da angiografia

que, sendo uma luminografia, cedo se revelou insuficiente no estudo estrutural das lesões. A ultrassonografia mantém-se como uma técnica muito relevante na actualidade e múltiplas investigações estão em curso com as novas gerações de angio-ressonância magnética (angio-RM), angio-tomografia computadorizada (angio-TC), espectroscopia e tomografia de emissão de positrões (combinada com a tomografia computadorizada – PET/CT).

Na actualidade começa a considerar-se, para além de uma imagiologia morfológica da aterosclerose, uma imagiologia “biológica” ou “bio-imagem”, uma vez que os modernos métodos de apreciação permitem avaliar também mecanismos e características funcionais e fisiopatológicas das lesões^{5,6}.

A ultrassonografia permanece, no entanto, como uma técnica de grande utilidade prática uma vez que é não-invasiva, barata, de uso alargado e com potencial de difusão das suas formas de análise mais sofisticada.

A ULTRASSONOGRAFIA NA IDENTIFICAÇÃO DA PLACA CAROTÍDEA “ACTIVA”

Na actualidade, considerar a ultrassonografia carotídea como instrumento de caracterização das placas de ateroma implica falar de ultrassonografia de alta definição com análise computadorizada das imagens das lesões. Esta, é necessária para promover a standardização das imagens das lesões e assegurar a sua comparabilidade, bem como para efectuar técnicas avançadas de processamento.

Após a standardização da imagem é efectuado o estudo da ecoge-

nicidade global da placa a partir do histograma de distribuição dos *pixels* da respectiva área determinando parâmetros como a *grey-scale median* (GSM) e a percentagem de *pixels* “hipoecogénicos” (P40), ou seja abaixo do percentil 40 da escala de cinzentos (níveis 0-255)⁷. Estes parâmetros foram relevantes na associação com o risco clínico como foi demonstrado em estudos anteriores⁸.

De facto, as lesões mais hipoecogénicas (*echolucent*) são mais frequentemente sintomáticas e a ecolucência corresponde a maior teor de lípidos, de hemorragia intra-placa, de DNA e proteínas (celularidade e inflamação) e a menor conteúdo de cálcio⁹⁻¹³ o que está de acordo com o conhecimento do perfil histológico e bioquímico da placa “activa”¹³.

No entanto, a placa “activa” apresenta outras características para além do seu aspecto ecográfico global, nomeadamente a inter-relação espacial entre os diferentes componentes da lesão e em particular nas que têm uma estrutura heterogénea. Assim, foi efectuada uma expansão da análise ultrasonográfica com a introdução de equivalentes ecográficos dos parâmetros morfológicos da placa “activa”⁸⁻¹⁴ e que são resumidos no Quadro I.

A determinação dos parâmetros relevantes na associação com sintomatologia neurológica apropriada e a análise do respectivo “peso” estatístico levou à criação do “Índice de Actividade” (Fig. 1). Cada lesão é classificada de acordo com os vários parâmetros eco-morfológicos e no final é atribuído um *score* relacionado com o risco dessa lesão ser sintomática (“activa”) (Fig. 2).

O Índice de Actividade foi testado em estudo transversal (*cross-sectio-*

Quadro I – Equivalência das características morfológicas de instabilidade entre a análise macroscópica e histológica e o estudo ultrassonográfico das placas de ateroma da bifurcação carotídea

Parâmetro histológico	Equivalente ultrassonográfico	
	P. Homogênea	P. Heterogênea
Centro lipídico/necrótico volumoso	Hipoecogenicidade	Hipoecogenicidade % Área hipoecogénica
Centro lipídico/necrótico próximo do lúmen.	–	Área hipoecogénica juxta-luminal
Hemorragia intra-placa	Hipoecogenicidade	Hipoecogenicidade
Capa fibrosa fina.	Capa ecogénica fina ou não visível % Capa ecogénica	Capa ecogénica fina ou não visível % Capa ecogénica
Disrupção da superfície da placa.	Disrupção da superfície da placa, ulceração	Disrupção da superfície da placa, ulceração

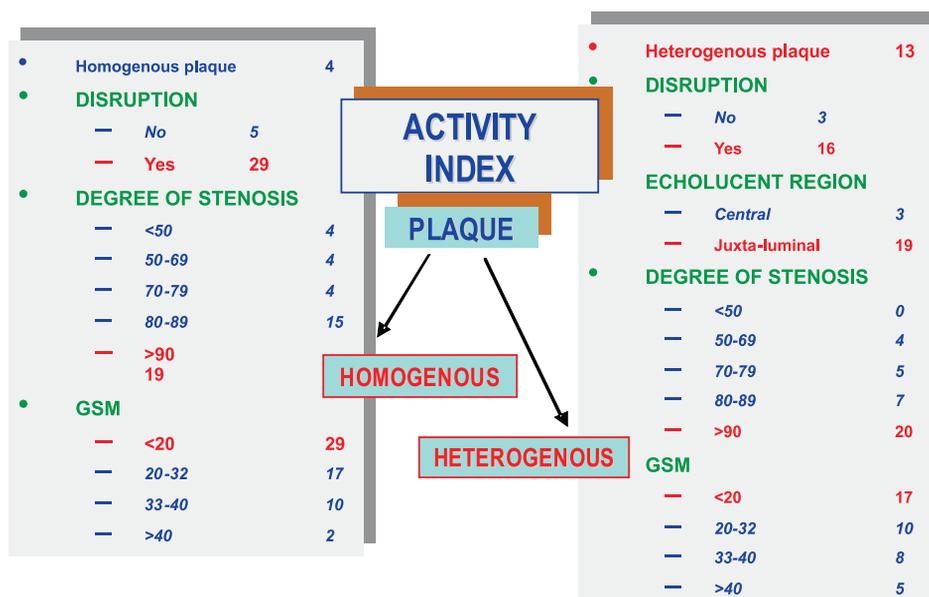


Fig. 1 – Determinação do Índice de Actividade (L. M. Pedro *et al.* Eur J Vasc Endovasc Surg 2002;24:492)

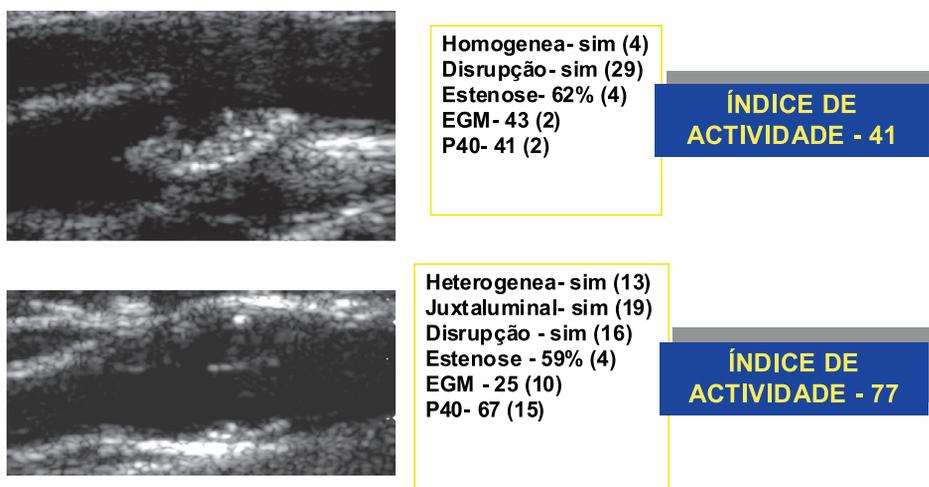


Fig. 2 – Classificação das placas e determinação do Índice de Actividade

nal) e mais tarde num estudo longitudinal (*natural history*) onde foi confirmada a sua capacidade de identificar o sub-grupo de placas assintomáticas que se vieram a tornar sintomáticas num período de seguimento de 4 anos (com elevada especificidade e menor sensibilidade)¹⁵.

DIRECÇÕES FUTURAS DA INVESTIGAÇÃO

A caracterização da placa por ultrassonografia mantém a sua importância como área de investigação e actualmente existem várias linhas de investigação em curso cujos objectivos básicos são os seguintes:

- Reconstrução tridimensional (3D) das imagens das placas¹⁶⁻¹⁹: pretende-se utilizar na análise ultrassonográfica toda a informação da imagem da placa de ateroma e não apenas um corte representativo como na análise bidimensional (2D).
- Criação de novo software apropriado para análise automática e semi-automática dos parâmetros relevantes no Índice de Actividade.
- Introdução de novos classificadores e novos instrumentos de processamento de imagem²⁰ que

possam mostrar maior rigor diagnóstico na identificação das lesões activas (incrementar a especificidade e sobretudo a sensibilidade do Índice de Actividade).

CONCLUSÕES

- O modelo carotídeo é adequado ao estudo da aterosclerose.
- A placa aterosclerótica pode associar-se a manifestações clínicas por estenose ou por aterotrombose associada a rotura da respectiva superfície.
- A identificação das lesões carotídeas “activas” permanece um tópico de investigação com relevância clínica.
- A ultrassonografia de alta definição com análise computadorizada das imagens das lesões permite uma avaliação objectiva da ecoestrutura das placas carotídeas.
- O Índice de Actividade constitui um instrumento útil na determinação da “actividade” das lesões.
- A caracterização das placas parece contribuir para a melhoria da selecção dos doentes para tratamento e também para escolha da melhor modalidade terapêutica em cada caso.

REFERÊNCIAS

1. Schneider PA, Naylor AR. Asymptomatic carotid artery stenosis--medical therapy alone versus medical therapy plus carotid endarterectomy or stenting. *J Vasc Surg* 2010; 52(2):499-507.
2. Biasi GM, Froio A, Diethrich EB, Deleo G, Gallimberti S, Mingazzini P, Nicolaidis AN, Griffin M, Raithel D, Reid DB, Valsecchi MG. Carotid plaque echolucency increases the risk of stroke in carotid stenting: the Imaging in Carotid Angioplasty and Risk of Stroke (ICAROS) study. *Circulation* 2004; 110(6):756-762.
3. Lammie GA, Path MR, Sandercock PA, Dennis MS. Recently occluded intracranial and extracranial carotid arteries. Relevance of the unstable atherosclerotic plaque. *Stroke* 1999; 30:1319-1325.
4. Torvik A, Svindland A, Lindboe CF. Pathogenesis of carotid thrombosis. *Stroke* 1989; 20:1477-1483.
5. Javier Sanz, Pedro R. Moreno and Valentin Fuster. The Year in Atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:1487-1498.
6. L. Hermusa, G.M. van Damb, C.J. Zeebregtsa. Advanced Carotid Plaque Imaging. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010; 39:125-133.
7. L. M. Pedro, M. M. Pedro, I. Gonçalves, T. F. Carneiro, C. Balsinha, R. Fernandes e Fernandes and J. Fernandes e Fernandes. Placa de ateroma da bifurcação carotídea: como identificar a lesão "activa"? *Rev Port Cardiol* 1999; 18:699-708.
8. L. M. Pedro, M. M. Pedro, I. Gonçalves, T. F. Carneiro, C. Balsinha, R. Fernandes e Fernandes and J. Fernandes e Fernandes. Computer-assisted carotid plaque analysis: Characteristics of plaques associated with cerebrovascular symptoms and cerebral infarction. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 19:118-123.
9. Isabel Gonçalves, J. Moses, L.Mendes Pedro, N. Dias, J. Fernandes e Fernandes, J. Nilsson, M. Ares. Echolucency of carotid plaques correlates with plaque cellularity. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003; 26:32-38.
10. Isabel Gonçalves I, M.W. Lindholm, L. M. Pedro, N.V. Dias, J. Fernandes e Fernandes, G.N. Fredrikson, J. Nilsson, J. Moses, M. P. Ares. Elastin and calcium rather than collagen or lipid content are associated with the echogenicity of human carotid plaques. *Stroke* 2004; 35:2795-2800.
11. Isabel Gonçalves, J. Moses, N. Dias, L. M. Pedro, J. Fernandes e Fernandes, J. Nilsson, M. Ares. Changes related to age and cerebrovascular symptoms in the extracellular matrix of human carotid plaques. *Stroke* 2003; 34:616-622.
12. Isabel Gonçalves, Mikko P. S. Ares, Anna Moberg. Jonatan Moses, Fong To, Luís M. Pedro, Nuno Dias, José Fernandes e Fernandes, Gunilla Nordin Fredrikson, Jan Nilsson, Stefan Jovinge, Eva Bengtsson. Elastin- and collagen-rich human carotid plaques have increased levels of the cysteine protease inhibitor cystatin C. *J Vasc Res* 2008; 45:395-401.
13. Isabel Gonçalves, Luís M. Pedro, Nuno Dias, Marie W. Lindholm, Gunilla Nordin Fredrikson, Jonatan Moses, Jan Nilsson, Mikko P. S. Ares e José Fernandes e Fernandes. Pode a ultrasonografia carotídea reflectir a composição da placa aterosclerótica vulnerável? *Angiologia e Cirurgia Vascul* 2007; 3(2):93-96.
14. L. M. Pedro, J. Fernandes e Fernandes, M. M. Pedro, I. Gonçalves, N. V. Dias, R. Fernandes e Fernandes, T. F. Carneiro, C. Balsinha. Ultrasonographic risk score of carotid plaques. *Eur Journal Vasc Endovasc Surg* 2002; 24:492-498
15. Luís M. Pedro, J. Fernandes e Fernandes, Rita Lopes, A.N. Nicolaidis, I. Gonçalves, Mónica M. Pedro, R. Fernandes e Fernandes. O Índice de Actividade como instrumento para a identificação de placas carotídeas activas: estudo prospectivo duplamente cego. *Angiologia e Cirurgia Vascul* 2007; 3:186.
16. José C. Seabra, Luís M. Pedro, J. Fernandes e Fernandes, João M. Sanches. A 3-D ultrasound-based framework to characterize the echo morphology of carotid plaques. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2009; 56:1442-1453.
17. José Seabra, João Sanches, Luís M. Pedro. Joint 3D Reconstruction and Segmentation of Carotid Arteries and plaques from US Image Sequences. In *Proceedings of RecPad 2007- 13ª Conferência Portuguesa de Reconhecimento de Padrões*, Lisbon, Portugal, 2007.
18. José Seabra, João Sanches, L. M. Pedro. Carotid Plaque 3D Compound Imaging and Echo-Morphology Analysis: a Bayesian Approach. In *Proceedings of EMBS 2007- 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Lyon, France, 2007.
19. José Seabra, João Sanches, Luís M. Pedro, J. Fernandes e Fernandes. Three-Dimensional Ultrasonic Assessment of Atherosclerotic Plaques. In *Proceedings of IbPRIA 2007*; (2):523-531.
20. José C. Seabra, Luís M. Pedro, J. Fernandes e Fernandes, João M. Sanches. Ultrasonographic characterization and identification of symptomatic carotid plaques. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2009; 56:1442-1453.

EFFECTS OF HYDRATION AND DEHYDRATION ON BLOOD RHEOLOGY IN SICKLE CELL TRAIT CARRIERS DURING EXERCISE

Tripette J, Loko G, Samb A, Gogh BD, Sewade E, Seck D, Hue O, Romana M, Diop S, Diaw M, Brudey K, Bogui P, Cissé F, Hardy-Dessources MD, Connes P¹

This study compared the hemorheological responses of a group of sickle cell trait (SCT) carriers with those of a control (Cont) group in response to 40 min of submaximal exercise (exercise intensity, 55% aerobic peak power) performed in two conditions: one with water offered ad libitum, i.e., the hydration (Hyd) condition, and one without water, i.e., the dehydration (Dehyd) condition. Blood and plasma viscosities, as well as red blood cell rigidity, were determined at rest, at the end of exercise, and at 2 h recovery with a cone plate viscometer at high shear rate and 37 degrees C. The SCT and Cont groups lost 1 +/- 0.7 and 1.6 +/- 0.6 kg of body weight, respectively, in the Dehyd condition, indicating a significant effect of water deprivation compared with the Hyd condition, in which body weight remained unchanged. Plasma viscosity increased with exercise and returned to baseline during recovery independently of the group and condition. As previously demonstrated, resting blood viscosity was

greater in the SCT carriers than in the Cont group. Blood viscosity increased by the end of exercise and returned to baseline at 2 h recovery in the Cont group in both conditions. The blood viscosity of SCT carriers did not change in response to exercise in the Dehyd condition and remained elevated at 2 h recovery. This extended hyperviscosity, in association with other biological changes induced by exercise, could be considered as a risk factor for exercise-related events in SCT carriers, similar to vasoocclusive crises, notably during the recovery. In contrast, the Hyd condition normalized the hyperviscosity and red blood cell rigidity of the SCT carriers, with blood viscosity values reaching the same lower values as those found in the Cont group during the recovery. Adequate hydration of SCT carriers should be strongly promoted to reduce the clinical risk associated with potential hyperviscosity complications. [**Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 2010; 299(3):H908-H914]

PMID: 20581085

¹ Laboratoire Acclimation au Climat Tropical, Exercice et Santé (EA 3596), Département de Physiologie, Université des Antilles et de Guyane, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe.

BLOOD RHEOLOGY ABNORMALITIES AND VASCULAR CELL ADHESION MECHANISMS IN SICKLE CELL TRAIT CARRIERS DURING EXERCISE

Connes P, Hue O, Tripette J, Hardy-Dessources MD¹

Sickle cell trait (SCT) is usually considered a benign disorder compared with sickle cell anemia (SS hemoglobinopathy). However, several authors have reported cases of exercise-related sudden death in this population. Among the mechanisms that could be involved in these fatal complications, vaso-occlusive processes, such as those occurring in SS hemoglobinopathy, may play a role. In sickle cell anemia, these vaso-occlusive processes involve inflammatory and adhesion molecules such as the cell adhesion molecules (CAM family), which play a role in the firm adhesion of reticulocytes and leukocytes to endothelial cells, and the selectins, which play a role in leukocyte and platelet rolling on the vascular wall. Recent results suggest that adhesion phenomena could be amplified in SCT carriers during exercise compared with non-carriers. Other mechanisms like alterations in blood coagulation and/or hemorheological

properties can also favor the occurrence of vaso-occlusive processes. Although few studies have reported coagulation disturbances in SCT carriers at rest, we recently observed no difference between this population and control subjects in response to exercise. In contrast, by studying the behavior of several hemorheological parameters in response to several types of exercise, we detected hemorheological abnormalities in individuals with SCT. These abnormalities included higher red blood cell rigidity and higher blood viscosity in the SCT carriers compared with the non-carriers, particularly during the late recovery period (24 and 48 h after exercise). Therefore, we can suggest that the risks for microvascular complications in SCT carriers in response to exercise could be dependent on alterations in blood rheology and vascular adhesion processes. [*Clin Hemorheol Microcirc* 2008; 39(1-4): 179-184].

PMID: 18503123

¹ Laboratoire ACTES (EA 3596), Département de Physiologie, Université des Antilles et de la Guyane, Guadeloupe, France. pconnes@yahoo.fr

HEMODILUTION THERAPY USING AUTOMATED ERYTHROCYTAPHERESIS IN CENTRAL RETINAL VEIN OCCLUSION: RESULTS OF A MULTICENTER RANDOMIZED CONTROLLED STUDY

Glacet-Bernard A, Atassi M, Fardeau C, Romanet JP, Tonini M, Conrath J, Denis P, Mauget-Faÿsse M, Coscas G, Soubrane G, Souied E¹.

BACKGROUND: Central retinal vein occlusion (CRVO) leads to poor visual outcome in most eyes. Abnormal hemorheology was suspected to play a major role in its pathogenesis. CRVO treatment is still a matter of debate but several studies have pointed out the efficacy of isovolumic hemodilution. The aim of this study was to assess the feasibility and efficacy of hemodilution using automated erythrocytapheresis in recent-onset CRVO.

METHODS: In this prospective randomized controlled multicenter study, 61 consecutive CRVO patients were enrolled when they met the following criteria: CRVO lasting for 3 weeks or less, visual acuity ranging from 20/200 to 20/32, age between 18 and 85 years, no diabetes, no uncontrolled systemic hypertension, no antiplatelet or anticoagulant therapy, hematocrit higher than 38%, and signed informed consent. Patients were randomly assigned to the hemodilution group (n=31) or to the control group (n=30). Hemodilution therapy consisted of one session of erythrocytapheresis on outpatient ba-

sis, followed by additional session(s) for 6 weeks if needed. Target hematocrit was 35%. Follow-up was 12 months.

RESULTS: No statistical differences in age, associated risk factors, or CRVO characteristics were observed at baseline between both groups. Mean visual acuity was equivalent to 20/80 in the hemodilution group and to 20/63 in the control group (non-significant difference). In the treated group, mean number of hemodilution sessions was 3.3 (range, 1 to 6), and no major side-effects occurred. At the 12-month follow-up visit, 64.5% of the hemodilution group had visual acuity of 20/40 or better compared to 40% of the control group (p=.048). Visual change was a gain of 1.7 ETDRS line in the hemodilution group versus a loss of 2.3 lines in the control group (p=.007). There was less conversion into an ischemic form in the hemodilution group (11%) than in the control group (50%, p=.004). Mean final retinal thickness was 289 μm in the hemodilution group versus 401 μm in the control group (p=.068).

¹ Department of Ophthalmology, University Paris XII, Intercommunal and Henri-Mondor hospitals, Créteil, France, agnes.glacet@chicreteil.fr.

CONCLUSIONS: This multi-center controlled randomized study demonstrated that automated erythrocytapheresis is a safe and effective tool for performing hemodilution and confirmed that hemodilution therapy can improve the final prognosis of CRVO when applied in the early phase of the disease. [**Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.** 2010 Oct 17. Pré-publicação electrónica]

PMID: 20953877

COMENTÁRIO

A propósito do artigo de Glacet-Bernard e Cols, merecem destaque os resultados semelhantes que o Professor Paulo de Souza-Ramalho (professor de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa , sócio fundador e antigo presidente da Assembleia Geral da SPHM, recentemente falecido) obteve em Portugal na década de 90 do século passado, com o apoio laboratorial do Instituto de Bioquímica da mesma universidade.

PRÉMIO NOBEL DA MEDICINA 2010



Robert Edwards, biólogo Inglês, pioneiro da medicina e biologia reprodutiva e autor da técnica de fertilização *in vitro* (FIV ou IVF), foi este ano o único galardoado com o Prémio Nobel da Medicina. Desde o primeiro “bebé-proveta”, Louise Brown, nascida em 1978, calcula-se que tenham nascido até agora em todo o mundo, com o auxílio daquela técnica, cerca de quatro milhões de crianças. Na realidade o galardão constitui um prémio de carreira para feitos concretizados quatro décadas antes.

Robert Edwards, nasceu em Manchester em 27 de Setembro de 1925. Doutorou em 1955 pela Universidade de Edimburgo, continuaria a sua carreira académica em Cambridge.

Cerca dos anos 50 do século passado demonstrou que os ovos de coelha fertilizados *in vitro*, no laboratório, davam origem a novos seres. Essa descoberta permitiu-lhe esclarecer em sucessivas experiências de tentativa e erro, a maturação dos óvulos humanos, a regulação hormonal dos oócitos e o momento e condições adequadas para a fertilização dos óvulos por espermatozóides.

Em 1968, seguindo a metodologia que utilizara nas experiências anteriores, conseguiu fertilizar um óvulo humano, após o que iniciou uma frutuosa colaboração com o ginecologista Patrick Steptoe. Enquanto este iniciava uma técnica precursora, por laparotomia, para obter óvulos maduros dos ovários

de doentes com obstrução tubária, Edwards desenvolvia os meios de cultura que possibilitariam a fertilização dos óvulos e o desenvolvimento de embriões. Porém, estes resultados geraram grande hostilidade social, religiosa e médica, que culminou com a recusa de financiamento governamental à sua investigação. Donativos particulares possibilitaram que Edwards e Steptoe prosseguirem nos seus estudos e a ultrapassarem dificuldades diversas. Entre estas destacavam-se os efeitos secundários da medicação hormonal para estimular nas doentes a produção de óvulos maduros. A situação foi ultrapassada pelo acerto com os ciclos menstruais das doentes.

O nascimento de Louise Brown e, depois, de um segundo bebé saudável suscitou entusiasmo generalizado da população e o recomeço do financiamento público.

Actualmente com 85 anos, muito debilitado e impossibilitado de atender pessoalmente o telefonema da Comissão Nobel, Edwards conheceu a notícia da sua consagração através da esposa. Eventualmente, se Steptoe fosse vivo (faleceu em 1988) seria também abrangido pelo prémio de 2010, mas o regulamento restringe-o a candidatos que estejam vivos.

PRÓXIMAS REUNIÕES MUNDIAIS SOBRE MICROCIRCULAÇÃO

2011 – 8th Asian Congress for Microcirculation

(October 26-28, Bangkok, Thailand, <http://www.worldmicrocirc.org/>)

2015 – 10th World Congress for Microcirculation

(Beijing, China).

SERVIÇO INFORMATIVO SOBRE A SPHM

Quem desejar consultar elementos sobre a SPHM, em alternativa nosso sítio, pode inscrever-se no site da UNIVADIS (webmaster@univadis.pt)e, através deste serviço para médicos, aceder a vários elementos bibliográficos de grande utilidade.

BLOG DA SPHM

Foi recentemente criado um Blog da nossa Sociedade, pelo qual se pretende incentivar, a partir de Janeiro de 2010, um amplo contacto com todos os associados.

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 , sendo distribuído gratuitamente aos sócios, 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 Hemorheology 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)