

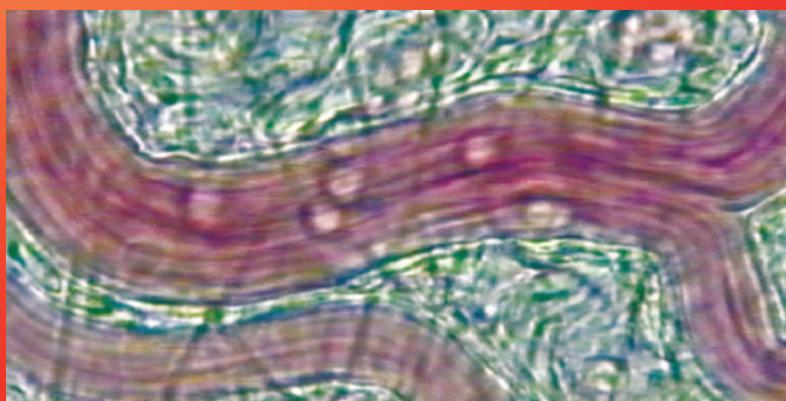


publicação semestral

Janeiro-Junho

vol. 37 n.º 1 2022

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: Ana S. Silva-Herdade **Editor Associado/Associated Editor:** Alberto Escalda **Conselho Editorial Internacional/International Editorial Board:** PORTUGAL: J. M. Braz Nogueira, Victor Oliveira, Luís Mendes Pedro, Fausto J. Pinto, João Martins e Silva, Carlota Saldanha
OUTROS PAÍSES: Friedrich Jung (Alemanha), Jean-Frederic Brun (França), Greet Schmid-Schoenbein (EUA), Nadia Antonova (Bulgária), Thomas Korff (Alemanha) **Coordenador Editorial:** Carlota Saldanha.

Vol. 37 n.º 1 Janeiro-Junho 2022

Sumário / Summary

NOTA DE ABERTURA / EDITORIAL

- A ciência faz-se de tudo isto... 3
Ana Silva-Herdade

ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

- Disfunção plaquetária induzida pelo darunavir em doente com infeção VIH-1 4
• **Platelet dysfunction induced by darunavir in an HIV-1 patient**
*Emília Araújo, Rita Pardal, Maria Manuel Campos, Maria José Marques,
Ana Cristina Silva, Marco Jacinto, Ana Isabel Fernandes*

ARTIGO DE REVISÃO / REVIEW ARTICLE

- Os fatores que agravam a covid-19 e como melhorar a saúde:
A Pandemia, a Hemorreologia e a Microcirculação 13
Paulo Luiz Farber

Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Presidentes Honorário: Prof.^a Doutora Carlota Saldanha e Prof. Doutor João Martins e Silva

ÓRGÃOS SOCIAIS DA SPHM / BOARDS (2020-2022)

Direção

Presidente

Prof.^a Doutora Ana Santos Silva-Herdade

Vice-Presidente

Prof. Doutor Flávio Reis

Secretário-Geral

Doutor Paulo Farber

Tesoureiro

Dr. António Messias

Secretários-Adjuntos

Prof.^a Doutora Alice Santos Silva

Prof. Doutor Alberto Escalda

Dr. Luís Sargento

Assembleia Geral

Presidente

Prof. Doutor Carlos Moreira

Secretários

Doutora Patrícia Napoleão

Prof. Doutor Victor Oliveira

Secretários Suplentes

Dr. Paulo Ferreira da Silva

Dr.^a Sandra Hilário

Conselho Fiscal

Presidente

Prof. Doutor Luís Mendes Pedro

Vogais

Dr. Joaquim Canelas

Dr.^a Maria Helena Baptista Manso Ribeiro

Comissão de Delegados / Committee of Delegates

Prof. Doutor Henrique Rosário

Prof.^a Doutora Dulce Brito

Dr.^a Maria João Queiroz

CONSELHO CIENTÍFICO / SCIENTIFIC COUNCIL AND CONSELHO HONORÁRIO / HONORARY COUNCIL

Conselho Científico / Scientific Council

Àkos Koller (Hungria)

Alexei Muravyov (Rússia)

António Vaz Carneiro (Portugal)

Beat Imhof (Suíça)

Christian Lehmann (Alemanha)

David Lominadze (EUA)

Eliete Bouskela (Brasil)

Fausto Pinto (Portugal)

Friedrich Jung (Alemanha)

Gealdine Clough (UK)

Gerard B. Nash (UK)

Gregório Caimi (Itália)

J. Braz Nogueira (Portugal)

J. Fernandes e Fernandes (Portugal)

Jean Frederic Brun (França)

Kalman Toth (Hungria)

Marco Rossi (Itália)

Max Hardeman (Holanda)

Michael Rampling (UK)

Michael Simmonds (Austrália)

Nadia Antonova (Bulgária)

Philippe Connes (França)

Sayon Roy (EUA)

Walther Reinhart (Suíça)

Conselho Honorário / Honorary Council

A. M. Ehrly (Alemanha)

Carlos Ribeiro (Portugal)

Fausto Pinto (Portugal)

Fernando Lacerda Nobre (Portugal)

Helbert J. Meiselman (EUA)

Helena Saldanha (Portugal)

Herbert Lipowsky (EUA)

João Morais (Portugal)

J.M.G. Toscano Rico (Portugal)

Jean François Stoltz (França)

John Edward Tooke (UK)

Luís Providência (Portugal)

LuisTeixeira Diniz (Portugal)

Manuel Carrageta (Portugal)

Mário Andreia (Portugal)

Michel Boisseau (França)

Políbio Serra e Silva (Portugal)

Rafael Ferreira (Portugal)

Ricardo Seabra Gomes (Portugal)

Sayon Roy (EUA)

Yukihide Isogai (Japão)

FILIAÇÃO INTERNACIONAL

European Society For Clinical Hemorrhology 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 **NÃO FOI SUBSIDIADA DESDE 2018 PELA: FCT: 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.**

Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação • Editor Principal: Ana S. Silva-Herdade • **N.º de registo na ERC:** 111795 • **Depósito Legal:** 30 525/89 • **ISSN:** 2182-6005 • **Periodicidade:** Semestral • **Proprietário:** Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, a/c Instituto de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa • **NIPC:** 501693262 • **Redação:** Av. Prof. Egas Moniz 1649-028 Lisboa • **Editora:** Publicações Ciência e Vida, Lda. • **E-mail:** pub@cienciaevida.pt • **Estatuto Editorial:** <http://www.hemorreologia.com/index.php/pt/estatutos-e-regulamentos/estatuto-editorial>

A CIÊNCIA FAZ-SE DE TUDO ISTO...

É chegada, finalmente, a hora de mais uma edição do Boletim da SPHM. Em dezembro de 2021 não foi possível a publicação do boletim uma vez que tínhamos muito poucas contribuições para essa edição. Mas agora é com grande entusiasmo que editamos mais este boletim.

Esta edição conta com dois artigos clínicos e um artigo de opinião sobre a COVID-19 e a hemorreologia... esperemos que gostem e vos sejam úteis. Para além disto, ainda vos trazemos uma surpresa, o anúncio de um prémio. É verdade, no decorrer do ano de 2023 iremos atribuir um prémio monetário ao melhor artigo publicado no Boletim da SPHM. Contamos por isso com as vossas melhores contribuições para daqui a 1 ano elegermos o grande vencedor. O artigo eleito será publicado na edição de julho de 2023.

Dizer-vos ainda que a SPHM recebeu, em abril de 2022, a visita da Professora Maka Mantskava que, em representação do Rheology and Diagnostic Analytical Services Laboratory of Beritashvili Experimental Research Center, nos mostrou o trabalho desenvolvido, por si e pela sua equipa, no âmbito COVID-19 e Hemorreologia.

E é chegado agora o tempo de algum descanso e paragem. Que este tempo de férias possa a todos trazer força e vontade para novas aprendizagens, novos desafios, novas ideias e novas conquistas. A ciência faz-se de tudo isto...

Até breve,

Ana Silva-Herdade
Presidente da SPHM



**SOCIEDADE PORTUGUESA DE
HEMORREOLOGIA E MICROCIRCULAÇÃO**

Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

Prémio *Boletim SPHM*

A SPHM atribuirá um prémio monetário ao melhor artigo submetido para publicação no seu Boletim, no decorrer do ano de 2023. O prémio será concedido aquando da publicação do Boletim da SPHM, em julho de 2023. O valor do prémio será de 500€.

Todos os artigos submetidos serão avaliados por um júri constituído por dois membros da Direção: Prof.^a Doutora Ana Santos Silva Herdade e Prof. Doutor Flávio Reis e pela Presidente Honorária: Prof.^a Doutora Carlota Saldanha. As regras de publicação estão disponíveis no site da SPHM.

DISFUNÇÃO PLAQUETÁRIA INDUZIDA PELO DARUNAVIR EM DOENTE COM INFEÇÃO VIH-1

PLATELET DYSFUNCTION INDUCED BY DARUNAVIR IN AN HIV-1 PATIENT

Emília Araújo^{1,*}, Rita Parda², Maria Manuel Campos³, Maria José Marques⁴, Ana Cristina Silva⁴, Marco Jacinto⁴, Ana Isabel Fernandes⁴

¹ Interna de Formação Específica de Imuno-hemoterapia

² Assistente Hospitalar de Imuno-hemoterapia

³ Assistente Hospitalar Graduada de Imuno-hemoterapia

⁴ Técnico(a) Superior de Diagnóstico e Terapêutica

Serviço de Imuno-hemoterapia – Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central, EPE
(Responsável da Especialidade: Dra. Teresa Araújo), Lisboa, Portugal

SUMÁRIO

As plaquetas desempenham um papel importante na hemostase primária e a sua disfunção pode resultar em manifestações hemorrágicas, principalmente, mucocutâneas. Apesar das manifestações serem, na maioria das vezes, de gravidade ligeira a moderada, os doentes com disfunção plaquetária podem constituir um desafio hemostático, quando submetidos a procedimentos invasivos.

As causas podem ser hereditárias ou adquiridas. Diversos fármacos estão associados a disfunção plaquetária adquirida. Nesta revisão abordamos as alterações da agregação plaquetária associadas aos fármacos antirretrovíricos mais comumente utilizados na terapêutica do vírus da imunodeficiência humana. É destacada a associação dos inibidores da protease com o aumento da incidência de eventos hemorrágicos, sobretudo nos doentes com coagulopatias congénitas.

Apresentamos um caso clínico demonstrando a importância do estudo da função plaquetária pelo método de agregometria por transmissão de luz nos doentes infetados com o vírus da imunodeficiência humana e diátese hemorrágica, de forma a ser possível uma boa orientação clínica.

Palavras-chave: infeção VIH, darunavir, inibidor da protease, diátese hemorrágica, doenças hemorrágicas hereditárias, agregometria plaquetária

*e-mail: emilia.araujo@chlc.min-saude.pt

ABSTRACT

Platelets have a major role in primary haemostasis and their dysfunction may result in bleeding manifestations, mainly mucocutaneous. Despite being, in most cases, mild to moderate manifestations the patients with platelet dysfunction can represent a haemostatic challenge when undergoing invasive procedures.

The causes can be inherited or acquired. Several drugs are associated with acquired platelet dysfunction. In this review, our aim is to approach platelet dysfunction associated with the most used drugs in antiretroviral therapy, in patients infected with the human immunodeficiency virus. The focus is on the correlation between protease inhibitors and the increased incidence of bleeding events in inherited bleeding disorder patients.

Lastly, we describe a case that emphasizes the importance of platelet function assessment by the method of light transmission aggregometry in patients infected with the human immunodeficiency virus and bleeding diathesis, in order to provide good clinical guidance.

Keywords: HIV infection, darunavir, protease inhibitor, bleeding diathesis, inherited bleeding disorders, platelet aggregometry

INTRODUÇÃO

As plaquetas têm um papel crucial na hemostase. São células anucleadas, com cerca de 2-4 µm de diâmetro, constituídas por diversas estruturas que condicionam a sua atividade e que se comportam de forma dinâmica (Figura 1). Em condições normais e no estado

de repouso, têm um tempo de semivida de 7 a 10 dias, sendo posteriormente eliminadas pelo baço e fígado.¹

Mediante a exposição do subendotélio, em resposta à lesão da parede vascular, ocorre a interação das plaquetas com os componentes da matriz extracelular como o colagénio, fator de von Willebrand (FvW), fibronectina, laminina, vitronectina e trombospondina,

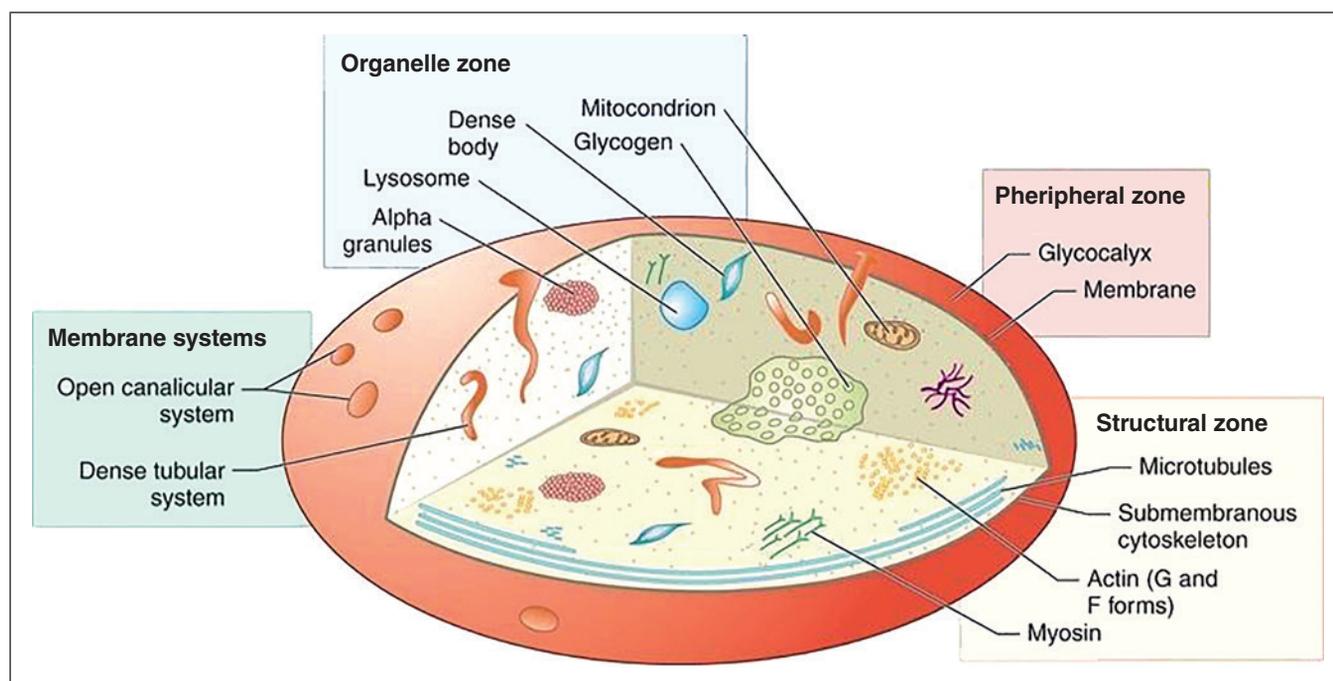


Figura 1. Ilustração sobre a estrutura da plaqueta – sistemas membranosos, zonas dos organelos, periférica e estrutural. Retirado de McKenzie SB. *Clinical Laboratory Hematology*. 2.ª ed. Pearson; 2010.

favorecendo a adesão e a ativação plaquetárias no local. A adesão plaquetária ao subendotélio lesado ocorre pela união do recetor de membrana plaquetária glicoproteína (GP)Ib ao FvW, formando o complexo GPIb/IX/V, bem como a união do recetor plaquetário GPVI ao colagénio. Posteriormente, ocorre a agregação plaquetária a partir de pontes de fibrinogénio mediante o recetor plaquetário GPIIb/IIIa e a ativação das plaquetas através da libertação do conteúdo dos grânulos.¹⁻³ Quando os agonistas – colagénio, adenosina difosfato (ADP), trombina, epinefrina (EPI), tromboxano – atuam sobre o recetor específico da membrana plaquetária, ocorre uma alteração conformacional a nível da proteína G de membrana que ativa a fosfolipase C (enzima geradora de sinal). Essa enzima hidrolisa o fosfatidilinositol (fosfolípido da membrana plaquetária) no trifosfato de inositol (IP3) e diacilglicerol (DAG), o que favorece a ligação de complexos de fatores de coagulação, aumenta a velocidade das reações de ativação da coagulação e a geração de trombina, o que por sua vez irá atuar sobre os recetores ativados por protease (PAR) -1 e -4 plaquetários.⁴ O IP3 estimula a mobilização do cálcio iónico intraplaquetário (Ca^{2+}) e o DAG ativa a proteína quinase C, que leva à fosforilação proteica, que contribui para a secreção plaquetária. O aumento de Ca^{2+} intraplaquetário gera estímulo para a síntese do tromboxano A2 (TXA₂) e produz a

fosforilação da cadeia leve da miosina. Ocorrendo, por fim, a estabilização do coágulo e levando à formação do tampão hemostático primário (Figura 2).^{1,5}

Para além do seu papel na hemostase primária, as plaquetas também estão envolvidas no processo inflamatório, resposta imunitária, desenvolvimento embrionário, angiogénese, reparação tecidual, progressão tumoral e metastização.^{1,6}

DISTÚRBIOS DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA E O USO DA AGREGOMETRIA PLAQUETÁRIA COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

As alterações da função plaquetária podem levar a um desequilíbrio na formação do tampão hemostático primário, resultando numa tendência hemorrágica. As causas podem ser adquiridas ou hereditárias.⁷⁻⁹

Os distúrbios hereditários da função plaquetária constituem um grupo raro e heterogéneo de patologia hemorrágica com gravidade variável, estando associados ou não a outras alterações, cuja prevalência real se desconhece. A maioria dos distúrbios pode ser causada por defeitos nos recetores de membrana plaquetária, na secreção dos grânulos, na transdução de sinais de ativação e na geração da atividade procoagulante.^{9,10}

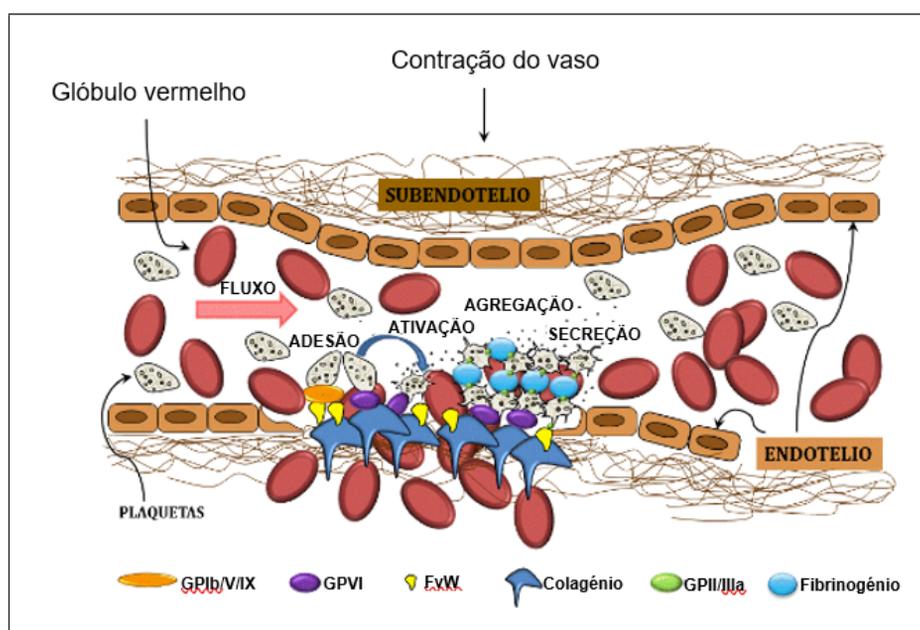


Figura 2. Representação dos principais processos que ocorrem na hemostase primária. Adaptado de *Hemostasia y Trombosis en la práctica clínica*, Ortega IS, Román MT. Ergon; 2018.

A disfunção plaquetária é comumente de causa adquirida e sobretudo secundária a fármacos, suplementos alimentares ou patologia subjacente (nomeadamente insuficiência renal, doenças hepáticas e hemato-oncológicas).^{7,8}

O diagnóstico de um distúrbio plaquetário exige a realização de uma história pessoal e familiar detalhada bem como a realização do exame objetivo. Existem vários métodos laboratoriais utilizados para o estudo da função plaquetária. Neste artigo de revisão abordamos a agregometria por transmissão de luz (ATL), definida como o método *gold standard*, para a avaliação da função plaquetária em doentes com manifestações hemorrágicas.¹¹⁻¹³

A ATL, através do uso de plasma rico em plaquetas (PRP), mede a capacidade que os vários agonistas (Tabela 1) têm para induzir agregação e secreção plaquetária *in vitro*, determinando a percentagem de agregação das plaquetas através de um sistema de deteção ótica.^{11,12}

Segundo as recomendações da *International Society on Thrombosis and Haemostasis*, numa abordagem inicial, podem ser avaliadas as respostas a agonistas fracos como EPI e ADP e a agonistas fortes como ácido araquidónico (AA), trombina/TRAP-6 (péptido ativador do recetor de trombina-6), colagénio e ristocetina.¹²

Caso não seja possível uma conclusão diagnóstica inicial é recomendado alargar o painel, com diferentes concentrações dos agonistas e em ocasiões distintas.^{11,14}

O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA: ETIOLOGIA E PATOGÊNESE

O vírus da imunodeficiência humana (VIH) é o agente infeccioso patogénico responsável pelo desenvolvimento da síndrome de imunodeficiência adquirida. A infeção crónica pelo vírus é caracterizada por imunodeficiência progressiva e desregulação imunológica, resultando num risco aumentado de infeções oportunistas, malignidades, doenças autoimunes e uma variedade de disfunção orgânica.^{15,16}

Existem dois tipos virais denominados de VIH -1 e -2. No presente artigo iremos apenas abordar o VIH-1. O genoma do VIH-1 contém 3 genes *major* – genes estruturais, regulatórios e acessórios – necessários para a replicação viral e a invasão celular. A infeção celular inicia-se com a união da glicoproteína do envelope viral, GP120, à superfície dos recetores CD4⁺T das células do hospedeiro, o que provoca uma alteração

Tabela 1. Agonistas plaquetários comumente utilizados, concentrações recomendadas e recetores-alvo na plaqueta

Agonista	Concentrações recomendadas em PRP	Recetor-alvo
ADP	2 µM (0,5-20 µM) Concentrações mais altas devem ser usadas se a resposta inicial ao agonista estiver alterada	Recetores P2Y1 e P2Y12. A sua ligação inicial induz a libertação de Ca ²⁺ intracelular e a alteração conformacional. A segunda onda reflete a libertação endógena de ADP
EPI	5 µM (0,5-10 µM) Concentrações mais altas devem ser usadas se a resposta inicial ao agonista estiver alterada	Adrenorecetores alfa-2. A sua ligação inibe a adenilato ciclase e induz a libertação de Ca ²⁺ intracelular. Variação do número de recetores na população
AA	1 mM (0,5-1 mM) Concentrações mais altas devem ser usadas se a resposta inicial ao agonista estiver alterada	AA é convertido em TXA ₂ por ação da ciclo-oxigenase 1 (COX-1) e tromboxano-sintetase. A ligação ao recetor do TXA ₂ causa libertação dos grânulos, maior geração de TXA ₂ e ativação sustentada do recetor GPIIb/IIIa
Colagénio	2 µg/mL (1-5 µg/mL) Concentrações mais altas devem ser usadas se a resposta inicial ao agonista estiver alterada	Recetor GPVI e GPIa/IIa. A sua ligação induz a libertação dos grânulos, a geração de TXA ₂ e a ativação sustentada do recetor GPIIb/IIIa
Ristocetina	1,2-1,5 mg/mL. Se resposta normal, o teste deve ser repetido usando uma concentração mais baixa (0,5-0,7 mg/mL)	Complexo GPIb-IX-V. A sua ligação induz a aglutinação plaquetária
Trombina/TRAP-6	10-50 µM	Recetores PAR-1 e PAR-4. É um potente indutor da ativação plaquetária

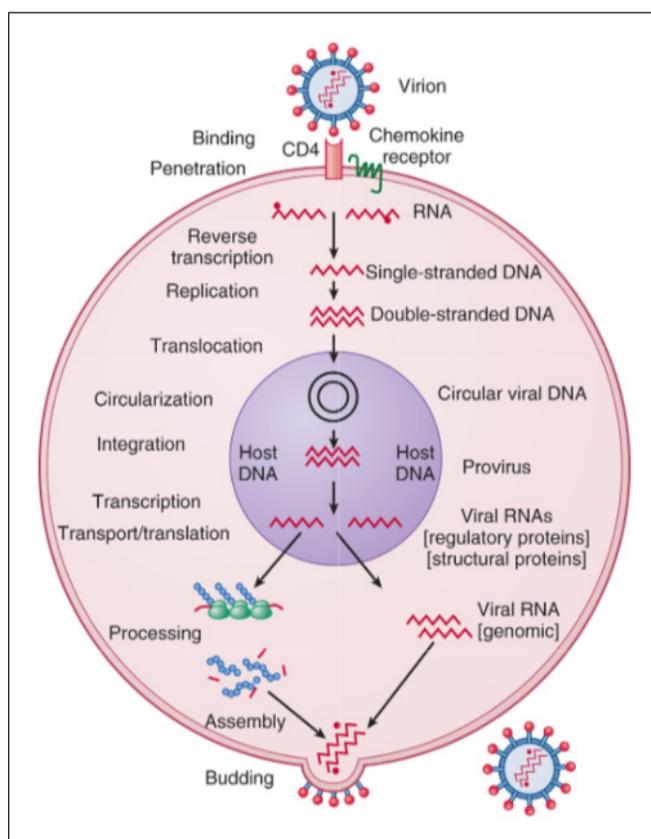


Figura 3. Ilustração com os passos sequenciais que permitem a replicação viral do VIH-1. Retirado de Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE, Heslop EH, Weitz JI, Anastasi J, Salama ME, Abutalib SA. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 7ª ed. Elsevier; 2017.

conformacional da GP120 de forma a expor os locais de ligação do recetor das quimiocinas CCR5 ou CXCR4. Ao ocorrer a ligação da GP120 aos respetivos recetores das quimiocinas, o invólucro viral funde-se com a célula hospedeira e conseqüente entrada do capsídeo viral (Figura 3).¹⁷ As células CD4⁺T, monócito-macrófago, células de *Langerhans*, células dendríticas e megacariócitos expressam os recetores CCR5 e CXCR4 e são suscetíveis à infeção pelo VIH-1.^{17,18}

O EFEITO DO VIH E DOS AGENTES ANTIRRETROVÍRICOS SOBRE AS PLAQUETAS

A infeção pelo VIH associa-se a numerosas anormalidades dos parâmetros hematológicos, nomeadamente a trombocitopenia, que está presente em cerca de 17,9% dos doentes durante o curso da doença. Múltiplos mecanismos contribuem para o seu apare-

cimento, tais como o aumento da *clearance* das plaquetas ativadas e a produção diminuída pelos megacariócitos infetados pelo VIH.^{19,20}

Para além deste achado, é também observada a ativação plaquetária, a libertação de micropartículas plaquetárias e de recetores de adesão pro-inflamatórios. As plaquetas ativadas medeiam as respostas inflamatórias e imunes através da libertação de quimiocinas e da interação da GP transmembranar, P-selectina (CD62P), com os leucócitos.^{17,19}

A terapêutica antirretrovírica combinada (TARc) é a base do tratamento da infeção pelo VIH.²¹

Os fármacos mais utilizados encontram-se classificados em quatro classes, consoante o momento do ciclo de replicação do vírus que interrompem: análogo nucleósido/nucleótido inibidor da transcriptase reversa (N(t)ITR); análogo não nucleósido inibidor da transcriptase reversa (NNITR); inibidor da protease (IP), inibidor da cadeia de transferência da integrase (ITI). Os regimes terapêuticos de primeira linha atualmente recomendados consistem numa combinação de N(t)ITR com um fármaco pertencente à classe NNITR, IP ou ITI.^{22,23}

A introdução desta terapêutica permitiu diminuir, substancialmente, a morbimortalidade associada ao vírus, porém não é isenta de efeitos adversos.²¹

Alguns estudos sugerem que certos esquemas de TARc aumentam o risco de eventos cardiovasculares, independentemente da infeção VIH *per se*, pela ativação plaquetária e conseqüente sustentação da resposta inflamatória que leva a um processo de disfunção imune. Porém, estes dados são controversos e o seu papel não está totalmente elucidado.^{19,24}

Por outro lado, a introdução dos IP como parte da TARc tem sido associada a um aumento do risco hemorrágico, tendo sido reportados vários eventos de hemorragia intracraniana e um aumento da incidência de eventos hemorrágicos sobretudo nos doentes com coagulopatias congénitas, nomeadamente os doentes com hemofilia.²⁵⁻²⁸ Numa análise retrospectiva, Wilde *et al.* documentou em doentes com hemofilia e doença de *von Willebrand*, VIH positivos – tratados com IP principalmente com o ritonavir – um aumento de eventos hemorrágicos em 51% dos casos. O aparecimento de diátese hemorrágica mucocutânea e/ou o aumento da frequência de hematomas e/ou hemartroses em articulações-alvo, ocorre habitualmente durante as primeiras semanas após a introdução desta classe de fármacos.²⁸

De forma a estudar o impacto dos IP sobre a função plaquetária, os biomarcadores da coagulação e a fibrinólise, Kort *et al.* determinou e comparou os efeitos do tipranavir coadministrado com o ritonavir em baixa dose, do ritonavir de forma isolada e do darunavir coadministrado com o ritonavir, em voluntários saudáveis. Demonstrando, pelo método ATL, uma redução da agregação plaquetária induzida pelo AA (0,5 mM) mais evidente ($\geq 50\%$ de inibição em 43,8% dos indivíduos) no braço de tratamento com o tipranavir ao décimo dia de tratamento (estado de equilíbrio). Relativamente ao braço de tratamento com o darunavir coadministrado com o ritonavir, foi documentada uma inibição da agregação plaquetária pela via do agonista AA de 8,3%. Conforme previamente demonstrado, não houve redução dos níveis dos biomarcadores da coagulação e da fibrinólise.^{28,29}

Recentemente, Loelius *et al.* observou um decréscimo significativo e dose-dependente na produção de tromboxano pela medição do metabólito tromboxano B2 em amostras de plaquetas tratadas com ritonavir, em voluntários saudáveis.³⁰

Apesar de vários estudos terem associado o N(t) ITR abacavir a um aumento do risco de enfarte agudo do miocárdio e da reatividade plaquetária pela inibição competitiva da enzima guanilato ciclase solúvel, Taylor *et al.* também documentou, pelo método de ATL, a não existência de alterações na agregação máxima com os agonistas ADP, colagénio e TRAP-6 nas plaquetas incubadas de voluntários saudáveis VIH negativos com o N(t)ITR tenofovir.^{23,30-32}

CASO CLÍNICO

Doente do sexo masculino, de 23 anos de idade, encaminhado pela especialidade de Estomatologia à consulta de Trombose e Hemostase por episódios recorrentes e autolimitados de gengivorragias, com 4 anos de evolução, que se agravavam durante a realização de procedimentos de higienização oral e des-tartarização.

Com história de infeção por VIH-1 diagnosticada há 5 anos e de défice de fator VII diagnosticado há 1 ano, não confirmado por estudo genético, foi medicado com os antirretrovíricos darunavir/ ritonavir e tenofovir/ emtricitabina que manteve durante 3 anos, até ser substituída por *Symtuza*[®] (contém as substâncias activas darunavir, cobicistate, emtricitabina e tenofovir) por conveniência do doente. As queixas de diátese hemorrágica mucocutânea mantiveram-se, mesmo após a mudança entre esquemas terapêuticos.

Sem outros antecedentes hemorrágicos, eventos cirúrgicos ou história transfusional. Sem outra medicação ou suplementos alimentares. Dos antecedentes familiares destaca-se a mãe com história de equimoses espontâneas e perdas vaginais no pós-parto e pós-cirurgia de miomectomia, sem necessidade de suporte transfusional.

Na avaliação laboratorial apresentava uma contagem plaquetária normal e um esfregaço de sangue periférico sem alterações nas 3 linhagens celulares, evidenciando-se um prolongamento do tempo de protrombina com défice de fator VII (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados analíticos do doente na primeira consulta

Parâmetros laboratoriais	Valores do doente	Valores de referência
Leucócitos (x10 ⁹ /L)	5,6	4,0-10,0
Hemoglobina (g/dL)	14,8	13,5-18
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	157	150-400
Tempo de protrombina (s)	16,4	9,4-12,5
Tempo de tromboplastina parcialmente ativada (s)	29,4	25,1-36,5
Tempo de trombina (s)	26	15,8-24,9
Fibrinogénio (g/dL)	1,88	2,0-3,9
Analizador de função plaquetária – colagénio/epinefrina (s)	112	84-160
Antigénio do fator de <i>von Willebrand</i> (%)	100,1	42,0-140,8
Atividade do cofator de ristocetina (%)	91,5	48,2-201,9
Fator VIII (%)	98,40	50-150
Fator VII (%)	26,4	50-129
Determinação do grupo ABO	O	Não aplicado

No estudo da agregação plaquetária, pelo método de ATL, foram documentadas alterações nalguns traçados (Figuras 4-11). No primeiro estudo (28/01/2021) não se visualizou a segunda onda de agregação com os agonistas fracos (ADP 2 μM e EPI 25 μM); observou-se desagregação plaquetária com ADP; a

agregação máxima estava muito e ligeiramente diminuída com EPI 25 μM e ADP 10 μM , respetivamente (Figuras 4 e 5). Este padrão foi sugestivo de defeito de secreção das plaquetas.

Num segundo (11/02/2021) e terceiro estudos (25/03/2021) – (Figuras 6-11) – para além de se con-

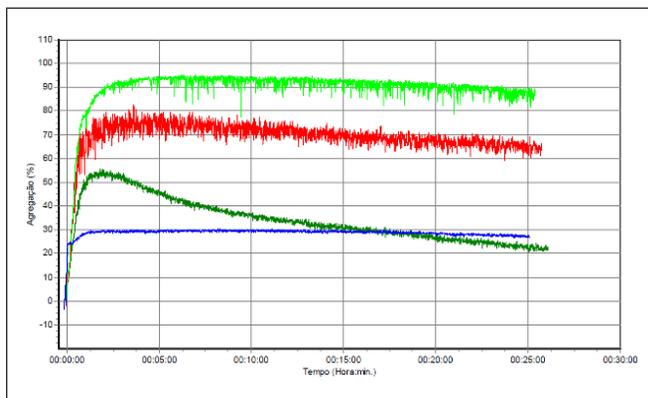


Figura 4. ATL a 28/01/2021. ADP 10 μM (54%)1 verde-escuro; Trombina/TRAP-6 50 μM (77%)1 vermelho; Ristocetina 1,5 mg/ml (94%)1 verde-claro; EPI 25 μM (30%)1 azul

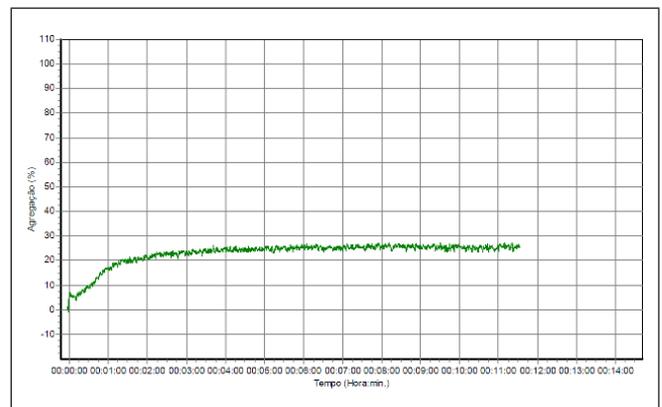


Figura 7. ATL a 11/02/2021. Repetição validada da EPI 25 μM (26%)1 verde-escuro, cujo traçado (a azul) na Figura 6 foi descartado por razões técnicas

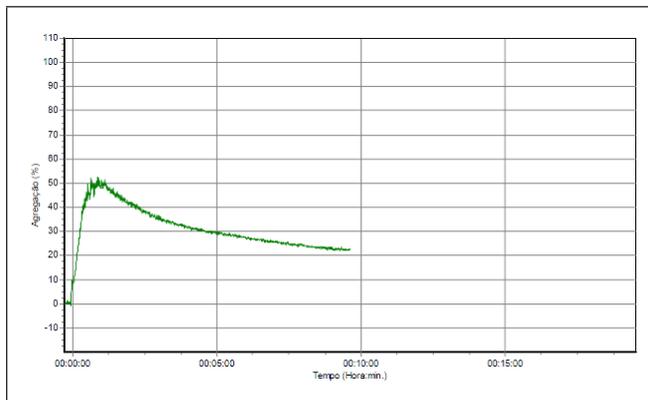


Figura 5. ATL a 28/01/2021. ADP 2 μM (51%)1 verde-escuro

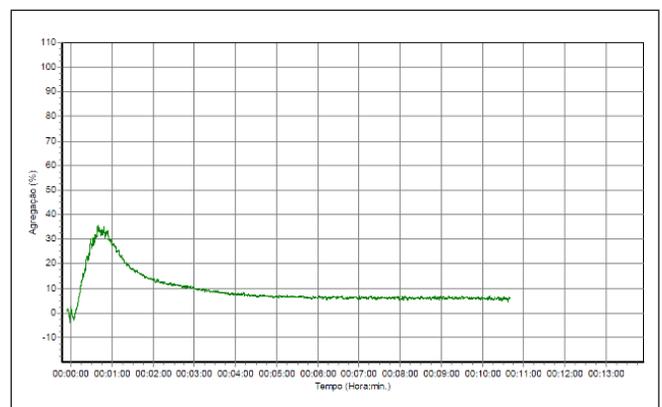


Figura 8. ATL a 11/02/2021. ADP 2 μM (34%)1 verde-escuro

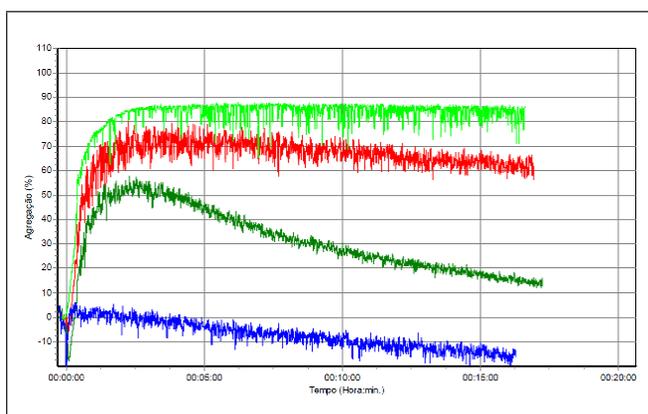


Figura 6. ATL a 11/02/2021. ADP 10 μM (55%)1 verde-escuro; Trombina/TRAP-6 50 μM (75%)1 vermelho; Ristocetina 1,5 mg/ml (87%)1 verde-claro; Traçado azul a não valorizar

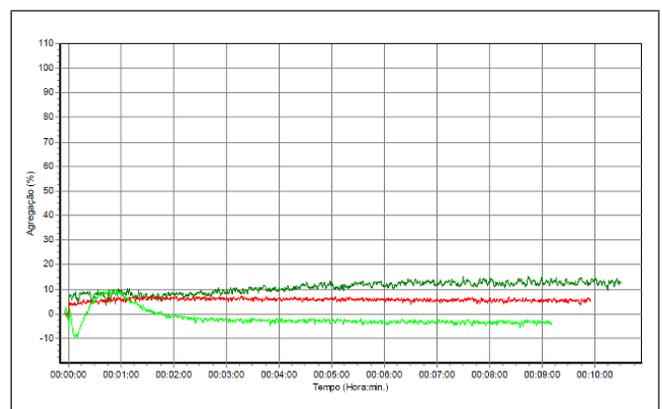


Figura 9. ATL a 25/03/2021. Colagénio 2 $\mu\text{g/ml}$ (14%)1 verde-escuro; EPI 5 μM (7%)1 vermelho; ADP 2 μM (9%)1 verde-claro

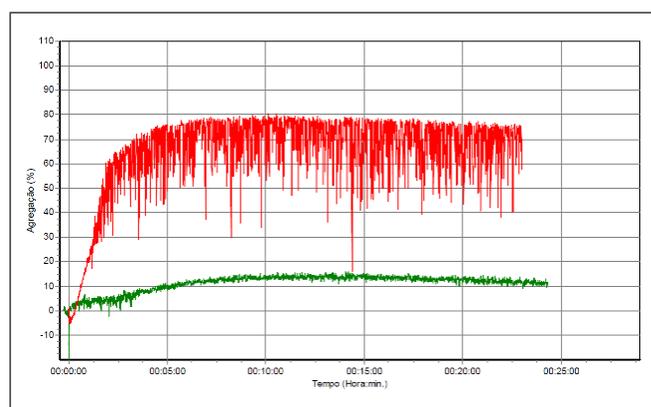


Figura 10. ATL a 25/03/2021. Colagénio 10 µg/ml (15%)¹ verde-escura; Ristocetina 1,5 mg/ml (78%)¹ vermelho

¹ agregação máxima

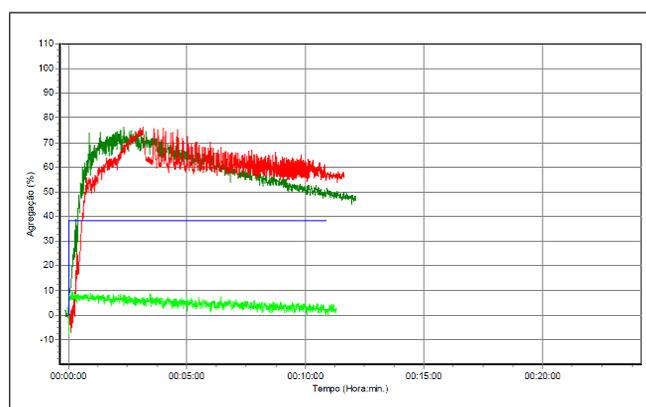


Figura 11. ATL a 25/03/2021. ADP 10 µM (73%)¹ verde-escura; Trombina/TRAP-6 50 µM (75%)¹ vermelho; AA 1 mM (8%)¹ verde-claro; EPI 25 µM (38%)¹ azul

firmarem os resultados anteriores, observou-se uma agregação progressivamente diminuída com ADP 2 µM, bem como uma diminuição significativa com a EPI nas concentrações 5 e 25 µM. Testou-se também o PRP com os agonistas AA 1mM e colagénio (2 e 10 µM), observando-se uma diminuição da agregação plaquetária sugestiva de alteração da via da tromboxano-sintetase e da adesão plaquetária. Relativamente aos agonistas ristocetina alta concentração (1,5 mg/mL) e trombina/TRAP-6, os traçados foram normais. O equipamento utilizado para a realização da ATL foi o TA-4V *SD Innovation* (STAGO[®]) com os reagentes previamente referidos.

Os únicos fármacos que o doente manteve desde o início da TARc foram o darunavir (pertencente à classe dos IP) e o tenofovir (pertencente à classe dos N(t)RTI). Na literatura, este último, não se encontra associado a alterações da função plaquetária, nem ao aumento de diátese hemorrágica. Nesse sentido, relacionamos o perfil hemorrágico do doente com as alterações adquiridas da agregação plaquetária provocadas pela terapêutica antirretrovírica, nomeadamente, pelo darunavir, num doente com défice de fator VII.

Está descrito que as queixas hemorrágicas tendem a ceder com a continuação do tratamento, caso contrário existe a possibilidade de mudar para um novo esquema de antirretrovíricos.²⁸

O doente foi medicado com o ácido ε-aminocapróico, um antifibrinolítico, a realizar aquando de procedimentos ou cirurgias *minor*. A intensidade das

gingivorragias durante as intervenções na Estomatologia diminuiu e optou-se por manter a mesma terapêutica antirretrovírica.

CONCLUSÕES

Com a introdução, na década de 1990, dos IP no regime terapêutico para o VIH, foi documentado como efeito adverso um aumento da tendência hemorrágica e/ou aparecimento de diátese hemorrágica com alguns dos fármacos pertencentes a essa classe, especialmente nos doentes com coagulopatias congénitas. Apesar de parecer existir uma relação causal, o mecanismo de ação responsável não se encontra esclarecido.^{27,28}

O caso apresentado foi sugestivo da existência de uma disfunção plaquetária afetando os recetores de membrana, a adesão, secreção e armazenamento dos grânulos. Contudo, são necessários mais estudos para corroborar a hipótese de o darunavir diminuir a agregação plaquetária, impacto desta terapêutica nos doentes com défices de fator, bem como o risco hemorrágico quando submetidos a procedimentos invasivos.

Destacamos a importância desta revisão devido à existência de pouca literatura sobre a disfunção plaquetária adquirida nos doentes com VIH sob TARc com esquemas que incluem o IP darunavir, reforçando o interesse da ATL na avaliação da função plaquetária destes doentes, para uma boa orientação clínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16(3):166-179. doi:10.1038/s41569-018-0110-0
- Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res.* 2007;100(12):1673-1685. doi:10.1161/01.RES.0000267878.97021.ab
- Andrews RK, Berndt MC. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res.* 2004;114(5-6 SPEC. ISS.):447-453. doi:10.1016/j.thromres.2004.07.020
- Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *Mechanisms of Disease. N Engl J Med.* 2008;359(9):938-949. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18753650
- KICKLER TS. Platelet biology - an overview. *Transfus Altern Transfus Med.* 2006;8(2):79-85. doi:10.1111/j.1778-428x.2006.00013.x
- Jenne CN, Urrutia R, Kubes P. Platelets: Bridging hemostasis, inflammation, and immunity. *Int J Lab Hematol.* 2013;35(3):254-261. doi:10.1111/ijlh.12084
- Scharf RE. Acquired disorders of platelet function. *Platelets.* Published online 2019:905-920. doi:10.1016/B978-0-12-813456-6.00049-7
- Casari C, Bergmeier W. Acquired platelet disorders. *Thromb Res.* 2016;141:S73-S75. doi:10.1016/S0049-3848(16)30371-1
- Nurden AT, Nurden P. Congenital platelet disorders and understanding of platelet function. *Br J Haematol.* 2014;165(2):165-178. doi:10.1111/bjh.12662
- Gresle P, Harrison P, Bury L, et al. Diagnosis of suspected inherited platelet function disorders: Results of a worldwide survey. *J Thromb Haemost.* 2014;12(9):1562-1569. doi:10.1111/jth.12650
- Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol.* 2011;155(1):30-44. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x
- Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, et al. Recommendations for the standardization of light transmission aggregometry: A consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost.* 2013;11(6):1183-1189. doi:10.1111/jth.12231
- Brass L. Understanding and evaluating platelet function. *Hematology.* 2010;2010(1):387-396. doi:10.1182/asheducation-2010.1.387
- Althaus K, Zieger B, Bakchoul T, Jurk K. Standardization of light transmission aggregometry for diagnosis of platelet disorders: an inter-laboratory external quality assessment. *Thrombosis and Haemostasis.* 2019;119(07):1154-1161. doi:10.1055/s-0039-1688791
- Jung AC, Paaus DS. Diagnosing HIV-related disease: Using the CD4 count as a guide. *J Gen Intern Med.* 1998;13(2):131-136. doi:10.1046/j.1525-1497.1998.00031.x
- Viot E, Duclos A, Adelaide L, et al. Autoimmune diseases and HIV infection a cross-sectional study. *Med (United States).* 2017;96(4). doi:10.1097/MD.00000000000005769
- Pretorius E. Platelets in HIV: A Guardian of Host Defence or Transient Reservoir of the Virus? *Front Immunol.* 2021;12(April):1-12. doi:10.3389/fimmu.2021.649465
- Woodham AW, Skeate JG, Sanna AM et al. Human Immunodeficiency Virus Immune Cell Receptors, Coreceptors, and Cofactors: Implications for Prevention and Treatment. *AIDS Patient Care and STDs.* 2016;30(7):291-306. doi:10.1089/apc.2016.0100
- Madzime M, Rossouw TM, Theron AJ, Anderson R, Steel HC. Interactions of HIV and Antiretroviral Therapy With Neutrophils and Platelets. *Front Immunol.* 2021;12(March). doi:10.3389/fimmu.2021.634386
- Getawa S, Aynalem M, Bayleyegn B, Adane T. The global prevalence of thrombocytopenia among HIV-infected adults: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases.* 2021;105:495-504. doi:10.1016/j.ijid.2021.02.118
- Chawla A, Wang C, Patton C, et al. A Review of Long-Term Toxicity of Antiretroviral Treatment Regimens and Implications for an Aging Population. *Infect Dis Ther.* 2018;7(2):183-195. doi:10.1007/s40121-018-0201-6
- Guerreiro C, Aldir I, Oliveira J, et al. Recomendações Portuguesas para o tratamento da infeção por VIH-1 e VIH-2 2016 Versão 1.0 Programa Nacional para a Infecção VIH/SIDA. *Dir da Saúde.* Published online 2016.
- Taylor KA, Smyth E, Rauzi F et al. Pharmacological impact of antiretroviral therapy on platelet function to investigate human immunodeficiency virus-associated cardiovascular risk. *British Journal of Pharmacology.* 2019;176(7):879-889. doi:10.1111/bph.14589
- Loelius SG, Lannan KL, Blumberg N, Phipps RP, Spinelli SL. The HIV protease inhibitor, ritonavir, dysregulates human platelet function in vitro. *Thrombosis Research.* 2018;169:96-104. doi:10.1016/j.thromres.2018.07.003
- J. Kort J, Aslanyan S, Scherer J, P. Sabo J, Kohlbrenner V, Robinson P. Effects of Tipranavir, Darunavir, and Ritonavir on Platelet Function, Coagulation, and Fibrinolysis in Healthy Volunteers. *Curr HIV Res.* 2012;9(4):237-246. doi:10.2174/157016211796320306
- Graff J, Von hentig N, Kuczka K, et al. Significant effects of tipranavir on platelet aggregation and thromboxane B2 formation in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61(2):394-399. doi:10.1093/jac/dkm486
- Wilde JT, Lee CA, Collins P, Giangrande PLF, Winter M, Shiach CR. Increased bleeding associated with protease inhibitor therapy in HIV-positive patients with bleeding disorders. *Br J Haematol.* 1999;107(3):556-559. doi:10.1046/j.1365-2141.1999.01748.x
- Wilde. Protease inhibitor therapy and bleeding. *Haemophilia.* 2000;6(5):487-490. doi:10.1046/j.1365-2516.2000.00420.x
- J Kort J, Aslanyan S, Scherer J, P Sabo J, Kohlbrenner V, Robinson P. Effects of tipranavir, darunavir, and ritonavir on platelet function, coagulation, and fibrinolysis in healthy volunteers. *Current HIV Research.* 2011;9(4):237-246. doi:10.2174/157016211796320306
- Loelius SG, Lannan KL, Blumberg N, Phipps RP, Spinelli SL. The HIV protease inhibitor, ritonavir, dysregulates human platelet function in vitro. *Thrombosis Research.* 2018;169:96-104. doi:10.1016/j.thromres.2018.07.003
- Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients enrolled in the D:A:D study: a multi-cohort collaboration. *The Lancet.* 2008;371(9622):1417-1426. doi:10.1016/S0140-6736(08)60423-7
- Obel N, Farkas D, Kronborg G et al. Abacavir and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy: a population-based nationwide cohort study. *HIV Medicine.* 2010;11(2):130-136. doi:10.1111/j.1468-1293.2009.00751.x
- Baum PD, Sullam PM, Stoddart CA, McCune JM. Abacavir increases platelet reactivity via competitive inhibition of soluble guanylyl cyclase. *AIDS.* 2011;25(18):2243-2248. doi:10.1097/qad.0b013e32834d3cc3

OS FATORES QUE AGRAVAM A COVID-19 E COMO MELHORAR A SAÚDE: A PANDEMIA, A HEMORREOLOGIA E A MICROCIRCULAÇÃO

Doutor Paulo Luiz Farber¹

¹ Secretário-Geral da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Médico e Investigador do Hospital da Luz de Aveiro

Coordenador e Médico Responsável do Centro Multidisciplinar de Tratamento de Feridas e Regeneração Tecidual do Hospital da Luz de Oitã

Já se passaram quase dois anos desde o início da pandemia covid-19. Já contamos mais de 5 milhões de mortos ¹, e apesar das vacinação em massa, muitos países estão voltando a decretar o confinamento das pessoas e medidas adicionais para controle da pandemia.

As medidas higiênicas, o uso de máscaras e o distanciamento social ajudam-nos a manter o vírus longe. As vacinas ajudam a evitar doenças graves ², mas esta proteção ainda é limitada, principalmente contra a nova variante Omicron, que possivelmente vai contaminar mesmo os que já se infectaram com outras

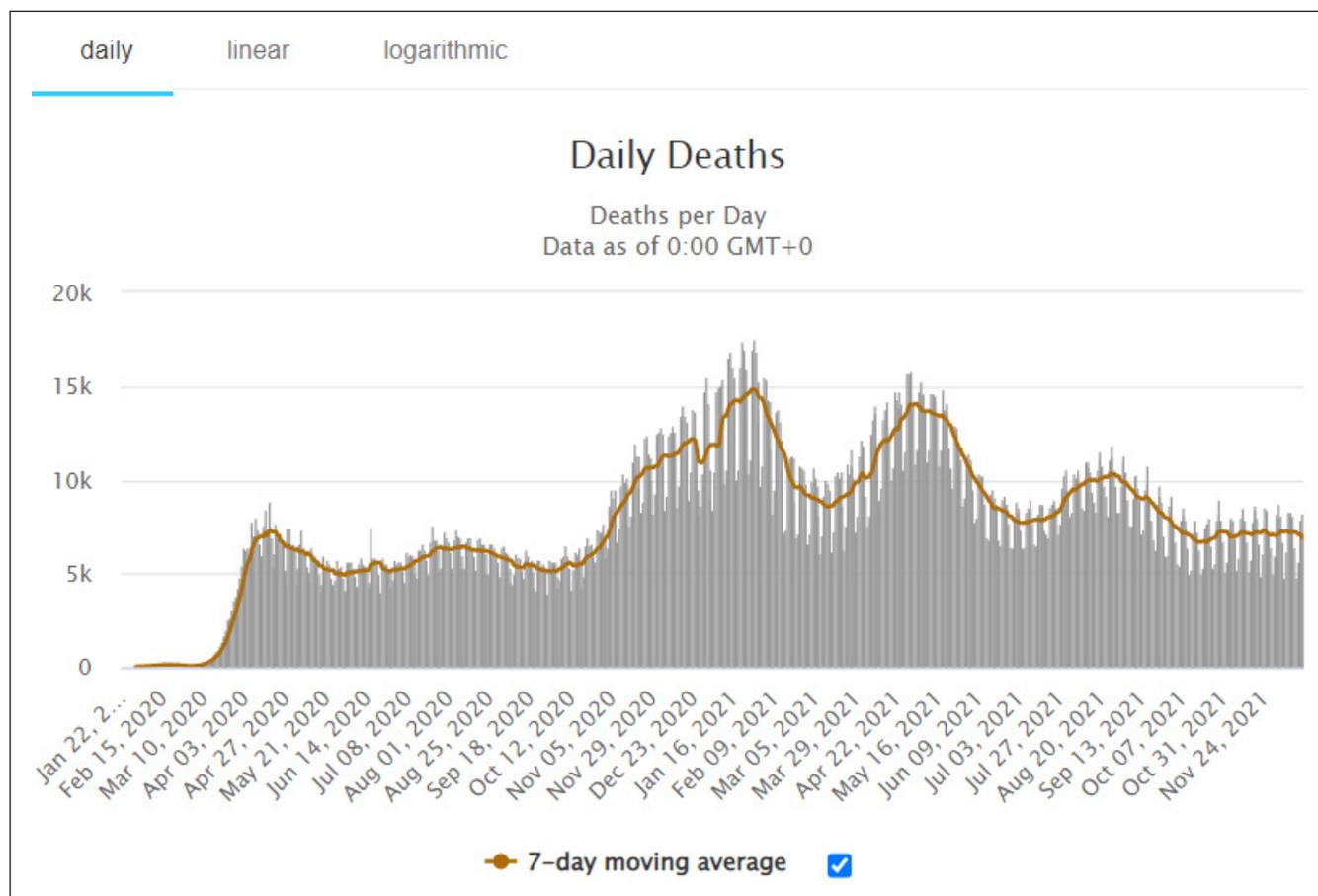


Figura 1. Mortes diárias no mundo causadas pela pandemia Covid-19. Fonte: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>

variantes³. Portanto, além das vacinas e dos cuidados gerais, temos que nos manter saudáveis. Mas como?

Para uma boa saúde, é necessário que os nossos órgãos e tecidos estejam nutridos e oxigenados. A nutrição e oxigenação dos órgãos e tecidos dependem diretamente da viscosidade do sangue na microcirculação⁴. Mas qual a relação da viscosidade na microcirculação com a pandemia Covid-19?

A viscosidade do sangue na microcirculação é muito dependente dos eritrócitos, ou glóbulos vermelhos, e esta dependência aumenta quando o diâmetro dos vasos sanguíneos diminui para menos de 300 µm. Nesta condição, duas características dos glóbulos vermelhos influenciam na viscosidade do sangue: A agregação eritrocitária e a deformabilidade eritrocitárias. Nestes vasos sanguíneos muito finos, quanto mais os glóbulos vermelhos se agregam e quanto menos se deformam, maior é a viscosidade sanguínea. E é através destes vasos sanguíneos que os tecidos e órgãos do corpo são nutridos e oxigenados. E quando a viscosidade do sangue aumenta na microcirculação, a nutrição e oxigenação podem ficar prejudicadas⁴.

As formas graves da Covid-19 frequentemente apresentam a microcirculação prejudicada e a presença de coágulos dentro dos vasos sanguíneos. As formas graves da Covid-19 também estão relacionadas a diversos fatores, como o baixo índice do hormônio feminino estrogênio, a deficiência da vitamina D, a obesidade, a diabetes e as doenças cardiovasculares⁵.

Todos estes fatores (baixo hormônio estrogênio, deficiência de vitamina D, obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares) também estão ligados a uma maior agregação eritrocitária e uma menor deformabilidade. Portanto os fatores que favorecem os quadros mais graves da Covid-19 também são os mesmos que favorecem uma pior hemorreologia e uma microcirculação prejudicada⁵.

Portanto, as pessoas que desenvolvem a Covid-19 nas formas mais severas, também têm comorbidades que estão relacionadas a um aumento da agregação e uma diminuição na deformabilidade dos glóbulos vermelhos do sangue⁵. E pacientes com Covid-19 possuem essas mesmas alterações (aumento da agregação e diminuição da deformabilidade dos eritrócitos)^{6,7}.

E COMO MELHORAR A NOSSA SAÚDE E A VISCOSIDADE DO SANGUE NA MICROCIRCULAÇÃO?

Embora ainda não temos pesquisas suficientes para todas as respostas de como melhorar a hemorreologia e a viscosidade do sangue na microcirculação, temos algumas pistas.

Nossa equipe de investigação descobriu que se adicionarmos estrogênios a sangue de homens, a deformabilidade eritrocitária melhora de acordo com a concentração do hormônio no sangue⁸. Portanto é possível que uma reposição hormonal nas mulheres na menopausa possa melhorar a hemorreologia destas. O que não sabemos ainda é a dose ideal de hormônio, e ainda são necessárias pesquisas para que se estabeleça a dose ideal.

Outra descoberta nossa foi que em mulheres na menopausa, a agregação e a deformabilidade eritrocitárias estão relacionadas com os níveis de vitamina D no sangue⁹. Portanto é possível que doses diárias de vitamina D melhorem a viscosidade do sangue na microcirculação. Pacientes com deficiência de vitamina D tem maior risco de se infectar, maior hospitalização e pior prognóstico em relação à Covid-19.

A obesidade e o diabetes são fatores de risco da Covid-19, tanto para a gravidade da doença quanto para o risco de morte. Tanto a obesidade e o diabetes estão relacionados com o aumento da agregação e a diminuição da deformabilidade dos glóbulos vermelhos do sangue. Mudanças no estilo de vida, como a melhora da alimentação e o aumento da atividade física melhoram também a agregação e a deformabilidade dos eritrócitos⁵. Portanto mudanças na dieta e na atividade física podem diminuir o risco de uma Covid-19 grave.

CONCLUSÃO

Ainda há muito o que se fazer para diminuir o risco de Covid-19. Uma estratégia promissora é melhorar a saúde, através de uma melhor oxigenação e nutrição dos tecidos e órgãos na microcirculação. Mudanças no estilo de vida como dieta e atividade física e a suplementação de hormônios e vitaminas são algumas das possibilidades que devem ser investigadas.

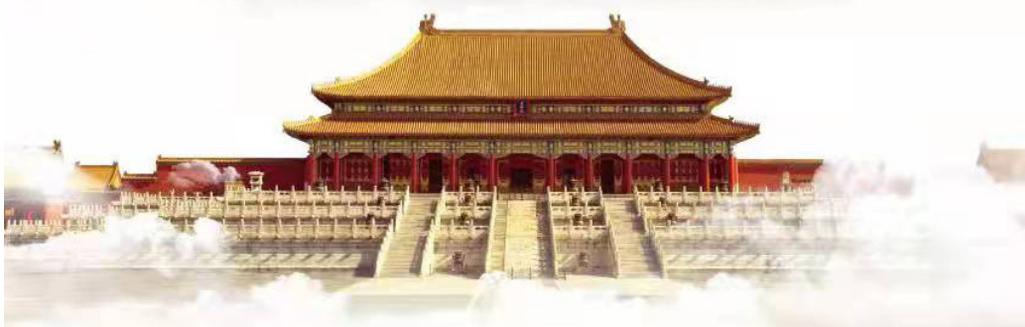
REFERÊNCIAS

1. COVID Live – Coronavirus Statistics – Worldometer. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>? Accessed December 17, 2021.
2. How to Protect Yourself & Others | CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/prevention.html>. Accessed December 17, 2021.
3. Callaway E. COVID super-immunity: one of the pandemic's great puzzles. *Nature*. 2021;598(7881):393-394. doi:10.1038/D41586-021-02795-X
4. Farber PL. Introduction to Hemorheology in Microcirculation. Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação. <http://www.hemorreologia.com/index.php/pt/boletins/summary/269-boletins-de-2021/818-boletim-n-1-de-2021-janeiro-junho>. Published 2021. Accessed December 17, 2021.
5. Farber PL. Can erythrocytes behavior in microcirculation help the understanding the physiopathology and improve prevention and treatment for covid-19? *Clin Hemorheol Microcirc*. January 2021;1-7. doi:10.3233/ch-201082
6. Kostina O, Galova E, Popovicheva A, Sosnina L, Presnyakova M. Hemorheologic disorders in COVID-19 patients. *Res Pract Thromb Haemost*. 2021;5(S2). doi:10.1002/RTH2.12589
7. Renoux C, Fort R, Nader E, et al. Impact of COVID-19 on red blood cell rheology. *Br J Haematol*. 2021;192(4):e108-e111. doi:10.1111/bjh.17306
8. Farber PL, Freitas T, Saldanha C, Silva-Herdade AS. Beta-estradiol and ethinylestradiol enhance RBC deformability dependent on their blood concentration. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;70(3):339-345. doi:10.3233/CH-180392
9. Farber PL, Dias A, Freitas T, et al. Evaluation of hemorheological parameters as biomarkers of calcium metabolism and insulin resistance in postmenopausal women. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2021;77(4):395-410. doi:10.3233/CH-200956



12th World Congress of Microcirculation

Beijing, China
20-24, Sep
2023



http://12thWCM.m-events.cn

Co-President of Congress | Professor Qi-Min Zhan, Professor Nai-Feng Liu
President of Congress | Jing-Yan Han (hanjingyan@bjmu.edu.cn)

EUROPEAN SOCIETY FOR MICROCIRCULATION

Aarhus (Denmark) // 23-27 April
2023





CONVITE

A Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação (SPHM) aceita para publicação no seu BOLETIM artigos de curta extensão. O Boletim é editado duas vezes por ano em formato electrónico (www.hemorreologia.com).

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 *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 (anarmsilva@medicina.ulisboa.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 respetivas 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 diretamente 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 respetivas 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 online publication (www.hemorreologia.com), is distributed two times a year.

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 *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 (anarmsilva@medicina.ulisboa.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)

