

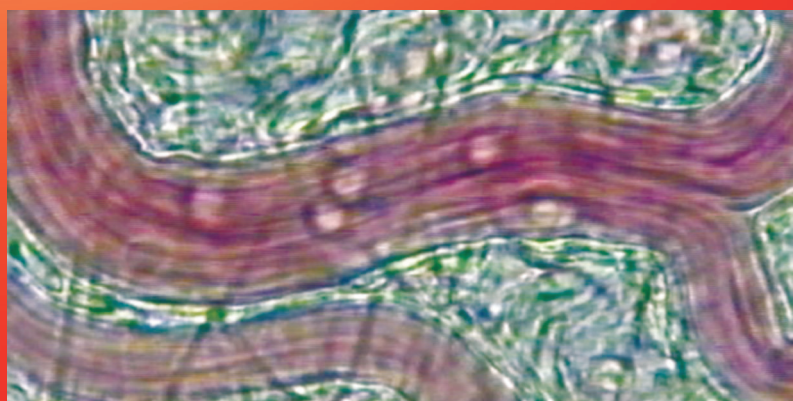


publicação semestral

Janeiro-Junho

vol. 31 n.º 1 2016

BSPHM



www.hemorreologia.com

Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Bulletin of the Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

BOLETIM

Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Bulletin of the Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

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

Vol. 31 n.º 1 Janeiro-Junho 2016

Sumário / Summary

NOTA DE ABERTURA/EDITORIAL

- The 18th Conference of the European Society of Clinical Hemorheology and Microcirculation (CESCHM) 3
Carlota Saldanha, José Braz Nogueira

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW ARTICLE

- Algumas notas sobre a microcirculação na hipertensão arterial 5
Paulo André Dias Bastos
- Clinico-biological factors and pre-analytical variables in hemostasis – The expected and the unpredictable 10
Maria Manuel Campos
- Fatores clínico-biológicos e variáveis pré-analíticas em hemostase – O expectável e o imprevisto

ATUALIZAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS/ARCHIVE

- Systems biology of the microvasculature 21
- Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs 22
- Red blood cell storage duration and trauma 23

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

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

Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Presidente Honorário: Prof. Doutor João Alcindo Martins e Silva

ÓRGÃOS SOCIAIS DA SPHM / BOARDS (2014-2016)

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

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

Conselho Científico / / Scientific Council

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

Individualidades / / Distinguished Members

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

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

FILIAÇÃO INTERNACIONAL

EUROPEAN SOCIETY FOR CLINICAL HEMORHEOLOGY
EUROPEAN SOCIETY FOR MICROCIRCULATION

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

Esta publicação foi subsidiada por:

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

O **Boletim (ISSN 2182-6005)** é publicado semestralmente pela Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação. **Depósito Legal** 30 525/89. **Tiragem** 100 exemplares **Distribuição** sócios, sociedades científicas afins, entidades oficiais e privadas de âmbito médico e áreas de educação da ciência. Todos os direitos estão reservados. **Preço de cada número avulso:** 5 €, a que acresce 2,5 € para portes de correio. **Editor, Proprietário, Administração e Secretariado:** Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação, a/c Instituto de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. **Endereço do Secretariado:** Apartado 4098, 1501-001 Lisboa, Portugal. **Telefone** 217 985 136; **Fax:** 217 999 447 **Execução Gráfica:** Publicações Ciência e Vida, Lda. **Telef.:** 214 787 850; **Fax:** 214 020 750. **E-mail:** pub@cienciaevida.pt

THE 18TH CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CLINICAL HEMORHEOLOGY AND MICROCIRCULATION (CESCHM)

Please find below a brief presentation of the major highlights of the 18th CESCHM, taking place from 5 to 8 June 2016 in Lisbon, www.hemorreologia.com.

One of the aims of the European Society of Clinical Hemorheology and Microcirculation is to create an opportunity for delegates from different National Societies to come together, sharing and discussing their research and experiences.

The 18thCESCHM counted with 177 international participants. A high level scientific programme was produced with excellent scientific contributions contributing to the increase of knowledge of basic and clinical hemorheology and microcirculation. New questions were raised and new opportunities of networking initiated.

From the programme and the abstract book, both posted online, we can verify that several scientific topics were presented, from the molecular basis, such as Biomechanics, Biochemistry, Biophysics, Mathematics Modelling, to the evidence based medicine and clinical practical results.

We had the unique opportunity to participate in 12 Lectures, 15 Symposia, of which only one Portuguese. Assist to 52 Oral Communications and 49 Poster presentations.

The need of translational research was highlighted in the 18th CESCHM by the President of the Opening Ceremony Professor Carmo Fonseca in her quality of President of the Lisbon Academic Medical Centre. Her wishes were fulfilled.

We would highlight the attribution of the Fahraeus Award Medal to Nadia Antonova, emphasizing the fact that it was the first time this prize was awarded to a woman.

Please see the photo where Tommaso Gori the President of the European Society of Clinical Hemorheology and Microcirculation has the pleasure and honor to present Nadia Antonova with this recognition of her scientific contribution in the field of the Hemorheology.



Also for the first time the Oguz Baskurt Travel Award, created by Herb and Karin Meiselman Foundation, in the amount of \$1,500 will be presented. Young candidates (PhD and Post Doc) can apply by writing an extended abstract submitted with their curriculum vitae. The winner will be selected by an appropriate ESCHM committee.

This year the winner was Kisung Lee, a PhD student of Alexander Priezzhev and Igor Megliski, from University of Oulu, Finland and Moscow State University, Russia, with the work entitled

“Red blood cells interaction in interchanging media”.

For the welcome reception all participants enjoyed an excellent Musical Performance performed by the Orchestra “Médica de Lisboa” and the choir “Médico da Lisboa”.

A special Issue of the Clinical Hemorheology and Microcirculation will be published with all the lectures and others manuscripts selected by the chairman and co-chairman of the Symposia, Oral Communications and Posters presentations.

We would like to thank the members of the international Advisory Committee, National Scientific Committee and Local Organising Committee. A special thank goes to all volunteers’ Master students by their work during the days of the conference. We also are recognised the scientific support of the Portuguese Society of Hypertension, the Portuguese Society of Atherosclerosis and the Portuguese Society of Cardiology.

A special thank you to Manuel Bicho who organised the only Portuguese Symposium with the help of Instituto Bento da Rocha Cabral that allowed the presence of Jose Romero.

We recognize the support of the Fundação Caixa Geral de Depósitos and Culturgest, providing the participants with their programme with opportunities for relaxing and enjoyable cultural moments.

We thank DMT and A. Menarini Portugal for their presence during the 18th CESCHM and also Merck Sharp and Dohme for their support covering participants’ registrations.

Last but not the least, we would like to thank Leading – Your Congress Organizer, a beautiful, efficient, dedicated, friendly and enthusiastic Secretariat to whom we will stay forever thankful.

Carlota Saldanha
Chairman of the 18th CESCHM

José Braz Nogueira
Co-chairman of the 18th CESCHM

ALGUMAS NOTAS SOBRE A MICROCIRCULAÇÃO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL

Tiago Pack¹, Pedro Marques da Silva²

RESUMO

A hipertensão arterial é caracterizada por um aumento progressivo da pressão arterial média e por um aumento concomitante das resistências vasculares periféricas, que, no conjunto, se correlacionam com alterações funcionais e estruturais tanto macro como microvasculares.

É cada vez mais reconhecida a importância da microcirculação tanto na fisiopatologia como no tratamento da hipertensão arterial. Diversos trabalhos sublinham a evidência entre o compromisso da microcirculação e a sua associação com as lesões de órgão alvo, sendo, portanto, um fator a considerar em novas abordagens terapêuticas. O presente artigo pretende destacar – em notas corridas – a relação entre a microcirculação e hipertensão arterial.

Palavras-chave: microcirculação, hipertensão arterial, lesão órgão-alvo.

DEFINIÇÃO

Apesar de não haver uma definição universalmente aceite, admite-se que microcirculação comporta todas as estruturas vasculares com diâmetro < 150 µg (nomeadamente as arteríolas e os capilares). Alguns autores propõem, ao invés de considerar o diâmetro ou a estrutura dos vasos, uma classificação mais fisiológica que tem em conta a resposta das estruturas vasculares ao aumento de pressão interna^[1].

A microcirculação tem como principais funções: a otimização da resposta à variação das necessidades nutricionais, o aporte de oxigénio aos tecidos e a regulação da pressão hidrostática, através da resistência arterial, contribuindo para evitar perturbações nas trocas realizadas ao nível dos capilares¹.

Ao nível das grandes artérias, há uma significativa diminuição de pressão mínima, em particular a nível

dos vasos pré-capilares, cujos diâmetros variam entre 10 a 300 µg. A resistência periférica nas pequenas artérias e arteríolas é responsável por 45-50% e os capilares por 23-30% das resistências periféricas totais.

MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS E PAPEL DA MICROCIRCULAÇÃO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL

A Sociedade Europeia de Hipertensão reviu os aspetos fundamentais do papel e das repercussões da microcirculação na hipertensão arterial (HTA)²⁻³. Do ponto de vista hemodinâmico, a HTA fundamenta-se (por definição) no aumento mantido da pressão arterial e no aumento das resistências vasculares periféricas (RVP). No entanto, esta enunciação tende a ser simplista. De fato, a HTA compreende 2 componentes

¹ Interno de Medicina Interna, Unidade Funcional Medicina 4, Hospital de Santa Marta (coordenador: Prof. Doutor A. Sousa Guerreiro), Centro Hospitalar Lisboa Central, EPE

² Consultor de Medicina Interna, especialista de Hipertensão Clínica. Núcleo de Investigação Arterial, Unidade Funcional Medicina 4, Hospital de Santa Marta (coordenador: Prof. Doutor A. Sousa Guerreiro), Centro Hospitalar Lisboa Central, EPE

interrelacionados, o elemento pulsátil (pressão de pulso; PP) – dominado, primariamente, pelas propriedades elásticas dos grandes condutos arteriais – e o componente estável (pressão arterial média; PAM) – modulado pelas pequenas artérias e arteríolas (e pela resistência ao fluxo que as mesmas condicionam). Acresce-se, como já foi aventado, que este último compartimento vascular, contínuo, é responsável pela queda gradual da pressão arterial, de modo que a microcirculação arterial (genericamente, com um diâmetro entre 10-300 μm) é o ponto da resistência hemodinâmica e, por isso, do controlo da PAM.

As anomalias estruturais da microcirculação são comuns na HTA crónica⁴. No hipertenso, a estrutura e função da microcirculação encontram-se comprometidas por: a) alteração dos mecanismos responsáveis pela regulação do tónus vasomotor, com consequente vasoconstrição excessiva ou diminuição da resposta vasodilatadora; b) potenciais alterações anatómicas estruturais por aumento na razão parede-lúmen, que condiciona maior resistência na vasculatura pré-capilar; e c) variações ao nível da rede microvascular, com redução da densidade arteriolar ou capilar, fenómeno conhecido por rarefação capilar^{1,7-9}.

Durante os primeiros anos de HTA, progride a disfunção endotelial, cujas alterações podem estar associadas à ativação da via alternativa da ciclooxigenase, com indução de *stress* oxidativo e menor biodisponibilidade de monóxido de azoto (“óxido nítrico”, EDNO), com comprometimento dos fenómenos de vasodilatação endotelial. Esta alteração na via do EDNO poderá também ser um mecanismo central na promoção e progressão da aterosclerose e dos fenómenos trombóticos na HTA. A aterogénese inicia-se e progride – ao longo da vida – pelo efeito multiplicativo de diferentes traços predisponentes intrínsecos (e.g. variantes genéticos e género que modulam o ambiente aterogénico endógeno) e fatores de risco intrínsecos que atuam no endotélio arterial e nas estruturas vasculares subjacentes (em que a HTA é um elemento paradigmático).

O aumento crónico da pressão arterial (PA), juntamente com o *stress* mecânico exercido sobre a parede vascular, induz a hipertrofia da parede muscular, que simultaneamente com a diminuição do lúmen (num processo, habitualmente, designado por remodelagem¹⁴) (figura 1) tem um papel fundamental no aumento das RVP, frequentemente tido como uma resposta adapta-

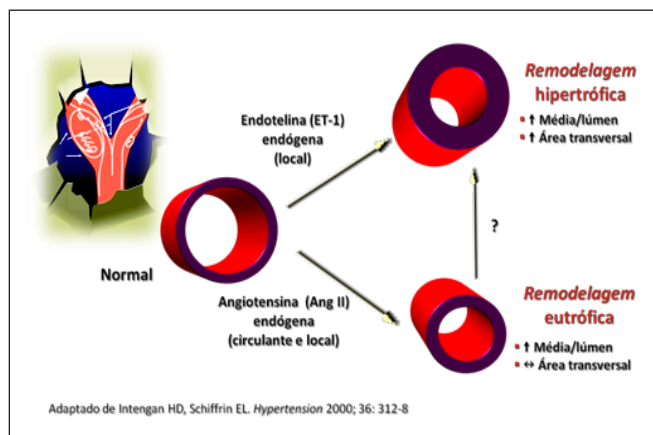


Figura 1. Remodelagem arterial na HTA

tiva ao incremento da sobrecarga hemodinâmica (mas também participante ativo na fisiopatologia das complicações hipertensivas e nas lesões dos órgãos alvo).

Os processos gerais, moleculares, da remodelagem vascular na HTA estão ainda mal esclarecidos (ainda que, frequentemente, seja invocada a participação das integrinas e matriz extracelular, do sistema renina-angiotensina e da endotelina) (figura 1)⁴. As artérias de resistência (diâmetro interno < 350 μm) sofrem um aumento da espessura da média, com redução do lúmen e do diâmetro externo e incremento do rácio média-lúmen, mas sem alteração da quantidade total da parede vascular (e da área média transversal). Estas alterações estruturais derivam do rearranjo das estruturas da parede, em torno do lúmen dos pequenos vasos, sem uma clara resposta hipertrófica (remodelagem interna eutrófica). Pelo contrário, em fases mais graves da HTA, em algumas formas de HTA secundária (e.g. aldosteronismo primário) e na diabetes, o processo de remodelagem decorre com hipertrofia e/ou hiperplasia dos elementos celulares da parede vascular (remodelagem hipertrófica). Na HTA, a remodelagem eutrófica é, habitualmente, acompanhada ao nível das pequenas artérias, mas também da vasculatura pré-capilar, por fenómenos de restrição luminal com consequente rarefação capilar.

RELAÇÃO ENTRE MICROCIRCULAÇÃO E HIPERTENSÃO: CAUSA E EFEITO?

A figura 2 pretende reter os pontos essenciais da inter-relação entre a adaptação (e rarefação) microvas-

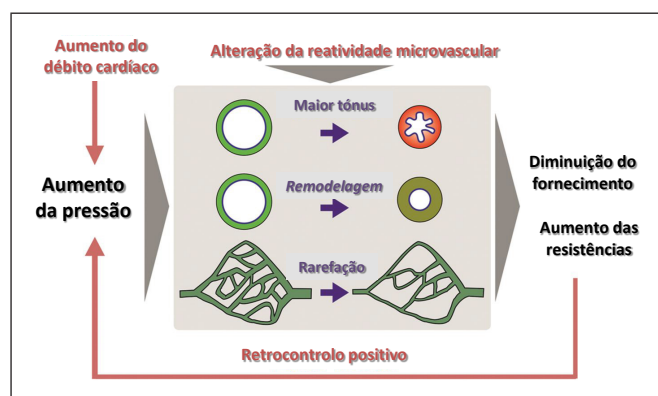


Figura 2. HTA, microcirculação e rarefação capilar

cular e o desenvolvimento e progressão da HTA. O aumento do débito cardíaco e consequente aumento da PA promove um acréscimo do tônus miogénico, a remodelagem interna e rarefação vascular, com redução do aporte tecidual e o aumento a resistência ao fluxo. O aumento das resistências vasculares, por sua vez, redundam num maior aumento na PA e na criação de um retrocontrole positivo (autorregulação estrutural). Deste modo, as alterações microvasculares na HTA aparecem como causa e efeito, compondo um “ciclo vicioso”, um mecanismo redundante fisiopatológico^{1,5}.

Alguns estudos apontam para um eventual papel da viscosidade sanguínea no compromisso da perfusão capilar tecidual dos diferentes órgãos, a par das já referidas alterações da parede vascular (e da disfunção endotelial).

CONSEQUÊNCIAS FUNCIONAIS E LESÃO DE ÓRGÃO ALVO

Inúmeros estudos têm esclarecido a relação entre as lesões de órgão alvo e as alterações da microcirculação arroladas à HTA, nomeadamente as lesões renais, cardíacas, cerebrovasculares e do olho (figura 3)¹⁰.

LESÃO RENAL

A relação da microalbuminúria com a HTA é, desde há muito tempo, conhecida, condicionando, quando presente, um aumento do risco cardiovascular (CV) e da mortalidade CV e total. Num estudo recen-

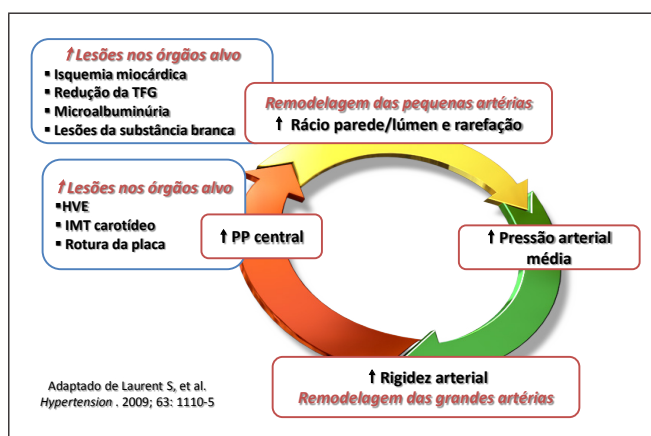


Figura 3. Inter-relação entre grandes e pequenas artérias na HTA

te (RACE: *micRoAlbumin sCreening survEy*), num total de 9 198 de portugueses, a prevalência de microalbuminúria nos hipertensos foi de 43% e de 58% nos hipertensos com diabetes tipo 2 (figura 4). Se atentarmos que a microalbuminúria está associada a um significativo agravamento prognóstico CV a longo prazo, nomeadamente pelo que indicia de disfunção vascular sistémica e das estruturas podocitárias e glomerulares, inteligível é pressupor a uma elevada carga de risco desta população^{1-2,6}.

A PA sistólica elevada compromete a capacidade de resposta do tônus miogénico ao nível da circulação renal, diminuindo a autorregulação e, desta forma, promovendo o barotrauma e a consequente lesão glomerular. Têm sido demonstradas relações significativas entre a PP braquial e a taxa de filtração glomerular (TFG) ou a microalbuminúria, entre a rigidez

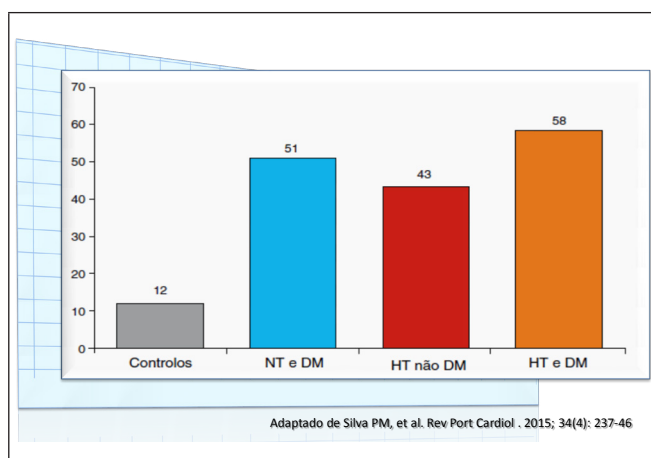


Figura 4. Frequência da microalbuminúria nas diferentes populações do RACE

arterial carotídea e a TFG, e entre a PP central (aórtica) e doença renal terminal. Desta forma, e ainda que tenhamos em conta potenciais viés ou fatores de confusão, não esclarecidos, parece possível aventar com segurança uma relação crescente entre pulsatilidade arterial e lesão renal¹⁰.

LESÃO CARDÍACA

A estrutura e a densidade da microvasculatura do miocárdio encontram-se também comprometidas, tendo sido relatado, em estudos animais e humanos, a escassez do crescimento microvascular, com consequentes fenômenos de rarefação capilar decorrente da hipertrofia cardíaca por sobrecarga de pressão, reforçada pela fibrose intersticial, pelas forças compressivas na sístole, pelo do aumento do stress na parede miocárdica e pela alteração do relaxamento diastólico.

Portanto, a rarefação e a *remodelagem* coronária intramiocárdica e a hipertrofia e disfunção diastólica ventricular esquerda contribuem para a diminuição da reserva do fluxo coronário, a alteração da perfusão tecidual, a maior suscetibilidade a isquemia e a padrões anormais da atividade elétrica em situações que exijam maiores necessidades metabólicas e de oxigênio. Curiosamente, as alterações da reserva coronária parecem ter uma distribuição regional heterógena em muitos doentes, e noutros serem mais disseminadas e difusas. Finalmente, a aterosclerose das artérias coronárias epicárdicas agravam os efeitos deletérios das lesões referidas e contribuem, desta forma, para a patogênese da doença cardíaca isquêmica^{2,9-10}.

LESÃO CEREBRAL

Há evidência crescente de que o aumento da PP se transmite às artérias cerebrais e favorecem a remodelagem de pequenas artérias, com aumento progressivo da rigidez arterial, com afetação potencial e sequencial da substância branca. A circulação cerebral (bem como a renal) é particularmente suscetível à lesão induzida pela pressão, já que coexiste com uma resistência vascular mínima, pelo que a PP central é facilmente transmitida da aorta para as artérias cerebrais (e também renais). O índice de pulsatilidade do

fluxo carotídeo, bem como a PP carotídea, estão associados a aumento de risco de lesão microvascular cerebral (com enfartes subcorticais silenciosos ou lesões da substância branca). A rigidez carotídea está também associada à progressão das lesões na substância branca, independentemente dos fatores de risco CV presentes e da existência de placas carotídeas¹⁰.

MICROCIRCULAÇÃO RETINIANA

As alterações estruturais características da vasculatura retiniana na HTA encontram-se documentadas há mais de 100 anos, bem como a relação entre o desenvolvimento/progressão das mesmas com a gravidade e duração da doença. No primeiro estudo que narrou as alterações do fluxo sanguíneo e da densidade capilar na microvasculatura retiniana, atestou-se que rarefação dos capilares perifoveolares e a diminuição da velocidade de fluxo capilar era muito marcada nos hipertensos, quando comparada com os normotensos. Curiosamente, outros estudos revelam que as alterações arteriolares retinianas coincidem, igualmente, com alterações da microcirculação cutânea e do músculo esquelético, indiciando a natureza sistêmica da doença.

Existem vários métodos que nos permitem estudar a microcirculação (figura 5)^{10-11,13}. Em 1904, W. M. Bayliss descreveu a constrição miogénica arteriolar em resposta ao aumento da pressão transmural. O chamado “efeito de Bayliss” é um mecanismo central que permite a autorregulação do fluxo sanguíneo num órgão independentemente das variações da pressão de

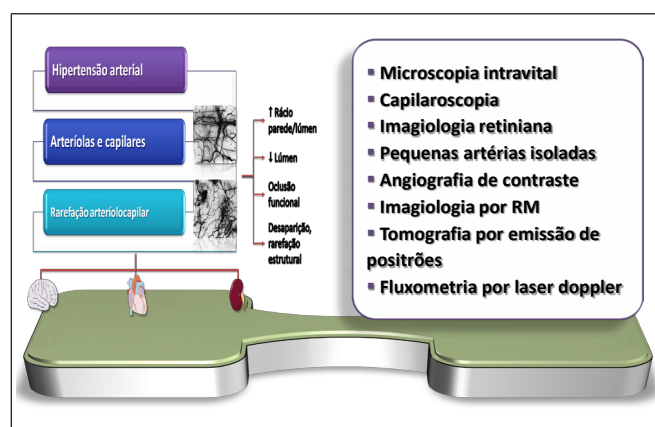


Figura 5. Metodologias principais de avaliação da microcirculação

perfusão¹²⁻¹³. A retina humana apresenta este tipo de autorregulação numa vascularização terminal acessível (de baixo custo), o que realça a importância da realização de fundoscopia na avaliação do hipertenso e no estudo da microcirculação. O rácio parede-lúmen das arteríolas retinianas está significativamente aumentado nos doentes com doença vascular cerebral (cl clinicamente evidente) e nos hipertensos com deficiente controlo dos valores tensionais, estando também arrolado a um aumento da excreção urinária de albumina.

IMPLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

Do que deixámos enunciado, pode-se conjecturar que a prevenção (e potencial regressão) das lesões nos órgãos alvo na HTA passa pelo controlo efetivo e mantida nos valores tensionais e, eventualmente, por uma opção terapêutica que favoreça e contrarie a rarefação microvascular, a remodelagem arterial e a redução da razão parede-lúmen.

Enunciar estes objetivos é também mudar o foco terapêutico. Inicialmente, a terapêutica anti-hipertensora estava, sobretudo, centrada na alteração do tónus vasomotor. Atualmente, pretende-se que a estratégia farmacológica seja capaz de reduzir ou reverter alterações – e os seus pressupostos fisiopatológicos – nas RVP (e para a mitigação e o retroceder da rarefação microvascular). Esta escolha, a par do conhecimento e experiência individual, tem em conta o grau de risco CV (que tem nas lesões presentes e identificadas nos órgãos alvo é um dos mais fatores influenciadores) e, conseqüentemente, as opções preferenciais face à situação clínica em concreto.

CONCLUSÃO

O papel da microcirculação é cada vez mais reconhecido na fisiopatologia da doença CV. As alterações microvasculares serão tanto causa como efeito na progressão da síndrome hipertensiva. Independentemente do mecanismo inicial, as alterações estruturais e funcionais da microvasculatura promovem e favore-

cem fenómenos diversos de *remodelagem* e rarefação capilar, com conseqüente atingimento e lesão de órgão alvo. O conhecimento destes mecanismos é relevante e tem implicações terapêuticas que não podemos amenizar. Com base nos conhecimentos atuais, a otimização da perfusão tecidual e a restauração de uma microcirculação eficaz poderão constituir um método superior de proteção CV no doente hipertenso.

BIBLIOGRAFIA

1. Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HAJ. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation*. 2001; 104: 735-40
2. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee DE, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen SE, Laurent S, Manolis AJ, Nilsson PM, Ruilope LM, Schmieder RE, Sirnes PA, Sleight P, Viigimaa M, Waeber B, Zannad F; Task Force Members. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*. 2013; 31: 1281-357
3. Struijker-Boudier HAJ, Agabiti-Rosei E. The microcirculation and the haemodynamics of hypertension. European Society of Hypertension. *Clinical Practice Newsletters* (updated 2011): nº 34: 67-68.
4. Rizzoni D, De Ciuceis C, Salvetti M, Paini A, Rossini C, Agabiti-Rosei C, Muiesan ML. Interactions between macro- and micro-circulation: are they relevant? *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2015; 22: 119-28
5. Axel RP. Microcirculation in hypertension and cardiovascular disease. *Eur Heart J Suppl*. 2014; 16 (suppl A): A28-A29
6. Marques da Silva P, Carvalho D, Nazaré J, Martins L, Aguiar C, Manso MC, Carqueja T, Polónia J. Prevalência da microalbuminúria em doentes hipertensos e/ou diabéticos tipo 2 nos Cuidados de Saúde Primários em Portugal: Estudo RACE (micRoAlbumin sCreening survEy). *Rev Port Cardiol*. 2015; 34(4): 237-46
7. Feihl F, Liaudet L, Waeber B, Levy BI. Hypertension: a disease of the microcirculation? *Hypertension*. 2006; 48: 1012-7
8. Tarek FTA, Donald RJS, Nirmala DM, Peter SM, Graham AM. Rarefaction of skin capillaries in borderline essential hypertension suggests an early structural abnormality. *Hypertension*. 1999; 34: 655-8
9. Pries AR, Badimon L, Bugiardini R, Camici PG, Dorobantu M, Duncker DJ, Escaned J, Koller A, Piek JJ, de Wit C. Coronary vascular regulation, remodelling, and collateralization: mechanisms and clinical implications on behalf of the working group on coronary pathophysiology and microcirculation. *Eur Heart J*. 2015 Jun 25. pii: ehv100. [Epub ahead of print]
10. Lockhart CJ, Hamilton PK, Quinn CE, McVeigh GE. End-organ dysfunction and cardiovascular outcomes: the role of the microcirculation. *Clin Sci (Lond)*. 2009; 116: 175-90.
11. Struijker-Boudier HA, Rosei AE, Bruneval P, Camici PG, Christ F, Henrion D, Lévy BI, Pries A, Vanoverschelde JL. Evaluation of the microcirculation in hypertension and cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2007; 28: 2834-40
12. Blum M, Saemann A, Wolf G. The eye, the kidney and microcirculation. *Nephrol Dial Transplant*. 2011; 26: 4-6
13. Cheung CY, Ikram MK, Sabanayagam C, Wong TY. Retinal microvasculature as a model to study the manifestations of hypertension. *Hypertension*. 2012; 60: 1094-103
14. Feihl F, Liaudet L, Levy BI, Waeber B. Hypertension and microvascular remodelling. *Cardiovasc Res*. 2008; 78: 274-85
15. Laurent S, Briet M, Boutouyrie P. Large and small artery crosstalk and recent morbidity-mortality trials in hypertension. *Hypertension*. 2009; 54: 388-92

CLINICO-BIOLOGICAL FACTORS AND PRE-ANALYTICAL VARIABLES IN HEMOSTASIS – THE EXPECTED AND THE UNPREDICTABLE

FATORES CLÍNICO-BIOLÓGICOS E VARIÁVEIS PRÉ-ANALÍTICAS EM HEMOSTASE – O EXPECTÁVEL E O IMPREVISTO

Maria Manuel Campos¹

ABSTRACT

This review focuses the impact of pre-analytical variables and epidemiological, pathophysiological, behavioral and other factors in the hemostasis laboratory process considering the interaction of endogenous mechanisms and comorbidities with environment and iatrogenic background. The most frequent laboratory errors occur in the pre-analytical phase. Well-planned surveys have been developed on the subject of interfering causes in samples, hemorheological and microcirculatory biomarkers and frequency of related hemorrhagic and thrombotic events. Factors such as nutrition, age, gender, blood group, physical exercise, pregnancy, chronic diseases, mutations, anticoagulant and antiplatelet medication, procedures involving extracorporeal circuits, lifestyles, circadian rhythm and acute phase of thrombotic events as well as sample conditions interfere in results. The heterogeneity of variables that are independent of laboratory methodology must be emphasized, whereby keep impact on the reliability and diagnostic, predictive and monitoring value of the hemostasis assessment.

Keywords: hemostasis, pre-analytical variables, clinical factors, biomarkers

RESUMO

Nesta revisão foca-se o impacto das variáveis pré-analíticas e de fatores epidemiológicos, fisiopatológicos, comportamentais e outros no processo laboratorial em hemostase, considerando a interação de mecanismos endógenos e comorbilidades com o ambiente e iatrogenia. Os erros mais frequentes no laboratório ocorrem na fase pré-analítica. Investigação bem planeada tem sido desenvolvida acerca de causas interferentes nas amostras, biomarcadores hemorreológicos e microcirculatórios e frequência de eventos hemorrágicos e trombóticos associados. Fatores como nutrição, idade, género, grupo sanguíneo, atividade física, gravidez, doenças crónicas, mutações, medicação anticoagulante e antiagregante plaquetária, procedimentos envolvendo circuitos extracorporais, hábitos, ritmo circadiano e fase aguda de eventos trombóticos, bem como condições das amostras interferem nos resultados. A heterogeneidade das variáveis independentes da metodologia laboratorial deve ser enfatizada, pois produz impacto na fiabilidade e valor diagnóstico, preditivo e de monitorização dos estudos da hemostase.

Termos-chave: hemostase, variáveis pré-analíticas, fatores clínicos, biomarcadores

¹ Médica – Consultora de Imuno-Hemoterapia. Serviço de Imuno-Hemoterapia do Hospital Curry Cabral – Centro Hospitalar Lisboa Central, EPE. Lisboa, Portugal. Morada para correspondência: Serviço de Imuno-Hemoterapia do Hospital Curry Cabral – Centro Hospitalar Lisboa Central, EPE. Rua da Beneficência, N.º 8, 1069-166 Lisboa, Portugal. E-mail: mmcampos@hccabral.min-saude.pt

INTRODUÇÃO – UMA SINOPSE DA HEMOSTASE

O processo da hemostase inicia-se com a lesão vascular e exposição da matriz extracelular, ocorrendo a ligação do fator (F) de von Willebrand (vW) ao colagénio exposto e à glicoproteína (GP) Ib^{1,2}.

Segundo a clássica cascata da coagulação, a ativação do FXII sucede, na via intrínseca, através do contacto do sangue com superfícies de carga negativa e requer a pré-caliceína e o cininogénio de elevado peso molecular. Na via extrínseca, o FVII é ativado, formando um complexo com o fator tecidual (TF). Estas duas vias, que se unem na via comum pela formação do FX ativado (a), não expressam plenamente os mecanismos *in vivo* e novos modelos surgiram, baseados nas superfícies celulares (Fig. 1)^{1,2}.

Destaca-se a conversão da protrombina em trombina e do fibrinogénio em fibrina e a sua estabilização pelo FXIIIa. O inibidor da via do FT (TFPI), o sistema trombomodulina (TM)/ proteína C (PC) e proteína S (PS), bem como a antitrombina III (AT) intervêm em mecanismos fisiologicamente antitrombóticos¹⁻³.

A fibrinólise desencadeia-se com a libertação do ativador do plasminogénio tecidual (t-PA) pelas células endoteliais, ocorrendo a conversão do plasminogénio (PLG) em plasmina e a lise de coágulos de fibrina. A ligação da plasmina à fibrina depende da lisina, o inibidor da plasmina (IP) ou α_2 -antiplasmina (α_2 -AP) e o inibidor do ativador do PLG (PAI) -1 e -2 são cruciais^{3,4}.

Um ponto de intersecção importante é o sistema da TM-PC-trombina e a fibrinólise: 1) inativação de FVa e FVIIIa pela PC ativada (APC); 2) ativação do

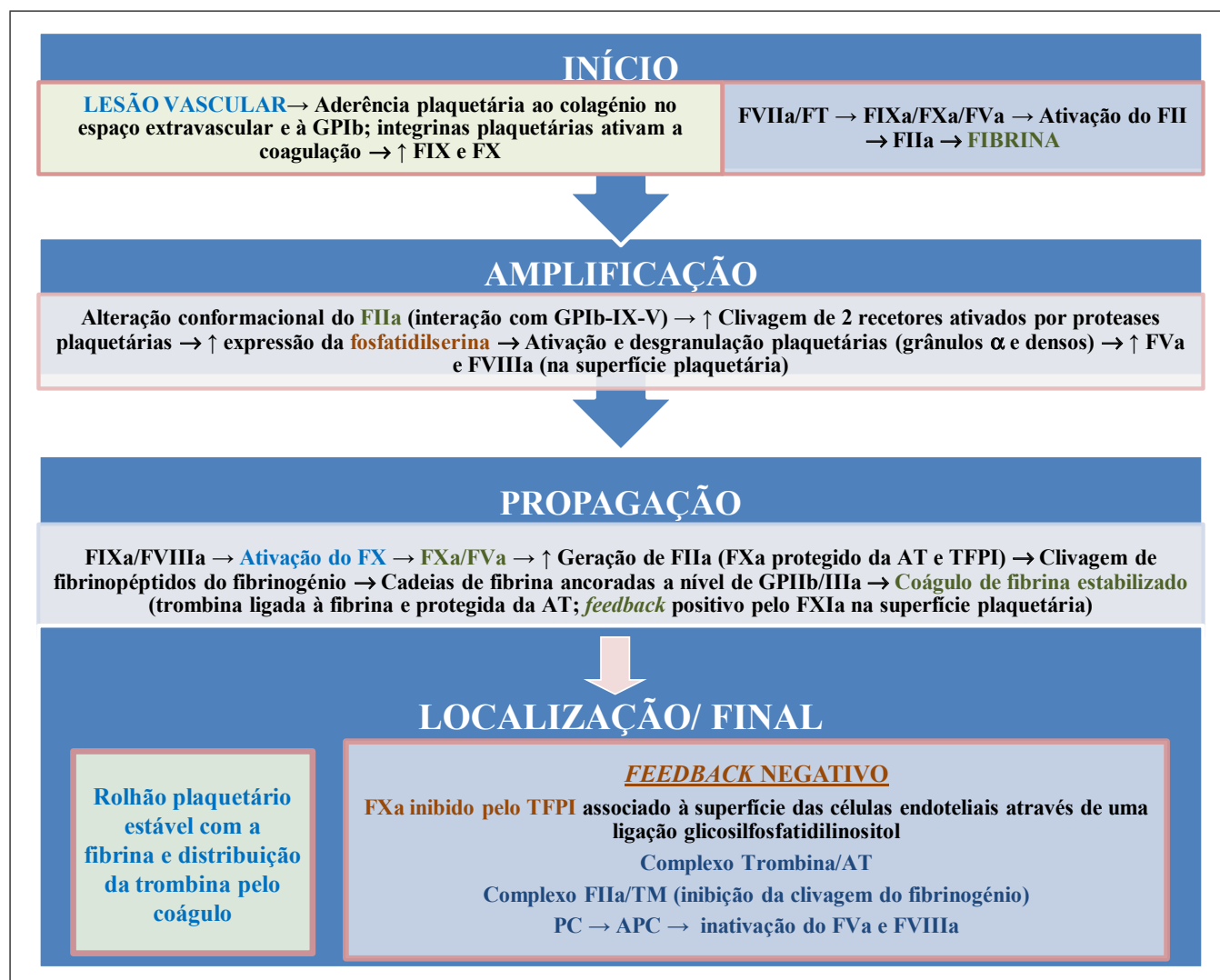


Figura 1. Fluxograma do modelo de coagulação baseado nas superfícies celulares

inibidor da fibrinólise ativável pela trombina (TAFI) que controla a degradação da fibrina; 3) inativação de pro-uroquinase com inibição da fibrinólise³.

O bom funcionamento vascular é fundamental para a oxigenação tecidual, hemostase e equilíbrio pro/antitrombótico⁵.

FATORES CLÍNICO-BIOLÓGICOS E EXTERNOS E IMPACTO REAL NA HEMOSTASE

Fatores demográficos e epidemiológicos

Sexo, Idade e Características Populacionais:

Muitos estudos descreveram associação entre frequências mais elevadas de tromboembolismo venoso (TEV) em doentes do sexo masculino e raça negra⁶.

A incidência anual de TEV é de 0,75-2,69:1000 na população adulta, situando-se em 3-12:1000 se idade >80 anos⁷. A prevalência é mais elevada em homens afro-americanos e, por ordem decrescente, em homens caucasianos, mulheres caucasianas e afro-americanas; as prevalências mais baixas verificam-se em indivíduos hispânicos de ambos os gêneros⁷.

As determinações de FVIII, FvW e D-dímeros são mais elevadas em melanodérmicos e inferiores na população chinesa^{6,8}. Os D-dímeros têm valor preditivo na embolia pulmonar (EP) e trombose venosa profunda (TVP), trombose associada a doença oncológica e coagulação intravascular disseminada (CID)³.

Os doseamentos de AT diminuem nos homens e os de PC e PS aumentam nas mulheres com idades >50 anos. Os intervalos da normalidade de PS são inferiores no sexo feminino, de acordo com a idade e estado hormonal. Os contraceptivos orais (CCO) foram associados à diminuição de AT e PS e ao aumento de PC⁹.

Grupo Sanguíneo: O grupo sanguíneo ABO influencia a suscetibilidade do FvW à proteólise plasmática pela ADAMTS13 (metaloprotease), que é significativamente mais rápida em indivíduos do grupo O cujos níveis de FvW são, assim, mais baixos^{6,10}. Doentes dos grupos sanguíneos A, B e AB têm frequências mais elevadas de TEV; demonstrada ausência de relação com o grupo sanguíneo Rh⁶.

Obesidade: Um aumento dos níveis de fibrinogênio, FVIII, FIX e D-dímeros pode ocorrer⁸. Associa-

ções com diabetes, apneia do sono, CCO, cirurgia bariátrica, doença oncológica e trombofilias hereditárias incrementam claramente o risco de TEV^{8,11}. O excesso ponderal conduz a maior risco trombótico, que aumenta com a progressão etária⁸. A obesidade eleva em 2-3 vezes o risco de TVP⁸ e 4-6 vezes de EP¹¹. Em mulheres obesas sob CCO ou substituição hormonal pós-menopausa este risco é maior devido a um efeito sinérgico⁸. Na obesidade mórbida verifica-se ativação plaquetária, aumento da expressão do FT nos adipócitos, hipofibrinólise (elevação dos níveis de PAI-1, TAFI e a₂-AP)¹¹.

Doença Oncológica: A estase venosa, cirurgia, quimio-radioterapia, cateteres intravenosos, terapia hormonal e tumores do pulmão, cérebro, estômago, pâncreas, rim, ovário e linfomas aumentam o risco trombótico^{8,12}. A incidência anual de TEV corresponde a 24,6/1000 doentes e o risco sobe 50% no cancro da mama sob terapia hormonal; risco acrescido nas mutações FV Leiden e protrombina G20210A⁸.

Doenças Infeciosas: Nas hepatites a vírus B e C pode ocorrer: 1) hipocoagulabilidade: hipofibrinogénia e diminuição da síntese de outros fatores de coagulação (FC) exceto de FVIII e FvW; 2) hipercoagulabilidade (diminuição da síntese de AT, PC e PS e da eliminação de FC ativados); 3) trombocitopenia, disfunção plaquetária, disfibrinogénia e hiperfibrinólise¹³. A sépsis está frequentemente associada a CID¹⁴. Na sépsis causada por bactérias Gram-negativas, ocorre libertação do fator de necrose tumoral e das interleucinas (IL) -1 e -6, bem como disfunção vascular com diminuição da reperfusão tecidual⁵. A formação de meta-hemoglobina (meta-Hb) e a libertação de óxido nítrico (NO) processam-se a nível eritrocitário, tendo o último capacidades vasodilatadoras e antitrombóticas⁵. Agentes patogénicos como *rickettsiae*, *plasmodium*, *mycoplasma*, citomegalovírus, vírus da influenza, da rubéola, de Epstein-Barr e da imunodeficiência humana, podem causar trombocitopenia¹⁴.

Cirurgia e Trauma: O risco de TEV torna-se mais elevado na presença de trauma/ lesão e o efeito é cumulativo devido a *trigger factors*⁸. Por outro lado, a coagulopatia traumática pode ocorrer devido a hemorragia e consumo de FC, hiperfibrinólise, inflamação, acidose, efeito dilucional de cristalóides e colóides e transfusão de concentrados eritrocitários na abordagem emergente¹⁵. A acidose resultante da he-

morragia maciça é deletéria para a coagulação; pretendem-se níveis de Ca^{2+} ionizado $>0,9$ mmol/L na transfusão maciça para benefício cardiovascular e da hemostase¹⁵.

Viagens: Sempre que a duração exceda quatro horas, o risco de TEV revela-se duplicado⁸.

Hiperhomocisteinemia: Apresenta relação com TEV, enfarte agudo do miocárdio (EAM) e acidente vascular cerebral (AVC), podendo resultar de uma variante da metileno-tetrahydrofolato redutase (MTHFR), de deficiência de ácido fólico, vitaminas B6 e B12, de doença renal e hipotireoidismo; a prevalência é de 5-7% na população geral¹⁶.

Hábitos e estilos de vida

Nutrição: Refeições com alto teor lipídico causam aumento de FVIIa pós-prandial e hipofibrinólise. Os ácidos gordos saturados de cadeia longa incrementam a agregação plaquetária, ocorrendo o inverso com os de cadeia média e curta. O óleo de peixe reduz a síntese de tromboxano A_2 (TXA_2) e a ativação plaquetária, diminuindo os níveis de FV, FVII, FX e a geração de trombina. Uma dieta com alto teor em fibra potencia a fibrinólise¹⁷.

Exercício e Stress: A libertação de FvW e FVIIIa pelas células endoteliais aumenta nestas situações, provocando um encurtamento no tempo de tromboplastina parcial ativado (aPTT). Os níveis de fibrinogénio, FIX, FXI e FXII sobem e o tempo de protrombina (TP) sofre um encurtamento¹⁸⁻²⁰. A contagem plaquetária e o fibrinogénio aumentam, mas retornam posteriormente ao normal^{19,20}. O exercício prolongado submáximo estimula a expressão da P-selectina induzida pelo péptido ativador do recetor da trombina (TRAP) e a agregação plaquetária induzida pelo difosfato de adenosina (ADP)²⁰. O t-PA aumenta, mas recupera depois para valores basais; os níveis de PAI-1 não são influenciados pela atividade física^{18,21}. O stress oxidativo e a tensão de cisalhamento vascular são incrementados durante o exercício^{5,18}.

Álcool: O consumo moderado está associado a baixos níveis de fibrinogénio, FVII e FvW, enquanto o aumento de t-PA pode fornecer um efeito protetor nas doenças cardiovasculares²². As plaquetas são ativadas pelo etanol com desgranulação parcial e dis-

função²²; novos ensaios sugerem uma inibição inicial nas plaquetas seguida de efeito *rebound*¹⁷. O consumo crónico predispõe à hemorragia²². Níveis aumentados do PAI-1 e hiperagregabilidade plaquetária podem ocorrer após ingestão acentuada¹⁷.

Tabaco: Verifica-se disfunção vascular pela redução da biodisponibilidade do NO e maior expressão de moléculas de adesão²³. Aumento ligeiro do risco para TEV está presente em fumadores e ocorre um efeito sinérgico em relação aos CCO²⁴. Foram relatados alguns mecanismos patogénicos como estado procoagulante, hipofibrinólise, inflamação e maior viscosidade sanguínea²⁴.

Toxicofilia: O uso de drogas parece ser a condição predisponente mais comum para AVC em doentes com idade <35 anos. Nesta população (15-44 anos) a probabilidade de ocorrência de AVC é 6,5 vezes maior que na população geral. A cocaína e as anfetaminas apresentam ligação mais nítida com o AVC; a presença de hipertensão arterial (HTA) e cardioembolismo deve ser correlacionada com eventos cerebrais; o efeito simpaticomimético de algumas drogas e a sua associação a cardiomiopatia e arritmia desempenham um papel significativo²⁵.

Ritmos biológicos endógenos:

Ritmo Circadiano: As flutuações de t-PA e PAI-1 sugerem a tarde e o início noite como ideais para o exercício, segundo alguns estudos²¹. A hiperatividade plaquetária, hipercoagulabilidade, hipofibrinólise, viscosidade sanguínea aumentada, espasmo vascular e níveis mais altos de PAI-1 ocorrem de manhã^{18,21}.

Sono: Anomalias relacionadas com a respiração estão associadas a aumento do risco cardiovascular. Os níveis de PAI-1 e fibrinogénio são elevados com efeito protrombótico. O fibrinogénio (proteína de fase aguda) liga-se às plaquetas ativadas através do complexo GPIIb/IIIa, promovendo a agregação plaquetária, formação de fibrina e aumento da viscosidade plasmática²⁶.

Efeito Pós-prandial: Documentada uma subida de FC particularmente o FVII^{17,18}.

Efeito Postural: Uma significativa diminuição do TP e um aumento de fibrinogénio ocorrem quando mudança da posição supina para a posição sentada e

vertical, o que produz impacto na monitorização de doentes sob antagonistas da vitamina K (AVKs). A mudança de sentado para ortostatismo não excede as especificações de qualidade. Quando existe mudança de posição supina e sentada para a vertical ocorre um significativo prolongamento do aPTT²⁷.

Fisiologia e processos patológicos (hereditários/adquiridos)

Gravidez: Diminuição da contagem plaquetária (hemodiluição essencialmente) e nível de PS, aumento do fibrinogénio, FVII, FVIII, FIX, FX, FXII, FvW; inibição da fibrinólise (redução de PAI-1 e 2). A presença da mutação Leiden FV pode potenciar a hipercoagulabilidade, mas uma resistência adquirida à APC está sempre presente mesmo na gestação normal^{28,29}.

Ciclo Menstrual: A maioria dos estudos incide nas plaquetas, coagulação e fibrinólise, não encontrando variação destes parâmetros ao longo do ciclo em mulheres sem CCO. No entanto, os níveis mais baixos de FvW, FVIII, testes de função plaquetária ocorrem durante as fases folicular e menstrual com pico na fase lútea. Alguns ensaios reportaram níveis mais baixos de fibrinogénio na fase folicular³⁰.

Doenças Cardiovasculares: O metabolismo das lipoproteínas, inflamação, sistema renina-angiotensina-aldosterona, função plaquetária, coagulação e fibrinólise estão envolvidos na trombose aterogénica³¹. O fibrinogénio, a IL-6 e a proteína C reativa são biomarcadores a relacionar com o EAM³¹. O relaxamento do endotélio vascular encontra-se diminuído em doentes com HTA essencial devido à insuficiência de NO⁵. Os níveis de micropartículas endoteliais encontram-se elevados em doentes com valores tensionais mais altos, estando diretamente correlacionados com a ativação plaquetária e endotelial³². As micropartículas também funcionam como biomarcadores no EAM e noutros territórios arteriais³², nomeadamente o cerebrovascular (AVC isquémico), sendo importante a conjugação com polimorfismos genéticos envolvendo GP plaquetárias, FII G20210A, FV Leiden, FVII R353Q, MTHFR C677T e PAI-1 4G/5G, entre outros³¹. Foi descrita tendência para agregação eritrocitária em doentes neurologicamente assintomáticos com aterosclerose carotídea⁵.

Doenças Endocrinológicas e Metabólicas: O aumento do FvW precede a diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e há uma associação positiva com a progressão da disfunção vascular. A contagem plaquetária é normal; os níveis de AT estão reduzidos (estado protrombótico). A hiperglicémia estimula a produção de PAI-1. Aumento de FVIII e fibrinogénio são considerados fatores de risco para doença cardiovascular. Níveis aumentados de D-dímeros podem estar associados com TEV³³. Contagens leucocitárias elevadas têm sido associadas a resistência à insulina, diminuição da tolerância à glicose e DM2, bem como complicações vasculares a nível arterial nesta última³⁴. A gravidade da retinopatia diabética tem uma relação particular com a contagem de polimorfonucleares e a própria síndrome de hiperviscosidade presente na DM2³⁴.

O hipotiroidismo encontra-se associado a tendência hemorrágica pela ocorrência da síndrome de vW adquirida; os FIX e FXI também estão diminuídos e pode existir hiperfibrinólise. O hipertiroidismo representa um estado de hipercoagulabilidade devido ao aumento do FXa³⁵.

Na síndrome de Cushing verifica-se subida de FvW, FVIII, FIX, FXI e FXII com tendência protrombótica. Na síndrome do ovário poliquístico, associada a DM2, dislipidémia, HTA e síndrome metabólica há predisposição para aterosclerose e redução da atividade fibrinolítica³⁵.

Doença Hepática Crónica: Alterações como disfunção plaquetária, trombocitopenia, diminuição da produção de trombopoietina, FII, FV, FVII, FIX, FX, FXI, FXIII e a₂-AP, disfibrinogénia e aumento da produção de prostaciclina (PGI₂) e t-PA podem estar presentes; TP, aPTT e tempo de trombina (TT) prolongados, aumento de D-dímeros e diminuição de FC são característicos de coagulopatia. O perfil trombótico depende do aumento de FVIII e FvW, diminuição de ADAMTS13, PC, PS, AT e PLG e eventual presença de trombofilia hereditária^{13,36}.

Doença Renal Crónica: A hemorragia ocorre devido a disfunção plaquetária causada por libertação de ADP e inativação de PGI₂ reduzidas e acumulação de NO. Fibrinogénio, FVIII, FXIIa, FVIIa, APC e complexos trombina-AT (TAT) estão aumentados³⁷. Defeitos funcionais na interação FvW-plaquetas cursam com tendência hemorrágica; as propriedades vasoativas do NO causam inibição da agregação plaque-

tária³⁷. As micropartículas resultantes da inflamação desempenham um papel procoagulante: apresentação da fosfatidilserina com geração de trombina e presença de FT na sua superfície^{32,37}.

Síndrome Nefrótica e Granulomatose de Wegener: A associação trombótica foi descrita^{37,38}.

Doenças Respiratórias Crônicas: Hipofibrinólise devido à inibição mediada pelo IP e pelo PAI-1⁴.

Doenças Autoimunes: Síndrome antifosfolípida (SAF), lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatóide (AR), doença Behçet, sarcoidose e doença intestinal inflamatória são condições claramente associadas e trombofilia adquirida e trombose^{8,38}. O aumento de micropartículas nestas situações e nos processos de vasculite está presente, correspondendo a sua diminuição a um bom controle terapêutico³².

Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN): Algumas manifestações são a hemólise mediada pelo complemento e a trombose. O uso de *eculizumab* causa diminuição dos níveis de D-dímeros; o aumento de D-dímeros em doentes não tratados com eventos trombóticos recentes parece ter significado preditivo³⁹.

Policitemia Vera (PV): As doenças mieloproliferativas cursam com eventos trombóticos frequentes. Cerca de 1/5 dos doentes com PV é diagnosticado quando ocorre um episódio trombótico. Possíveis mecanismos são contagens celulares elevadas, micropartículas, ativação de plaquetas, leucocitos e células endoteliais e a mutação *Janus* quinase (*JAK*) 2 (V617F). A trombose arterial é mais frequente no sexo masculino e a venosa no sexo feminino⁴⁰.

Microangiopatias Trombóticas (MAT): A aglutinação plaquetária induzida pelos multímeros de elevado peso molecular do FvW, ativação do complemento com anemia hemolítica, trombocitopenia e lesão renal incorporam as características⁴¹. Na Síndrome Hemolítica Urémica (SHU) não ocorrem os mecanismos normais de senescência e apoptose eritrocitárias devido à hemólise⁵.

Trombofilia: As prevalências de deficiência da AT são de 0,02-0,2%, situam-se em 0,2-0,4% para a PC e 0,03-0,5% para a PS; são de 3-7% para a mutação FV Leiden e de 0,7-4% para o polimorfismo G20210A da protrombina⁴². Estas condições envolvem um risco protrombótico^{8,9,42}.

Doença de Células Falciformes (DCF): Esta alteração hereditária manifesta-se por hemólise e vaso-

-oclusão (formas homozigótica e heterozigótica, podendo ocorrer combinação entre mutações responsáveis por anomalias da Hb/b-talassémia). A HbS polimeriza em condições de *stress*, hipóxia e acidose, levando à falciformação e diminuição da sobrevivência eritrocitária. A baixa biodisponibilidade de NO relaciona-se com a hemólise, associando-se a disfunção endotelial, crises vaso-oclusivas e aumento da viscosidade intra-eritrocitária^{5,43}. A concentração elevada de HbS e a presença de células falciformes é responsável pela anemia com valores aumentados de 2,3-difosfoglicerato e P50 (baixa afinidade da Hb pelo O₂)⁵.

Talassémias: O risco de TEV é maior em doentes esplenectomizados com trombocitose (níveis aumentados de complexos TAT, fragmentos da protrombina 1+2 e geração de trombina). A antiagregação plaquetária com aspirina produz efeito benéfico com redução dos D- dímeros e complexos TAT⁴⁴.

Hemofilias: A geração deficiente de FXa na superfície plaquetária (dependente do complexo FIXa/FVIIIa) e o conseqüente compromisso na produção de trombina explicam que o rolhão plaquetário inicial seja formado, mas o coágulo de fibrina estabilizada na superfície plaquetária não ocorra (fase de propagação), nas hemofilias A e B, respetivamente caracterizadas por deficiência de FVIII e FIX^{1,2}. O FXa formado por ação de FVIIa/FT é inibido rapidamente pelo TFPI¹.

Disfibrinogemias/ Hipofibrinogemia/ Afibrinogemia: Reconhecidas por alterações da fibrinólise e tendência hemorrágica; uma associação paradoxal a trombose foi também reportada^{3,45}.

Fatores ambientais

Poluição Atmosférica: A emissão de monóxido de carbono (CO) e dióxido de azoto no trânsito está associada a inflamação, trombose e disfunção endotelial, com aumento dos níveis de fibrinogénio, proteína C reativa, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão de células vasculares-1 (VCAM-1). Mecanismos prováveis contemplam repetidas modificações na metilação do ácido desoxirribonucleico. Diabetes, obesidade, tabagismo devem ser correlacionados com o descrito, bem como a temperatura e humidade atmosféricas⁴⁶.

Clima e Altitude: A ocorrência mais frequente de episódios trombóticos no inverno foi evidenciada⁸. O impacto da altitude relaciona-se com a hipoxemia, aumento do hematócrito e retardamento da coagulação⁴⁷.

Procedimentos e agentes terapêuticos

Diálise: Na hemodiálise, verifica-se redução nos níveis de PLG e o aumento de fibrinogênio, tal como a elevação dos D-dímeros, fragmentos de protrombina 1+2 e complexos TAT. Disfunção plaquetária ligeira está presente⁴⁸ e a hemorragia manifesta-se em 40-50% dos doentes³⁷. A presença de SAF cursa com incidência de trombose mais alta³⁷. Aumento da carboxi-Hb e CO expirado, hiperatividade da hemo-oxigenase (Hmox), hipercoagulabilidade e hipofibrinólise podem ocorrer⁴⁸. A diálise peritoneal tem maior risco trombótico do que a hemodiálise³⁷.

Oxigenação com Membranas Extracorporais (ECMO): A formação de trombos pode comprometer o oxigenador e o funcionamento da bomba e causar tromboembolismo. A trombocitopenia é uma possível complicação do uso de heparina não fracionada (HNF). O aPTT e a atividade anti-Xa, podem ser necessários para a monitorização da anticoagulação e a tromboelastometria eventualmente usada, para avaliação das propriedades viscoelásticas da hemostase global. Manifestações hemorrágicas podem ocorrer na sépsis e falência multiorgânica devido a trombocitopenia, CID, hiperfibrinólise e síndrome de vW adquirida⁴⁹.

Bypass Córdio-pulmonar (BCP): A disfunção plaquetária, que geralmente reverte algumas horas após a intervenção, está relacionada com o circuito extracorporal, hiperfibrinólise, trombocitopenia e efeito *rebound* da heparina⁵⁰. Tempos de perfusão prolongados, uso prévio de varfarina ou acenocumarol e antiagregantes plaquetários, doença cardíaca cianótica, hipotermia de perfusão predispõem a hemorragia^{50,51}. O consumo dos inibidores naturais da coagulação e desequilíbrio a nível endotelial condicionam complicações trombóticas⁵⁰.

Cateteres Venosos e Arteriais, Bomba de Balão Intra-aórtico, Shunts Vasculares e Próteses Valvulares Cardíacas Mecânicas: Fibrinogênio, FII, FVIII, FXI e FXII são adsorvidos a próteses ou qualquer superfície estranha como circuitos extracorporais

e podem ser ativados causando adesão e agregação plaquetárias⁵⁰. Complicações hemorrágicas podem ocorrer (plaquetas e FC disfuncionais e consumo de plaquetas desencadeado pela agregação induzida pelo ADP libertado durante a hemólise) bem como tromboembolismo e oclusão vascular^{50,51}.

Cirurgia Bariátrica: O incremento na atividade da Hmox produz concentrações mais elevadas de CO plasmático associado a hipercoagulabilidade e hipofibrinólise. Marcadores como carboxi-Hb e carboxi-hemefibrinogênio encontram-se aumentados em doentes submetidos a cirurgia bariátrica¹¹.

Transplante Hepático: Além das alterações da hemostase pré-operatórias verificam-se: hiperfibrinólise (marcada nas fases anhepática e de reperfusão) que é mediada pela diminuição do PAI-1 e libertação de t-PA das células endoteliais do enxerto; contagem plaquetária diminuída (mais baixa na reperfusão) devido a sequestro do órgão transplantado; a hipotermia promove a disfunção plaquetária; a libertação de heparina ou substâncias *heparin-like* do enxerto agrava a coagulopatia juntamente com a hemodiluição (fluidoterapia e solução de preservação do fígado) e redução dos níveis de FC (mais evidente na reperfusão)¹³.

Medicação:

– **AVKs – Varfarina e Acenocumarol:** A inibição é exercida na γ -carboxilação dependente da vitamina K, que é necessária para função de FII, FVII, FIX e FX, PC e PS. Muitos medicamentos e produtos naturais interferem na atividade desta carboxilase⁵².

– **Anticoagulantes Orais Diretos (ACODs) – 1) Inibidor da Trombina (Dabigatran):** O seu efeito pode ser reconhecido no aPTT, TT e fibrinogênio funcional (reagente com baixa concentração de trombina)^{52,53}. **2) Inibidores do FXa (Rivaroxabano e Apixabano):** Efeito exercido no FXa; o TP pode ser sensível^{52,53}. Contraindicação de quetoconazol, itraconazol, ritonavir, ciclosporina, tacrolimus, rifampicina, carbamazepina, fenobarbital (de acordo com o tipo de ACOD) devido a inibição/ indução a nível da glicoproteína P (gp-P) e do citocromo 3A4 (CYP3A4) causada por esses fármacos⁵³. Falsos positivos ocorrem na deteção de anticoagulante lúpico pelo tempo do veneno de cobra Russell diluído⁵⁴.

– **Ativadores da AT:** Os glicosaminoglicanos como a HNF ligam-se à AT, que ativada vai inibir as proteases de serina da coagulação (monitorização através de aPTT e TT)^{52,54}.

– **Heparinas de Baixo Peso Molecular:** Apresentam capacidade de inativação do FXa^{52,54}.

– **Trombolíticos: Ativadores do PLG como t-PA e a Estreptoquinase** são altamente seletivos para a degradação de coágulos de fibrina⁵².

– **Antiplaquetários: 1) Aspirina:** Atua através da inibição reversível da atividade da ciclo-oxigenase e produção de TXA₂ e do estímulo da produção de PGI₂ pelas células endoteliais^{51,52}. **2) Clopidogrel e Ticlopidina:** Exercem inibição irreversível no receptor P2Y₁₂ para o ADP a nível da membrana plaquetária^{51,52}. **3) Antagonistas do complexo GPIIb-GPIIIa: Abciximab, Eptifibatide e Tirofiban**^{51,52}.

– **Anti-inflamatórios não Esteróides (AINEs): Diclofenac, Ibuprofeno, Indometacina, Naproxeno** e outros reduzem a geração de TXA₂^{14,52}.

– **Sinvastatina e Fenotiazina:** Inibem a agregação plaquetária^{14,52}.

– **Bloqueadores dos Canais de Ca²⁺ (Amlodipina, Lercanidipina, Verapamil, Diltiazem):** O seu efeito é exercido a nível das plaquetas no metabolismo do CYP450—os dois últimos inibem a atividade do CYP3A4 e exigem precaução em doentes sob ACODS^{51,53}.

– **Antifibrinolíticos: 1) Ácido tranexâmico e Ácido e-aminocapróico** (análogos da lisina): São usados para inibir a atividade da plasmina pela sua ligação reversível ao PLG; **2) Aprotinina** (inibidor direto da plasmina): Atualmente, não se encontra disponível na maioria dos países^{3,4,55}.

– **Anti-infecciosos: Rifampicina e Isoniazida** estão associados com disfunção hepática e síntese reduzida de FC e tendência hemorrágica^{14,51,52}.

– **Psicotrópicos e Anestésicos: Amitriptilina, Clorpromazina, Haloperidol, Tetracaína, Halotano** podem afetar a função plaquetária⁵¹.

– **Substituição ou Modulação Hormonal/ CCO: Estrogénios, Progestagénios e Tamoxifeno** conferem risco aumentado de TEV, principalmente em doentes com trombofilia hereditária^{8,38}.

– **Quimioterapia:** Um estado de trombofilia adquirido pode estar presente na terapêutica com **L-asparaginase, Talidomida e agentes anti-angiogénese**³⁸.

– **Venoativos:** As **Oxerrutinas** melhoram a insuficiência venosa crónica, através do efeito na função endotelial e na deformabilidade e agregação eritrocitárias⁵.

– **Produtos Naturais:** O anis e a *Angelica sinensis* encerram atividade anticoagulante; ácidos gordos, óme-

ga 3, óleo de peixe, vitamina E e *ginkgo biloba* têm ação antiplaquetária; *fucus* (alga castanha) apresenta uma atividade *heparin-like*; o *ginseng* e o hipericão podem afetar o metabolismo dos anticoagulantes; a coenzima Q10 tem atividade similar à vitamina K⁵⁶. A camomila e a raiz de dente-de-leão inibem a coagulação. Suplementos de vitamina E (em alta dose) aumentam o efeito de AVKS^{17,56}.

Fatores epigenéticos

Trombofilia e CCO: O uso da CCO aumenta em 2-3 vezes o risco trombótico; na mutação FV Leiden, o risco aumenta 3-7 vezes; a combinação dos dois fatores incrementa o risco em 34 vezes⁸.

Trombofilia, Gravidez e Fatores Epidemiológicos/ Comportamentais: A presença de FV Leiden aumenta o risco de TEV na gravidez, devendo contudo ser considerado o impacto adicional de variáveis como dieta, tabagismo, obesidade, SAF e outras comorbilidades, imobilidade e viagens prolongadas^{8,29}.

DCF e CCO: O risco de AVC é 4 vezes maior em mulheres com DCF e sob CCO. Fatores modificáveis como tabagismo, obesidade, HTA, enxaqueca podem ser controlados, reduzindo essa incidência⁵⁷.

Genotipo e Dieta: Nos genotipos RR e A1A1 dos polimorfismos de R353Q e 5'F7 respetivamente, níveis mais elevados de FVII:Ag estão presentes após consumo (4 semanas) de refeições ricas em ácidos gordos saturados¹⁷.

Condições da amostra

Condições Pré-colheita: Resultados falsamente negativos podem ocorrer na hemofilia A ligeira e doença de vW tipo 1 após *stress* ou atividade física excessiva devido ao aumento de FVIII e FvW⁵⁸. O PAI-1 e o fibrinogénio apresentam níveis mais elevados nas primeiras horas do dia^{18,21,58}.

Substâncias Interferentes: Amostras lipémicas, hiperbilirrubinémicas e hemolisadas influenciam a medição ótica. Diminuição da atividade de FII, FVII, FIX, FX e FXII ocorre nas amostras lipémicas (ingestão prévia de gorduras). Ativação plaquetária ocorre numa colheita difícil causadora de hemólise e pode ser falsamente associada a fibrinogénio baixo e D-dí-

meros elevados, imprevisibilidade no TP e aPTT. A contaminação com heparina ocorre em amostras provenientes de cateteres venosos centrais^{58,59}.

Tipo de Anticoagulante: Em geral, as amostras são obtidas para tubos com citrato trissódico na concentração de 3,2% (estudos especiais da hemostase podem requerer outros meios). A colheita inadequada em ácido etilenodiaminotetracético, heparina e tubos secos leva a resultados espúrios^{58,59}.

Volume e Homogeneização da Amostra: O preenchimento do tubo não deve ser inferior a 90% do preconizado e uma inversão suave realizada para prevenir a formação de coágulos (uma agitação deficiente pode traduzir-se na presença de microcoágulos de difícil detecção). Agitação excessiva provoca hemólise, ativação e aumento da atividade de FC como o FVII, bem como redução dos tempos de coagulação. Quando o hematócrito é superior a 55% (a anemia não afeta) os resultados podem ser prejudicados⁵⁸.

Tempo e Temperatura: O tempo decorrido entre a colheita da amostra e respectiva análise não deve exceder 4 horas. Níveis de FVIII:C, FvW:Ag e FvW:funcional são significativamente inferiores quando as amostras são armazenadas a 4°C e, em 50% destes casos, pode diagnosticar-se falsamente hemofilia A ligeira e doença de vW^{58,59}.

Centrifugação e Armazenamento de Amostras: Centrifugação insuficiente pode causar contaminação com plaquetas. Congelamento e descongelamento repetidos afetam particularmente o FV e FVIII (FC lábeis)^{58,59}.

Conformidade entre Doentes e Amostras: A colheita de amostras ao doente errado constitui um erro crítico com graves consequências⁵⁸.

Sumarizam-se aspetos no âmbito desta revisão (Quadro I) evocativos de processos metabólicos, seus marcadores e mediadores moleculares, com repercussão na avaliação da hemostase.

Quadro I. Influência de variáveis antropométricas, clínicas, iatrogênicas e externas na hemostase

| Categorias Gerais | Fatores Etiológicos e Condicionantes – Algumas Especificações |
|--|---|
| Fatores Demográficos e Epidemiológicos | – Sexo, idade, características populacionais, grupo ABO, obesidade – Hiperhomocisteinemia, doença oncológica, cirurgia, trauma, imobilidade – Infecções a vírus, micobactérias, parasitas e outros agentes |
| Hábitos e Estilos de Vida | – Nutrição, exercício físico, <i>stress</i> , higiene – Tabagismo, alcoolismo, toxicofilia |
| Ritmos Biológicos | – Circadiano, sono, pós-prandial, neuromuscular, cardiovascular |
| Processos Fisiológicos e Patológicos (hereditários e adquiridos) | – Gravidez, ciclo menstrual – Doenças cardiovasculares (HTA, EAM, AVC, doença arterial periférica, TEV) – Doenças endocrinológicas e metabólicas (DM, hipo- e hipertireoidismo) – Doenças autoimunes (LES, AR, SAF), hepáticas, renais, respiratórias – Doenças mieloproliferativas (PV, trombocitopenia essencial, leucemia mielóide crônica), HPN, MAT (SHU, púrpura trombocitopénica trombótica) – Hemoglobinopatias (DCF, talassémias) – FV Leiden, polimorfismo da protrombina G20210A, deficiência de AT, PC e PS – Coagulopatias congénitas (hemofilias A e B, doença de vW, deficiência de FC) e adquiridas (inibidores de FC, consumo de FC/ CID) |
| Ambiente | – Poluição, sazonalidade, altitude |
| Procedimentos e Agentes Terapêuticos | – Diálise, ECMO, próteses valvulares cardíacas mecânicas, BCP, cirurgia bariátrica – Transplantação de órgãos e de células hematopoiéticas – AINEs, citostáticos e agentes biológicos, antitrombóticos, antifibrinolíticos, venoativos, bloqueadores dos canais de Ca ²⁺ , modulação hormonal, antibacilares, psicotrópicos, transfusão sanguínea, fitoterápicos |
| Fatores Epigenéticos | – FV Leiden/ CCO, DCF/ CCO, genotipo/ dieta, resistência à varfarina – Gravidez/ trombofilia e fatores antropométricos |
| Condições das Amostras | – Tipo de anticoagulante, proporção sangue/ anticoagulante, colheita de cateteres – Hemólise, hiperlipidemia, hiperbilirrubinemia, homogeneização da amostra – Transporte e armazenamento (tempo e temperatura), processamento da amostra (centrifugação, <i>splitting into aliquots</i>) |

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A cronobiologia, a hemorreologia e a epigenética contribuem amplamente para o esclarecimento dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia da hemostase e no efeito das variáveis pré-analíticas^{18,21}.

A imprevisibilidade destas variáveis pode condicionar erros laboratoriais e alterar o diagnóstico/ tratamento do doente devido a um resultado incorreto. Focaram-se situações com potencial trombótico/ hemorrágico, achados laboratoriais expectáveis e circunstâncias imprevistas causadoras de falsos resultados.

Apresentam-se alguns **conceitos atuais** no âmbito da **microcirculação** e da **hemostase**, neste corolário:

- **A homeostasia do sangue e vasculatura** está relacionada com a permeabilidade transmembranar e a inibição da coagulação e adesão leucocitária⁵.
- **O efeito do exercício físico** persiste em fase de recuperação e pode afetar doseamentos plasmáticos de FVIII, FvW, PAI-1 e fibrinogênio¹⁸⁻²⁰; **o período pós-prandial** e o elevado teor em **lipoproteínas** de uma refeição podem aumentar os níveis de FVIIa¹⁸.
- **Na sépsis, insuficiência renal e DCF** ocorre apoptose eritrocitária precoce por expressão da fosfatidilserina e ativação dos complexos protrombinase e tenase⁵.
- **Na aterosclerose, HTA, diabetes, bypass, transplantação (reperfusão do órgão)** ocorrem estados patológicos provocados pela insuficiência de NO, que é indutora de disfunção endotelial. A libertação endotelial de NO encontra-se aumentada em doentes com hipóxia e inflamação, como acontece na DCF, hipercolesterolemia e HTA⁵.
- **Na hipercolesterolemia, DM, HTA e doenças inflamatórias sistêmicas** surge precocemente disfunção endotelial (mecanotransdução e mecanotransmissão alteradas com expressão fenotípica de proteção/ progressão aterosclerótica, considerando a suscetibilidade genética procoagulante/ anticoagulante)⁶⁰.
- **A síndrome metabólica originada pela obesidade, aterosclerose e doença cardiovascular** é agravada pelo efeito da dieta e poluição do ar, promovendo desequilíbrios de oxirredução e a produção de citocinas pro-inflamatórias⁵.

- **Em doentes submetidos a transfusão de concentrados eritrocitários** ocorre vasoconstrição e isquemia devido à baixa disponibilidade na libertação de O₂ e NO pelos eritrocitos armazenados⁵.
- **O papel das micropartículas nos processos inflamatórios e hipercoagulativos** está implicado na fisiopatologia de doenças cardiovasculares, sendo um biomarcador de disfunção endotelial, pois a sua produção resulta do *stress* oxidativo e reduz a biodisponibilidade de NO³². A sua formação expressa-se nos mecanismos de angiogénese e coagulação através da fosfatidilserina (ligada a proteínas da coagulação leva à geração de trombina) e do FT, ativação plaquetária e de FC, culminando na produção de fibrina³².

REFERÊNCIAS

1. Monroe DM. Basic principles underlying coagulation. In: 2nd ed. David Lillicrap, Nigel Key, Michael Makris, Denise O'Shaughnessy (editors). Practical Hemostasis and Thrombosis. Wiley-Blackwell; 2009. p. 1-6.
2. Lisman T, Groot PG. The role of cell surfaces and cellular receptors in the mode of action of recombinant factor VIIa. Blood Rev. 2015;29:223-9.
3. Chapin JC, Hajar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. Blood Rev. 2015;29:17-24.
4. Draxler DF, Medcalf RL. The fibrinolytic system – More than fibrinolysis? Transf Med Rev. 2015;29:102-9.
5. Lopes de Almeida JP, Oliveira S, Saldanha C. Erythrocyte as a biological sensor. Clin Hemorheol Microcirc. 2012;51:1-20.
6. Fang C, Cohen HW, Billett HH. Race, ABO blood type and VTE risk: Not black and white. Transf. 2013;53(1):187-92.
7. ISTH Steering Committee for World Thrombosis Day. Thrombosis: a major contributor to the global disease burden. J Thromb Haemost. 2014;12:1580-90.
8. Cushman M. Epidemiology and risk factors for venous thrombosis. Semin Hematol. 2007;44(2):62-9.
9. Franchi F, Biguzzi E, Martinelli I, Bucciarelli P, Palmucci C, D'Agostino S, et al. Normal reference ranges of antithrombin, protein C and protein S: Effect of sex, age and hormonal status. Thromb Res. 2013;132(2):e152-7.
10. Franchini M, Capra F, Targher G, Montagnana M, Lippi G. Relationship between ABO blood group and von Willebrand factor levels: from biology to clinical implications. Thromb J. 2007;5:14. doi: 10.1186/1477-9560-5-14.
11. Nielsen VG, Galvani CA, Boyle PK, Steinbrenner EB, Matika RW. Bariatric patients have plasmatic hypercoagulability and systemic upregulation of heme oxygenase activity. Blood Coagul Fibrinolysis. 2015;26(2):200-4.
12. Watson HG, Keeling DM, Laffan M, Tait RC, Makris M. Guideline on aspects of cancer-related venous thrombosis. Br J Haematol. 2015;170:640-8.
13. DeSancho MT, Pastores SM. The liver and coagulation. In: 3rd ed. Rodes J, Benhamou J-P, Blei A, Reichen J, Rizzetto M (editors). The Textbook of Hepatology: from basic science to clinical practice. Wiley-Blackwell; 2007. p. 255-63.
14. Robertson JD, Blanchette VS, Kahr WHA. Quantitative platelet disorders. In: 2nd ed. David Lillicrap, Nigel Key, Michael Makris, Denise O'Shaughnessy (editors). Practical Hemostasis and Thrombosis. Wiley-Blackwell; 2009. p. 96-114.
15. Spahn DR, Bouillon B, Cerny V, Coats TJ, Duranteau J, Fernández-Mondéjar E, et al. Management of bleeding and coagulopathy following major trauma: an updated European guideline. Critical Care. 2013; 17:R76. <http://ccforum.com/content/17/2/R76>.

16. Fay WP. Homocysteine and thrombosis: guilt by association? *Blood*. 2012;119:2977-8.
17. Pieters M, Maat MPM. Diet and haemostasis – A comprehensive overview. *Blood Rev*. 2015;29:231-41.
18. Siahkhouhian M, Khodadadi D, Bolboli L. Diurnal variation of haemostatic response to exercise in sedentary young males. *Biol Sport*. 2013;30(2):125-30.
19. Sanchis-Gomar F, Lippi G. Physical activity – an important preanalytical variable. *Bioch Med*. 2014;24(1):68-79.
20. Posthuma JJ, Meijden PEJ, Cate H, Spronk HMH. Short- and long-term exercise induced alterations in haemostasis: a review of the literature. *Blood Rev*. 2015;29:171-8.
21. Scheer FAJL, Shea SA. Human circadian system causes a morning peak in prothrombotic plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) independent of the sleep/wake cycle. *Blood*. 2014;123(4):590-3.
22. Salem RO, Laposata M. Effects of alcohol on hemostasis. *Am J Clin Pathol* 2005;123(Suppl 1):S96-S105.
23. Messner B, Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease – Mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:509-15.
24. Cheng Y-J, Liu Z-H, Yao F-J, Zeng W-T, Zheng D-D, Dong Y-G, et al. Current and former smoking and risk for venous thromboembolism: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*. 2013;10(9):e1001515.
25. Esse K, Fossati-Bellani M, Traylor A, Martin-Schild S. Epidemic of illicit drug use, mechanisms of action/addiction and stroke as a health hazard. *Brain Behav*. 2011;1(1):44-54.
26. Mehra R, Xu F, Babineau DC, Tracy RP, Jenny NS, Patel SR, et al. Sleep-disordered breathing and prothrombotic biomarkers – Cross-sectional results of the Cleveland family study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;189:826-33.
27. Lippi G, Salvagno GL, Lima-Oliveira G, Danese E, Favaloro EJ, Guidi GC. Influence of posture on routine hemostasis testing. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2015;26(6):716-9.
28. Erez O, Novak L, Beer-Weisel R, Dukler D, Press F, Zlotnik A et al. DIC score in pregnant women – A population based modification of the International Society on Thrombosis and Hemostasis Score. *PLoS One*. 2014;9(4):e93240.
29. Kjellberg U, van Rooijen M, Bremme K, Hellgren M. Increased activation of blood coagulation in pregnant women with the factor V Leiden mutation. *Thromb Res* 2014;134(4):837-45.
30. Knol HM, Kemperman RFJ, Kluin-Nelemans HC, Mulder AB, Meijer K. Haemostatic variables during normal menstrual cycle, a systematic review. *Thromb Haemost*. 2012;107(1):22-9.
31. Montagnana M, Danese E, Lippi G. Genetic risk factors of atherothrombosis. *Pol Arch Med Wewn*. 2014;124(9):474-482.
32. Dias Bastos PA. Micropartículas e um novo continuum cardiovascular – Transversalidade das micropartículas nas doenças cardiovasculares. *Boletim da SPM*. 2015;30(2):14-22.
33. Soares AL, Oliveira Sousa M, Moura Fernandes APS, Carvalho MG. Hemostatic changes in patients with type 2 diabetes mellitus. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010;32(6):482-8.
34. Caimi G, Hoppes E, Lo Presti R. Membrane fluidity and cytosolic Ca²⁺ concentration of the circulating polymorphonuclear leukocytes in diabetes mellitus. *Boletim da SPM*. 2014;29(1):6-10.
35. Franchini M, Lippi G, Manzato F, Vescovi PP, Targher G. Hemostatic abnormalities in endocrine and metabolic disorders. *Eur J Endocrinol*. 2010;162:439-51.
36. Mannucci PM, Tripodi A. Liver disease, coagulopathies and transfusion therapy. *Blood Transf*. 2013;11(1):32-6.
37. Lutz J, Menke J, Sollinger D, Schinzel H, Thürmel K. Haemostasis in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29:29-40.
38. Pruthi RK, Heit JA. Laboratory evaluation and thrombophilia. In: 2nd ed. David Lillicrap, Nigel Key, Michael Makris, Denise O'Shaughnessy (editors). *Practical Hemostasis and Thrombosis*. Wiley-Blackwell; 2009. p. 17-24.
39. Bijnen STA, Æsterud B, Barteling W, Werbeek-Knobbe K, Willemsen M, van Heerde WL, et al. Alterations in markers of coagulation and fibrinolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria before and during treatment with eculizumab. *Thromb Res*. 2015;136:274-81.
40. Kroll MH, Michaelis LC, Verstovsek S. Mechanisms of thrombogenesis in polycythemia vera. *Blood Rev*. 2015;29:215-21.
41. Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, et al. Guidelines on diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol*. 2012;158:323-35.
42. Di Minno MND, Ambrosino P, Ageno W, Rosendaal F, Di Minno G, Dentali F. Natural anticoagulants deficiency and the risk of venous thromboembolism: a meta-analysis of observational studies. *Thromb Res*. 2015;135:923-32.
43. Kanter J, Kruse-Jarres R. Management of sickle cell disease from childhood through adulthood. *Blood Rev*. 2013;27:279-87.
44. Sirachainan N, Wijarn P, Chuansumrit A, Kadegasem P, Wongwerawattanakoon P, Soisamrong A. Aspirin resistance in children and young adults with splenectomised thalassaemia diseases. *Thromb Res*. 2015;135:916-22.
45. Mumford AD, Ackroyd S, Alikhan R, Bowles L, Chowdary P, Grainger J, et al. Guideline for the diagnosis and management of the rare coagulation disorders. *Br J Haematol*. 2014;167:304-26.
46. Bind M-A, Baccarelli A, Zanobetti A, Tarantini L, Suh H, Vokonas P, et al. Air pollution and markers of coagulation, inflammation, and endothelial function: Associations and epigene-environment interactions in an elderly cohort. *Epidemiology*. 2012;23(2):332-40.
47. Martin DS, Pate JS, Vercueil A, Doyle PW, Mythen MG, Grocott MPW. Reduced coagulation at high altitude identified by thromboelastography. *Thromb Haemost*. 2012;107(6):1066-71.
48. Matika RW, Nielsen VG, Sterbrenner EB, Sussman AN, Madhira M. Hemodialysis patients have plasmatic hypercoagulability and decreased fibrinolytic vulnerability: role of carbon monoxide [abstract]. *ASAIO J*. 2014;60(6):716-21.
49. Murphy DA, Hockings LE, Andrews RK, Aubron C, Gardiner EE, Pellegrino VA, et al. Extracorporeal membrane oxygenation – hemostatic complications. *Transf Med Rev*. 2015(29):90-101.
50. Ranucci M. Hemostatic and thrombotic issues in cardiac surgery. *Semin Thromb Hemost*. 2015;41(1):84-90.
51. Cattaneo M. Qualitative platelet disorders. In: 2nd ed. David Lillicrap, Nigel Key, Michael Makris, Denise O'Shaughnessy (editors). *Practical Hemostasis and Thrombosis*. Wiley-Blackwell; 2009. p. 115–22.
52. Pendleton RC, Rodgers GM. Thrombosis and antithrombotic therapy. In: 13rd ed. Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT, Paraskevas F, Rodgers GM (editors). *Wintrobe's Clinical Hematology*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins; 2014. p. 1218-57.
53. Savelieva I, Camm J. Practical considerations for using novel oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Clin Cardiol*. 2014;37(1):32-47.
54. Kitchen S, Gray E, Mackie I, Baglin T, Makris M. Measurement of non-coumarin anticoagulants and their effects on tests of haemostasis: Guidance from the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol*. 2014;166:830-41.
55. Practice Guidelines for perioperative blood management – An update report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on perioperative blood management. *Anesthesiology*. 2015;122(2):241-75.
56. Mousa SA. Antithrombotic effects of naturally derived products on coagulation and platelet function [abstract]. *Methods Mol Biol*. 2010;663:229-40.
57. Qureshi AI, Malik AA, Adil MM, Suri MFK. Oral contraceptive use and incident stroke in women with sickle cell disease. *Thromb Res*. 2015;136:315-8.
58. Favaloro EJ, Funk DM, Lippi G. Pre-analytical variables in coagulation testing associated with diagnostic errors in hemostasis. *Lab Med*. 2012;43(2):1-10.
59. Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gary E, Laffan M. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol*. 2013;35:1-13.
60. Rosário HS. Forças hemodinâmicas em aterosclerose – Repercussões sobre as características e atividade endotelial. *Boletim da SPM*. 2010;25(4):6-13.

SYSTEMS BIOLOGY OF THE MICROVASCULATURE

Clegg LE*, Mac Gabhann F.

Abstract

The vascular network carries blood throughout the body, delivering oxygen to tissues and providing a pathway for communication between distant organs. The network is hierarchical and structured, but also dynamic, especially at the smaller scales. Remodeling of the microvasculature occurs in response to local changes in oxygen, gene expression, cell-cell communication, and chemical and mechanical stimuli from the microenvironment. These local changes occur as a result of physiological processes such as growth and exercise, as well as acute and chronic diseases including stroke, cancer, and diabetes, and pharmacological intervention. While the vasculature is an important therapeutic target in many diseases, drugs designed to inhibit vascular growth have achieved only limited success, and no drug has yet been approved to promote therapeutic vascular remodeling. This highlights the challenges involved in identifying appropriate therapeutic targets in a system as complex as the vasculature. Systems biology approaches provide a means to bridge current understanding of the vascular system, from detailed signaling dynamics measured in vitro and pre-clinical animal models of vascular disease, to a more complete picture of vascular regulation in vivo. This will translate to an improved ability to identify multi-component biomarkers for diagnosis, prognosis, and monitoring of therapy that are easy to measure in vivo, as well as better drug targets for specific disease states. In this review, we summarize systems biology approaches that have advanced our understanding of vascular function and dysfunction in vivo, with a focus on computational modeling. [**Integr Biol (Camb)**. 2015 May;7(5):498-512]. PMID: 25839068

* Institute for Computational Medicine and Department of Biomedical Engineering, Johns Hopkins University, Baltimore, MD 21218, USA. feilim@jhu.edu.

REGULATION OF INCREASED BLOOD FLOW (HYPEREMIA) TO MUSCLES DURING EXERCISE: A HIERARCHY OF COMPETING PHYSIOLOGICAL NEEDS

Joyner MJ, Casey DP*

Abstract

This review focuses on how blood flow to contracting skeletal muscles is regulated during exercise in humans. The idea is that blood flow to the contracting muscles links oxygen in the atmosphere with the contracting muscles where it is consumed. In this context, we take a top down approach and review the basics of oxygen consumption at rest and during exercise in humans, how these values change with training, and the systemic hemodynamic adaptations that support them. We highlight the very high muscle blood flow responses to exercise discovered in the 1980s. We also discuss the vasodilating factors in the contracting muscles responsible for these very high flows. Finally, the competition between demand for blood flow by contracting muscles and maximum systemic cardiac output is discussed as a potential challenge to blood pressure regulation during heavy large muscle mass or whole body exercise in humans. At this time, no one dominant dilator mechanism accounts for exercise hyperemia. Additionally, complex interactions between the sympathetic nervous system and the microcirculation facilitate high levels of systemic oxygen extraction and permit just enough sympathetic control of blood flow to contracting muscles to regulate blood pressure during large muscle mass exercise in humans. [**Physiol Rev. 2015 Apr;95 (2):549-601**]. PMID: 25834232

* Department of Anesthesiology, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota; and Department of Physical Therapy and Rehabilitation Science, University of Iowa, Iowa City, Iowa.

RED BLOOD CELL STORAGE DURATION AND TRAUMA

Sparrow RL*

Abstract

Numerous retrospective clinical studies suggest that transfusion of longer stored red blood cells (RBCs) is associated with an independent risk of poorer outcomes for certain groups of patients, including trauma, intensive care, and cardiac surgery patients. Large multicenter randomized controlled trials are currently underway to address the concern about RBC storage duration. However, none of these randomized controlled trials focus specifically on trauma patients with hemorrhage. Major trauma, particularly due to road accidents, is the leading cause of critical injury in the younger-than-40-year-old age group. Severe bleeding associated with major trauma induces hemodynamic dysregulation that increases the risk of hypoxia, coagulopathy, and potentially multiorgan failure, which can be fatal. In major trauma, a multitude of stress-associated changes occur to the patient's RBCs, including morphological changes that increase cell rigidity and thereby alter blood flow hemodynamics, particularly in the microvascular vessels, and reduce RBC survival. Initial inflammatory responses induce deleterious cellular interactions, including endothelial activation, RBC adhesion, and erythrophagocytosis that are quickly followed by profound immunosuppressive responses. Stored RBCs exhibit similar biophysical characteristics to those of trauma-stressed RBCs. Whether transfusion of RBCs that exhibit storage lesion changes exacerbates the hemodynamic perturbations already active in the trauma patient is not known. This article reviews findings from several recent nonrandomized studies examining RBC storage duration and clinical outcomes in trauma patients. The rationale for further research on RBC storage duration in the trauma setting is provided. [Transfus Med Rev. 2015 Apr;29(2):120-6.]. PMID: 25573415

* Department of Immunology, Monash University, Melbourne, Victoria, Australia. Electronic address: rosemary.sparrow@monash.edu.



CIÊNCIA&VIDA
P U B L I C A Ç Õ E S

29 ANOS

A PUBLICAR O QUE A CIÊNCIA NOS DITA

Centro Empresarial de Famões, Fracção BO 1685 - 253 Famões
Tel. 21 478 78 50 Fax 21 478 78 59 E-mail: pubcienciaevinda@sapo.pt