

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE FARMÁCIA



**Modelação de Variáveis Biológicas – Estudo sobre a
descrição quantitativa de parâmetros funcionais da
pele *in vivo***

Pedro Filipe Capêlo Contreiras Pinto

DOUTORAMENTO EM FARMÁCIA
Especialidade de Biofarmácia e Farmacocinética

2010

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE FARMÁCIA



**Modelação de Variáveis Biológicas – Estudo sobre a
descrição quantitativa de parâmetros funcionais da
pele *in vivo***

Pedro Filipe Capêlo Contreiras Pinto

DOUTORAMENTO EM FARMÁCIA

Especialidade de Biofarmácia e Farmacocinética

Tese orientada pelo Prof. Doutor Luís Monteiro Rodrigues e
pelo Prof. Doutor José Guimarães Morais

2010

Resumo

A microcirculação cutânea, monitorizada através de fluxometria de laser-doppler (LDF) a que por vezes se adiciona a gasometria transcutânea ($tcpO_2$), é utilizada na obtenção de informação sobre a função vascular, especialmente quando associada a manobras dinâmicas. O objectivo do presente trabalho foi desenvolver um método baseado em modelos cinéticos, e suportado por pressupostos fisiológicos, que permitisse a avaliação da microcirculação de forma mais rigorosa e comparável.

Foram incluídos 54 voluntários saudáveis, de ambos os sexos distribuídos em 2 grupos de idades (Grupo I: 30 voluntários, 18-35 anos; Grupo II: 24 voluntários, 35-65 anos). Foram realizadas 4 manobras dinâmicas de alteração da microcirculação (alteração da postura, redução da perfusão por alteração da postura e por oclusão suprasistólica, e alteração da inspiração do Oxigénio). Foram avaliadas a microcirculação, a $tcpO_2$ e o LDF. A Perda Trans-Epidérmica de Água (PTEA) e o CO_2 transcutâneo ($tcpCO_2$) foram também registados. Desenvolveram-se 2 modelos compartimentais que foram ajustados aos dados de $tcpO_2$ com a ajuda dos dados de LDF. Seleccionou-se o melhor modelo, validando-se o processo de análise. Para testar a capacidade do modelo em discriminar condições patológicas específicas, foram incluídos 6 doentes com Diabetes tipo II, e submetidos às manobras de redução da perfusão e alteração do Oxigénio inspirado. Todos os voluntários deram o seu consentimento informado.

O modelo monocompartimental foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais. O parâmetro mais relevante deste modelo, o tempo de semi-vida de eliminação do Oxigénio, foi comparado entre os grupos controlo e de doentes. Este parâmetro é superior nos doentes em relação aos voluntários saudáveis, em todas as manobras consideradas, apresentando uma capacidade discriminativa superior em relação ao parâmetro mais comum utilizado na prática clínica.

Abstract

Cutaneous microcirculation, monitored by laser-doppler flowmetry (LDF) and sometimes transcutaneous blood gas ($tcpO_2$), is used in order to obtain vascular function related information, specially when associated to dynamic manoeuvres. The aim of this work was to develop a method based on kinetic models and supported by physiological assumptions that would allow a more accurate and comparable assessment of microcirculation.

Fifty-four healthy volunteers, of both genders distributed into 2 age groups were used in this study (Group I: 30 volunteers, 18-35 years of age; Group II: 24 volunteers, 35-65 years of age). Four dynamic manoeuvres of microcirculation alteration were carried out (postural change, reduction in perfusion due to postural change and to supra-systolic occlusion and change in oxygen intake). Microcirculation, $tcpO_2$ and LDF were assessed. Trans Epidermal Water Loss (TEWL) and transcutaneous CO_2 ($tcpCO_2$) were also registered. Two compartmental models were developed. The latter were adjusted to $tcpO_2$ data with the aid of LDF data. The best model was selected and the analysis process was validated.

In order to test the model capacity in discriminating specific pathological conditions, 6 patients with type 2 Diabetes, were included and submitted to manoeuvres in perfusion reduction and change in Oxygen intake. All volunteers were informed about the study and expressed their consent.

The compartmental model was the one that best adjusted to experimental data. The most relevant parameter of this model, the half-life of Oxygen elimination, was compared amongst control groups and patient groups. This parameter is higher in patients in relation to the healthy volunteers, in all manoeuvres taken into account, demonstrating greater discriminative capacity in relation to the most common parameter used in clinical practice.

Palavras Chave / Keywords

Capacidade vital
Diabetes
Doença Vascular Periférica
LDF (Fluxometria de Laser-doppler)
Microcirculação
Modelação matemática
tcpO₂

Vital capacity
Diabetes
Peripheral Vascular Disease
LDF (Laser Doppler Flowmetry)
Microcirculation
Mathematical modelling
tcpO₂

Índice geral

1. Introdução	1
1. A microcirculação	1
1.1. A unidade microcirculatória	1
1.2. Fisiologia da microcirculação	6
1.3. Aspectos especiais – a Microcirculação cutânea	12
1.4. Fisiopatologia	14
2. As variáveis transcutâneas no contexto da avaliação da patologia vascular.....	29
2.1. Fluxo de sangue avaliado através de Fluxometria por Laser Doppler (LDF)	29
2.2. Gasometria transcutânea de Oxigénio e CO ₂	33
2.3. Perda Trans Epidérmica de Água (PTEA).....	36
3. Métodos de avaliação e análise da microcirculação	42
3.1. Manobras dinâmicas.....	42
3.2. Modelação matemática	50
4. Objectivos	52
2. Material e Métodos.....	53
1. Modelação matemática – Base conceptual	53
2. Modelos.....	55
2.1. Modelo monocompartimental	55
2.2. Modelo bi-compartimental	64
2.3. Modelos de LDF	77
3. Procedimentos experimentais (Manobras dinâmicas).....	85
3.1. Alteração da postura.....	85
3.2. Baixa perfusão	87
3.3. Alteração do consumo de Oxigénio.....	89
4. Voluntários.....	90
4.1. Colocação das sondas	91
5. Metodologias de medição	93
5.1. Fluxometria por Laser Doppler.....	93
5.2. Pressão parcial de Oxigénio transcutâneo (tcpO ₂)	94
5.3. Pressão parcial de CO ₂ transcutâneo (tcpCO ₂)	95
5.4. Perda Trâns-Epidérmica de Água (PTEA)	96
6. Validação experimental.....	98

6.1.	Seleção do melhor modelo de descrição do tcpO ₂	98
6.2.	Validação das condições de ajustamento dos dados	98
7.	Estatística para a modelação matemática e análise comparativa	99
7.1.	Modelos de regressão.....	99
7.2.	Métodos de ajustamento de modelos.....	100
7.3.	Critérios de ajustamento de modelos (“goodness of fit tests”).....	102
8.	Tratamento dos dados experimentais.....	107
8.1.	Ajustamento	107
8.2.	Tratamento e análise da validação experimental.....	108
8.3.	Análise dos dados experimentais	109
3.	Validação experimental.....	112
1.	Validação experimental	112
1.1.	Resultados gerais dos voluntários saudáveis jovens	112
1.2.	Seleção do melhor modelo para descrição do tcpO ₂	115
1.3.	Validação das condições de ajustamento dos dados	121
1.4.	Conclusão da validação experimental	134
4.	Resultados e Discussão.....	135
1.	Manobras de alteração da postura	135
1.1.	Resultados experimentais e discussão.....	135
1.2.	Comparação por idades	137
1.3.	Comparação por género	139
1.4.	Relação Fluxo de sangue - PTEA	141
2.	Manobras de redução da perfusão	143
2.1.	Por alteração da postura.....	143
2.2.	Por oclusão suprasistólica	157
3.	Manobras de alteração do Oxigénio	171
3.1.	Resultados experimentais e discussão.....	171
3.2.	Comparação por idades	173
3.3.	Comparação por género	175
3.4.	Modelação matemática	177
4.	Análise do grupo de doentes	185
4.1.	Protocolo de redução da perfusão por alteração da postura	185
4.2.	Protocolo de redução da perfusão por oclusão suprasistólica	192

4.3. Alteração da inspiração de Oxigénio	198
5. Conclusões.....	205
6. Bibliografia	207

Índice de figuras

Figura 1.1 - Distribuição do sangue pelos vários compartimentos circulatórios.....	2
Figura 1.2 - Estrutura de uma artéria normal.....	3
Figura 1.3 - Esquema de uma secção transversal de um capilar, mostrando as células endoteliais e a membrana basal.....	4
Figura 1.4 - Esquema geral da unidade microcirculatória, mostrando os capilares, os esfíncteres pré-capilares, as arteríolas e as vénulas.....	5
Figura 1.5 - Diagrama das velocidades que ocorrem quando um fluído atravessa um tubo.....	8
Figura 1.6 - Relação entre a pressão de distensão e a tensão da parede.	10
Figura 1.7 - Forças de Starling aplicadas ao vaso sanguíneo.....	12
Figura 1.8 - Reconstrução computadorizada dos vasos presentes na derme papilar, mostrando a rede capilar e o plexo horizontal inferior.....	14
Figura 1.9 - Irrigação arterial do membro inferior.....	16
Figura 1.10 - Resumo esquemático das alterações conducentes à Síndrome metabólica. NGF: Factor de Crescimento do Nervo; NPY: Neuropeptídeo Y; CRH: Hormona Libertadora das Corticotrofinas.....	19
Figura 1.11 - Representação esquemática das alterações que ocorrem na célula endotelial devido à obesidade.....	26
Figura 1.12 - Representação esquemática do eléctrodo de medição combinada de $\text{tcpO}_2/\text{tcpCO}_2$. Legenda: 1,2 – Adesivo fixador; 3 – Líquido de contacto; 4 – Membrana; 5 – Electrólito; 6 – Resistência de aquecimento; 7 – Termóstato; 8 – Cátodo de Platina; 9 – Circuito impresso; 10 – Eléctrodo de referência de Ag/AgCl; 11 – Eléctrodo de vidro de pH; 12 – Elemento de aquecimento.	34
Figura 1.13 - Modelos empíricos para o LDF e para o tcpO_2	51
Figura 2.1 - Esquema da organização da microcirculação cutânea. Estão também representados os principais sistemas de medição (gasometria transcutânea – $\text{tcpO}_2/\text{CO}_2$ e Fluxometria por Laser Doppler –LDF), bem como as áreas e profundidades atingidas com estes sistemas.	53
Figura 2.2 - Modificações do Fluxo de sangue (PU) e do Oxigénio transcutâneo (pO_2) durante uma experiência de redução da perfusão. Estão indicadas as 3 fases sequenciais de avaliação. Dados in vivo de um voluntário.	54
Figura 2.3 - Modelo monocompartimental adoptado para descrever os movimentos do Oxigénio na pele humana (k_0 – Constante de ordem zero que regula a entrada de Oxigénio no compartimento; k_e – Constante de primeira ordem que regula a saída do Oxigénio do compartimento).....	56
Figura 2.4 - Representação gráfica da evolução da influência das várias perfusões no valor final de tcpO_2 . Apenas estão considerados as Fases II e III. Dados simulados com o modelo monocompartimental.....	58
Figura 2.5 - Modelo bicompartimental adoptado para descrever os movimentos do Oxigénio na pele humana (k_0 – Constante de ordem zero que regula a entrada de Oxigénio no compartimento; k_{10} , k_{12} e k_{21} – Constantes cinéticas de primeira ordem que regulam os movimentos do Oxigénio entre compartimentos e a sua saída para o exterior).....	64

Figura 2.6 - Representação gráfica da evolução das influência das várias perfusões no valor final de tcpO ₂ . Apenas estão considerados as Fases II e III. Dados simulados com o modelo bicompartimental.	72
Figura 2.7 - Representação gráfica do modelo simples de variação do fluxo de sangue durante os vários protocolos. As três fases correspondem aos vários momentos do protocolo (Fase I: Valores basais; Fase II: Alteração/perturbação do sistema; Fase III: Retoma aos valores basais)	77
Figura 2.8 - Resposta do Fluxo de sangue após uma oclusão – Hiperémia reactiva	78
Figura 2.9 - Modelo bicompartimental adoptado para descrever a variação do fluxo de sangue na pele humana, após experiências de redução da perfusão e com indução de hiperémia reactiva. (k - Constantes cinéticas de primeira ordem que regulam as variações do fluxo entre compartimentos).	79
Figura 2.10 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de alteração da postura. O voluntário inicia a experiência sentado, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período eleva o membro inferior mantendo-se nessa posição durante 10 min. No final o voluntário volta à posição inicial.	86
Figura 2.11 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. O voluntário inicia a experiência em decubito, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período eleva passivamente o membro inferior a 45º mantendo-se nessa posição durante 10 min. No final o voluntário volta à posição inicial.	87
Figura 2.12 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. O voluntário inicia a experiência sentado, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período provoca-se a oclusão arteria com uma manga de pressão. A oclusão mantém-se durante 10 min. No final abre-se a manga provocando uma hiperémia reactiva.	88
Figura 2.13 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de alteração do consumo de Oxigénio. O voluntário inicia a experiência sentado, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período inicia a ventilação numa atmosfera de Oxigénio 100% durante 10 min. No final o voluntário volta a respirar uma atmosfera normal.	89
Figura 2.14 - Esquema da colocação das diversas sondas no membro inferior dos voluntários. Todos os voluntários colocaram as sondas no mesmo local independentemente dos vários procedimentos experimentais realizados.	92
Figura 2.15 - Sistema de monitorização do Fluxo de Sangue por Fluxometria por Laser Doppler (LDPM). Esquerda: Sistema Periflux PF5000 (Perimed, Suécia). Direita: Representação esquemática do método de medição. Figuras obtidas no website do fabricante (www.perimed.se)	93
Figura 2.16 - Sistema de medição do Oxigénio transcutâneo. Esquerda: Representação esquemática do método de medição. Direita: Esquema do interior da sonda mostrando não só o elemento de medição do Oxigénio, mas também o eléctro de medição do tcpCO ₂ . Figuras obtidas no website do fabricante (www.perimed.se)	95
Figura 2.17 - Esquema de medição do evaporímetro representando os sensores de humidade e temperatura no interior de uma câmara aberta com um volume conhecido e constante.	97
Figura 2.18 - Representação gráfica da superfície dos gradientes obtidos num problema de regressão não linear utilizando o algoritmo GRG2.	103

Figura 2.19 - Vários tipos de resíduos de regressão. a) Resíduos normais, b) Resíduos heterocedásticos, c e d) Resíduos indiciando modelos mal adaptados aos dados experimentais. ...	105
Figura 2.20 - Página de dados da macro criada para analisar os dados da evolução do Oxigénio durante um protocolo de redução da perfusão.	107
Figura 2.21 - Esquema que ilustra o Efeito da Convergência para mínimos locais. Em (A) parte-se apenas de uma estimativa inicial chegando a um mínimo que não corresponde ao menor valor possível no espaço paramétrico. Em (B), inicia-se a análise com várias estimativas iniciais chegando a vários mínimos. Desta forma, consegue-se atingir o valor mais baixo possível no espaço paramétrico e prevenir-se a convergência para mínimos locais.	108
Figura 3.1 - Perfis de evolução média (+dp) durante as experiências de alteração da perfusão por modificação da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão. Esquerda: tcpO ₂ ; Direita: LDF.....	114
Figura 3.2 - Perfis de evolução média (+dp) durante as experiências de alteração da perfusão por oclusão suprasistólica. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da oclusão. Esquerda: tcpO ₂ ; Direita: LDF.....	114
Figura 3.3 - Perfis de evolução média (+dp) durante as experiências de alteração da inalação de Oxigénio. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração de Oxigénio. Esquerda: tcpO ₂ ; Direita: LDF.....	114
Figura 3.4 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais a partir dos dados de tcpO ₂ obtidos durante a redução da perfusão por alteração da postura. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção de Akaike. Direita: Resultados do r ²	117
Figura 3.5 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais a partir dos dados de tcpO ₂ obtidos durante a redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção de Akaike. Direita: Resultados do r ²	118
Figura 3.6 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais a partir dos dados de tcpO ₂ obtidos durante a alteração da inalação de Oxigénio. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção de Akaike. Direita: Resultados do r ²	119
Figura 3.7 - Percentagem de voluntários em relação ao total que, no modelo de 2 compartimentos, apresentaram as constantes α e β iguais ($a=b$) e β igual a zero ($b=0$). A coluna total é o somatório das colunas anteriores.....	120
Figura 3.8 - Resumo dos resultados da comparação entre as várias constantes obtidas após o ajustamento. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Comparação entre as constantes Ke ₁ e Ke ₂ . Direita: Comparação entre as constantes Ke ₁ e Ke ₃	122
Figura 3.9 - Resumo dos resultados da comparação entre as várias constantes obtidas após o ajustamento. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Comparação entre as constantes Ke ₁ e Ke ₂ . Direita: Comparação entre as constantes Ke ₁ e Ke ₃	123
Figura 3.10 - Resumo dos resultados da comparação entre as várias constantes obtidas após o ajustamento. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Comparação entre as constantes Ke ₁ e Ke ₂ . Direita: Comparação entre as constantes Ke ₁ e Ke ₃	124
Figura 3.11 - Resumo dos resultados da comparação entre os modelos compartimentais com e sem modelação simultânea do fluxo, a partir dos dados de tcpO ₂ do procedimento	

experimental de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Seleção Akaike. Direita: Resultados do r^2	126
Figura 3.12 - Resumo dos resultados da comparação entre os modelos compartimentais com e sem modelação simultânea do fluxo, a partir dos dados de tcpO ₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Seleção Akaike. Direita: Resultados do r^2	127
Figura 3.13 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais com e sem modelação simultânea do fluxo, a partir dos dados de tcpO ₂ do procedimento experimental de alteração da inalação de Oxigénio. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Seleção Akaike. Direita: Resultados do r^2	128
Figura 3.14 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois processos de modelação da hiperémia. Modelos aplicados aos dados de tcpO ₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Seleção Akaike. Direita: Resultados do r^2	130
Figura 3.15 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois processos de modelação da hiperémia. Modelos aplicados aos dados de tcpO ₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Seleção Akaike. Direita: Resultados do r^2	131
Figura 3.16 - Resíduos padronizados obtidos após o ajustamento do modelo monocompartimental aos dados de tcpO ₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura	132
Figura 3.17 - Resíduos padronizados obtidos após o ajustamento do modelo monocompartimental aos dados de tcpO ₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica	132
Figura 3.18 - Resíduos padronizados obtidos após o ajustamento do modelo monocompartimental aos dados de tcpO ₂ do procedimento experimental de alteração da inalação de Oxigénio.....	133
Figura 3.19 - Resultados dos testes de normalidade aplicados aos resíduos padronizados de cada protocolo.....	133
Figura 4.1 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	135
Figura 4.2 - Resultados médios (+ d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	135
Figura 4.3 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.....	137
Figura 4.4 -Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.....	138

Figura 4.5 – Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	138
Figura 4.6 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	138
Figura 4.7 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	139
Figura 4.8 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	140
Figura 4.9 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)....	140
Figura 4.10 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)....	140
Figura 4.11 - Relação PTEA vs Fluxo de sangue estabelecida durante a manobra de alteração da postura. Dados individuais de cada voluntário.	142
Figura 4.12 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	143
Figura 4.13 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	143
Figura 4.14 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	145
Figura 4.15 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	145
Figura 4.16 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	146
Figura 4.17 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	146

Figura 4.18 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	147
Figura 4.19 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.	147
Figura 4.20 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	148
Figura 4.21 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	148
Figura 4.22 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com e sem modelação matemática. <i>Esquerda:</i> Voluntários jovens femininos. <i>Direita:</i> Voluntários jovens masculinos. <i>Pontos:</i> Dados experimentais observados. <i>Linhas:</i> Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.	149
Figura 4.23 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com e sem modelação matemática. <i>Esquerda:</i> Voluntários idosos femininos. <i>Direita:</i> Voluntários idosos masculinos. <i>Pontos:</i> Dados experimentais observados. <i>Linhas:</i> Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.	149
Figura 4.24 – Representação gráfica dos valores de tcpO ₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.....	150
Figura 4.25 - Resíduos padronizados obtidos após modelação matemática de todos os voluntários saudáveis.....	152
Figura 4.26 - Histograma de frequências dos resultados do teste de normalidade realizado a cada uma das séries de resíduos.	152
Figura 4.27 - Resultados medianos (+ dp) dos dados do tempo de semi-vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por idades. Comparação estatística baseada na idade (N.S. – não significativo).....	154
Figura 4.28 - Resultados medianos (+ DP) dos dados do tempo de semi-vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por género. Comparação estatística baseada no género (N.S. – não significativo)	156
Figura 4.29 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	157
Figura 4.30 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.....	157

Figura 4.31 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	159
Figura 4.32 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	159
Figura 4.33 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	160
Figura 4.34 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	160
Figura 4.35 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	161
Figura 4.36 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	162
Figura 4.37 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	162
Figura 4.38 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	162
Figura 4.39 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com e sem modelação matemática. <i>Esquerda</i> : Voluntários jovens femininos. <i>Direita</i> : Voluntários jovens masculinos. <i>Pontos</i> : Dados experimentais observados. <i>Linhas</i> : Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.	163
Figura 4.40 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com e sem modelação matemática. <i>Esquerda</i> : Voluntários idosos femininos. <i>Direita</i> : Voluntários idosos masculinos. <i>Pontos</i> : Dados experimentais observados. <i>Linhas</i> : Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.	164
Figura 4.41 – Representação gráfica dos valores de tcpO ₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.....	164

Figura 4.42 - Resíduos padronizados obtidos após modelação matemática de todos os voluntários saudáveis.....	166
Figura 4.43 - Histograma de frequências dos resultados do teste de normalidade realizado a cada uma das séries de resíduos.	167
Figura 4.44 - Resultados medianos (+ d.p.) dos dados do tempo de semi vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por idades. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo)	168
Figura 4.45 - Resultados medianos (+ d.p.) dos dados do tempo de semi vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por género. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo).....	170
Figura 4.46 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.	171
Figura 4.47 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.....	171
Figura 4.48 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.	173
Figura 4.49 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.	173
Figura 4.50 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	174
Figura 4.51 - Resultados médios (+ d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	174
Figura 4.52 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.	175
Figura 4.53 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração. ...	175
Figura 4.54 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	176
Figura 4.55 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	176

Figura 4.56 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com e sem modelação matemática. <i>Esquerda:</i> Voluntários jovens femininos. <i>Direita:</i> Voluntários jovens masculinos. <i>Pontos:</i> Dados experimentais observados. <i>Linhas:</i> Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.	177
Figura 4.57 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com e sem modelação matemática. <i>Esquerda:</i> Voluntários idosos femininos. <i>Direita:</i> Voluntários idosos masculinos. <i>Pontos:</i> Dados experimentais observados. <i>Linhas:</i> Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.	177
Figura 4.58 – Representação gráfica dos valores de tcpO ₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. <i>Pontos:</i> Dados observados individuais. . —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.....	178
Figura 4.59 - Resíduos padronizados obtidos após modelação matemática de todos os voluntários saudáveis.....	179
Figura 4.60 - Histograma de frequências dos resultados do teste de normalidade realizado a cada uma das séries de resíduos.	180
Figura 4.61 - Resultados medianos (+d.p.) dos dados do tempo de semi-vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por idades. Comparação estatística baseada na idade. (* p<0,05)	181
Figura 4.62 - Resultados medianos (+ dp) dos dados do tempo de semi vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por género. Comparação estatística baseada no género. (* p<0,05).....	183
Figura 4.63 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	186
Figura 4.64 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	186
Figura 4.65 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para a variável tcpO ₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão. Dados obtidos com os voluntários estratificados por idade (Gupos I e II) e com os doentes. Comparação estatística em relação aos doentes. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	187
Figura 4.66 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com patologia com e sem modelação matemática.....	188
Figura 4.67 – Representação gráfica dos valores de tcpO ₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. <i>Pontos:</i> Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.....	189
Figura 4.68 - Resultados medianos (+dp) do tempo de semi-vida de eliminação do tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura, após modelação matemática. Comparação do grupo de doentes com os grupos controlo I e II. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)	190

Figura 4.69 - Resultados médios (+dp) do tempo para recuperar metade do Oxigénio durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação do grupo de doentes com o grupo controlo II. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	191
Figura 4.70 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	192
Figura 4.71 - Resultados médios (+ d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.	192
Figura 4.72 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para a variável tcpO ₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão. Dados obtidos com os voluntários estratificados por idade (Gupos I e II) e com os doentes. Comparação estatística em relação aos doentes (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	193
Figura 4.73 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com patologia com e sem modelação matemática.....	194
Figura 4.74 – Representação gráfica dos valores de tcpO ₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.....	195
Figura 4.75 - Resultados medianos (+dp) do tempo de semi-vida de eliminação do tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica, após modelação matemática. Comparação do grupo de doentes com os grupos controlo I e II. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	196
Figura 4.76 - Resultados médios (+dp) do tempo para recuperar metade do Oxigénio durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação do grupo de doentes com o grupo controlo II. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	198
Figura 4.77 - Resultados médios (+ d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração do Oxigénio. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da alteração.....	199
Figura 4.78 - Resultados (+ d.p.) das variáveis tcpO ₂ (esquerda) e tcpCO ₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração do Oxigénio. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da alteração.....	199
Figura 4.79 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para a variável tcpO ₂ durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração do Oxigénio. Dados obtidos com os voluntários estratificados por idade (Gupos I e II) e com os doentes. Comparação em relação ao grupo de doentes.(N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)	201
Figura 4.80 – Representação gráfica da evolução do tcpO ₂ de todos os voluntários com patologia com e sem modelação matemática.....	201
Figura 4.81 – Representação gráfica dos valores de tcpO ₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.....	202

Figura 4.82 - Resultados medianos (+dp) do tempo de semi-vida de eliminação do tcpO₂ durante as manobras de alteração da inspiração do Oxigénio, após modelação matemática. Comparação do grupo de doentes com os grupos controlo I e II. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)203

Índice de tabelas

Tabela 1.1 - Dependência do valor de fluxo, detectado por LDF, de aspectos interferentes (De – sem relevância, até ++++ - muito relevante).....	32
Tabela 1.2 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos de alteração da postura. Variações em relação ao decúbito. Dados de Fluxo de sangue (LDF).....	44
Tabela 1.3 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos de alteração da postura. Variações em relação ao decúbito. Dados de $tcpO_2$	44
Tabela 1.4 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos com indução de hiperémia. Variações em função das patologias. Dados de fluxo de sangue (LDF).....	47
Tabela 1.5 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos com indução de hiperémia. Dados de $tcpO_2$	48
Tabela 1.6 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos com inalação de Oxigénio a 100%. Variações em função das patologias. Dados de $tcpO_2$	50
Tabela 2.1 - Critérios de inclusão definidos	90
Tabela 2.2 - Características demográficas dos voluntários utilizados em todas as experiências realizadas.....	91
Tabela 3.1 - Resultados das pressões arteriais, sistólica e diastólica, obtidas em indivíduos saudáveis jovens (n=30).	112
Tabela 3.2 - Resultados do quociente ABI utilizado no diagnóstico da DVP (n=30).	113
Tabela 3.3 - Resultados do modelo de 1 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	116
Tabela 3.4 - Resultados do modelo de 2 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	116
Tabela 3.5 - Resultados do modelo de 1 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	117
Tabela 3.6 - Resultados do modelo de 2 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	117
Tabela 3.7 - Resultados do modelo de 1 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	118
Tabela 3.8 - Resultados do modelo de 2 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	118
Tabela 3.9 – Comparação estatística entre os vários resultados de AKAIKE obtidos durante a fase de comparação de modelos.	119
Tabela 3.10 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. Voluntários saudáveis jovens (n=30). Ajustamento com 3 constantes de velocidade separadas (Ke_1 , Ke_2 e Ke_3).	121
Tabela 3.11 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Voluntários saudáveis jovens (n=30). Ajustamento com 3 constantes separadas (Ke_1 , Ke_2 e Ke_3).	122
Tabela 3.12 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de alteração da inalação de Oxigénio. Voluntários saudáveis jovens (n=30). Ajustamento com 3 constantes separadas (Ke_1 , Ke_2 e Ke_3).	123

Tabela 3.13 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. Modelo mais simples. Voluntários saudáveis jovens (n=30).	125
Tabela 3.14 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. Modelo com separação do LDF. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	126
Tabela 3.15 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Voluntários saudáveis jovens (n=30).....	126
Tabela 3.16 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Modelo com separação do LDF. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	127
Tabela 3.17 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de alteração da inalação de Oxigénio. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	127
Tabela 3.18 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Modelo com separação do LDF. Voluntários saudáveis jovens (n=30)	128
Tabela 3.19 - Resultados da aplicação do modelo de $tcpO_2$ de 1 compartimento com modelação simultânea do LDF, segundo um modelo mais complexo, aos dados provenientes do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura. Voluntários saudáveis jovens (n=30).....	130
Tabela 3.20 - Resultados da aplicação do modelo de $tcpO_2$ de 1 compartimento com modelação simultânea do LDF, segundo um modelo mais complexo, aos dados provenientes do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Voluntários saudáveis jovens (n=30).....	131
Tabela 4.1 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, $tcpO_2$ e $tcpCO_2$ durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - $p<0.05$). Dados de todos os voluntários (n=54).....	136
Tabela 4.2 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo) (n=54).	139
Tabela 4.3 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estratificada por género. (N.S. – Não significativo). (n=54).	141
Tabela 4.4 - Resultados médios dos declives obtidos com os valores individuais durante as manobras de alteração da postura (n=54).	142
Tabela 4.5 - Correlação entre a PTEA e o Fluxo de Sangue. Valores dos coeficientes de correlação de Spearman e de Pearson obtidos nos resultados de todos os voluntários agrupados (n=54).....	142
Tabela 4.6 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, $tcpO_2$ e $tcpCO_2$ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - $p<0.05$). Dados de todos os voluntários (n=54).....	144

Tabela 4.7 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo). (n=54).	146
Tabela 4.8 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estratificada por género. (N.S. – Não significativo). (n=54).....	148
Tabela 4.9 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de todos os voluntários. (n=54).....	150
Tabela 4.10 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo)	151
Tabela 4.11 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo I (n=30).....	153
Tabela 4.12 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo II (n=24).....	153
Tabela 4.13 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários masculinos (n=27).....	155
Tabela 4.14 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários femininos (n=27).	155
Tabela 4.15 – Influência do género e da idade sobre os dados de tempo de semi-vida de eliminação de tcpO ₂ . Resultados da ANOVA. (n=54)	156
Tabela 4.16 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO ₂ e tcpCO ₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=54).....	158
Tabela 4.17 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo) (n=54).	160
Tabela 4.18 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estratificada por género. (N.S. – Não significativo) (n=54).....	163
Tabela 4.19 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de todos os voluntários (n=54).....	165
Tabela 4.20 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de todos os voluntários. (n=54) (* - p<0,05; N.S. – não significativo)	165

Tabela 4.21 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo I (n=30).....	167
Tabela 4.22 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo II (n=24).....	168
Tabela 4.23 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários masculinos (n=27).....	169
Tabela 4.24 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários femininos (n=27).	169
Tabela 4.25 – Influência do género e da idade sobre os dados de tempo de semi-vida de eliminação de tcpO ₂ . Resultados da ANOVA. (n=54)	170
Tabela 4.26 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO ₂ e tcpCO ₂ durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração de Oxigénio. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=54)	172
Tabela 4.27 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo) (n=54).	174
Tabela 4.28 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estratificada por género. (N.S. – Não significativo) (n=54).	176
Tabela 4.29 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54).	178
Tabela 4.30 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo).....	179
Tabela 4.31 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo I (n=30).....	180
Tabela 4.32 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo II (n=24).	181
Tabela 4.33 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários masculinos (n=27).....	182
Tabela 4.34 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários femininos (n=27).....	183
Tabela 4.35 – Influência do género e da idade sobre os dados de tempo de semi-vida de eliminação de tcpO ₂ . Resultados da ANOVA. (n=54)	184

Tabela 4.36 - Resultados do quociente ABI utilizado na avaliação da DVP do grupo de doentes (n=6).....	185
Tabela 4.37 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO ₂ e tcpCO ₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=6).....	187
Tabela 4.38 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de todos os voluntários do grupo de doentes com diabetes (n=6).....	189
Tabela 4.39 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo).....	190
Tabela 4.40 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO ₂ e tcpCO ₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=6).....	193
Tabela 4.41 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de todos os voluntários do grupo de doentes com diabetes (n=6).....	195
Tabela 4.42 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo).....	196
Tabela 4.43 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO ₂ e tcpCO ₂ durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração de Oxigénio. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=6)	200
Tabela 4.44 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO ₂ durante as manobras de alteração da inspiração do Oxigénio. Dados de todos os voluntários do grupo de doentes com diabetes (n=6).....	202
Tabela 4.45 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo).....	203

Agradecimentos

Porque um projecto tão extenso resulta da colaboração de várias pessoas:

Ao Professor Doutor Luís Monteiro Rodrigues, meu mentor desde há vários anos, o meu agradecimento especial pela sua amizade, orientação, disponibilidade e pelas diversas oportunidades que levaram à realização deste e doutros trabalhos. Esperando que este seja mais um patamar na criação de um projecto mais abrangente de investigação em Dermatologia Experimental.

Ao Professor Doutor José Guimarães Morais, a quem devo o despertar para a área de farmacocinética e que é para mim uma referência, o meu agradecimento pela sua orientação, pela sua disponibilidade e pelas sempre úteis e oportunas discussões científicas.

À Universidade Lusófona, através da Unidade de Dermatologia Experimental da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, onde foi realizado grande parte do trabalho experimental, agradeço a disponibilidade de meios técnicos e humanos que permitiram a realização deste projecto.

Ao colega e amigo Paulo Paixão, pelas longas e produtivas conversas, discussões e críticas que permitiram enriquecer e resolver alguns aspectos menos claros deste projecto, contribuindo assim para aumentar o seu rigor científico.

Aos colegas e amigos Catarina Rosado, Nuno Silva, Milene Fernandes, Francisco Rei e Manuel Fitas e António Costa, pelas conversas e sugestões e sem os quais este trabalho dificilmente teria prosseguido.

À D. Teresa, D. Florência e restante pessoal técnico da Unidade de Dermatologia Experimental, sem o qual este trabalho seria muito mais difícil.

A todos os voluntários que se disponibilizaram a participar neste estudo, permitindo a sua realização.

Finalmente, porque os últimos são os primeiros, à minha família, para quem estas palavras são sempre insuficientes: à Patrícia, a minha companheira de sempre, que esteve presente nos bons e maus momentos, para me apoiar durante todo este tempo e sem a qual este projecto nunca teria sido finalizado. À Leonor, que por vezes, torna as coisas extraordinariamente simples. Espero que, finalmente, possamos passar mais tempo juntos.

A todos o meu profundo Obrigado.

Abreviaturas

ABI	Quociente tornozelo/braço
AGL	Ácidos gordos livres
AIC	AKAIKE
Akt	Proteína quinase 1
Ang II	Renina-Angiotensina II
CRP	Proteína C reactiva
DAP	Doença Arterial Periférica
DVP	Doença Vascular Periférica
eNOs	NOsintetase endotelial
IL1, IL6	Interleucina 1 e 6
IRS-1	Substrato do receptor de insulina
LDf	Fluxometria por Laser Doppler / Fluxo de sangue
MAPK	MAP quinase
PaCO ₂	Pressão arterial de CO ₂
PAI	Perda de água insensível
PAI-1	Inibidor da activação do plasminogénico
PaO ₂	Pressão arterial de Oxigénio
PDK-1	Quinase 1 dependente da Fosfoinositidina
PI3-K	PI3-quinase
PTEA	Perda Trans-Epidérmica de Água
ROS	Espécies Reactivas de Oxigénio
tcpCO ₂)	Pressão transcutânea de CO ₂
tcpO ₂	Pressão transcutânea de Oxigénio
TNF α	Factor de necrose tumoral
ET-1	Péptido vasoconstritor endotelina 1
CRH	Hormona Libertadora das Corticotrofinas
GRG2	Generalized Reduced Gradient Algorithm
LDPM	Laser Doppler Perfusion Monitor / Monitor de Perfusão por Laser Doppler
NGF	Factor de Crescimento do Nervo
NO	Óxido Nítrico
NPY	Neuropéptido Y
SQR	Soma dos Quadrados dos Resíduos
UA / BPU	Unidades de Perfusão de Sangue

Para a Patrícia e
para a Leonor

1. Introdução

1. A microcirculação

A unidade microcirculatória é a mais pequena unidade do sistema vascular^[1]. O seu correcto desempenho permite fornecer os nutrientes necessários à actividade celular, bem como receber das células os metabolitos formados durante o seu funcionamento^[2]. A desregulação desta unidade encontra-se na origem de diversas patologias vasculares, genericamente abrangidas pela designação de Doença Vascular Periférica (DVP), que afectam 20% da população ocidental com mais de 55 anos^[3, 4] e que consistem, frequentemente, numa complicação de patologias de disseminação mais ampla como é o caso da Aterosclerose^[5]. O acompanhamento do funcionamento da unidade microcirculatória permite detectar precocemente tais patologias vasculares, contribuindo, assim, para o seu tratamento e para a melhoria das condições clínicas destes doentes^[6].

1.1. A unidade microcirculatória^[2, 7-9]

A circulação sistémica é realizada por vários circuitos em paralelo, que permitem grandes variações regionais do fluxo de sangue, sem significativas alterações do fluxo sistémico total (Figura 1.1)^[7].

A unidade microcirculatória é composta por arteríolas, capilares e vénulas^[2]. Nesta unidade funcional, os vasos sanguíneos são envolvidos directamente por células e tecidos. Um adulto médio possui cerca de 10^{11} vasos sanguíneos, sendo a grande maioria destes vasos sanguíneos muito pequenos – os capilares^[2]. Apesar do seu número elevado, os capilares são perfundidos com grande uniformidade, permitindo, assim, que todas as células recebam nutrientes e eliminem os seus metabolitos^[2]. Estima-se que cada célula do organismo humano esteja, no máximo, a não mais de 0.1 mm de um capilar^[8]. Este arranjo histológico permite que as distâncias de difusão sejam muito curtas, tornando as trocas que se estabelecem entre o sangue e as células muito eficientes^[8]. Apesar desta grande distribuição, em determinado momento, apenas 5% do total do sangue circulante se encontra nos capilares^[2, 8].

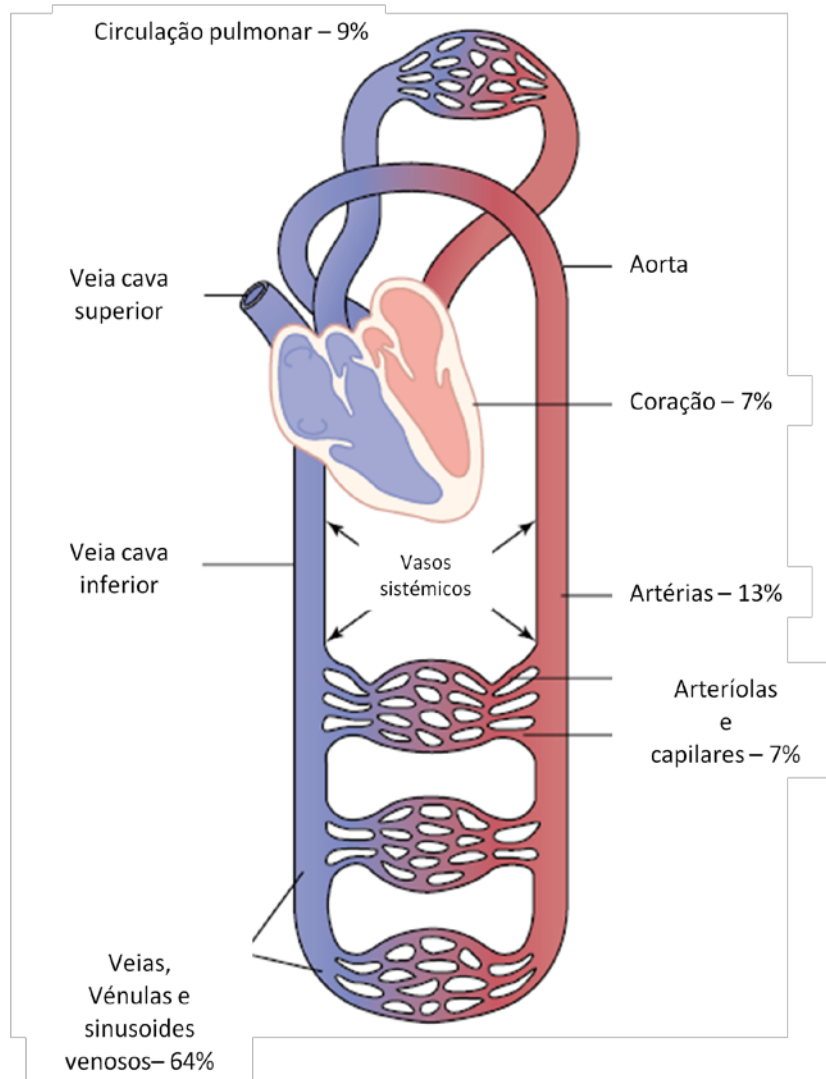


Figura 1.1 - Distribuição do sangue pelos vários compartimentos circulatórios.
(Adaptado da referência [10])

Os principais vasos desta circulação são as artérias e as veias. As paredes das artérias são formadas por três camadas distintas (Figura 1.2):

- Adventícia: parede exterior de tecido conjuntivo,
- Média: camada intermédia de músculo liso,
- Íntima: camada interna de endotélio e tecido conjuntivo adjacente.

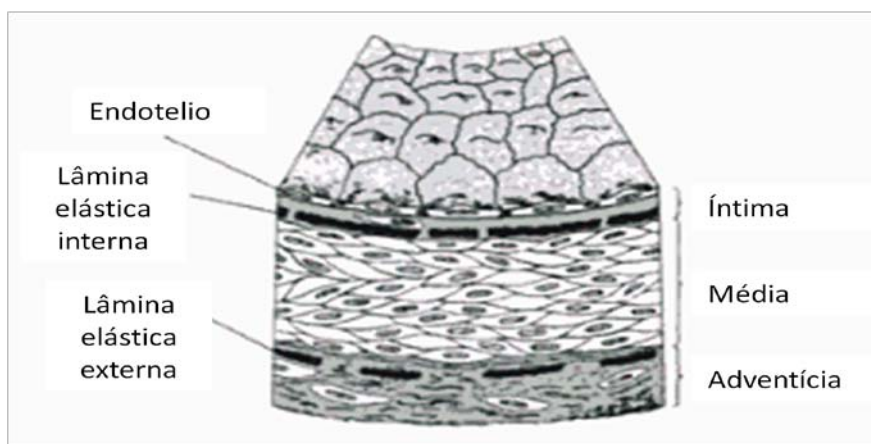


Figura 1.2 - Estrutura de uma artéria normal. (Adaptado da referência [7])

Entre as camadas adventícia e média e entre as camadas média e íntima existem ainda camadas de fibras elásticas designadas por lâminas elásticas externa e interna^[11].

Por sua vez, as arteríolas não têm praticamente tecido elástico, no entanto, apresentam músculo liso. Este músculo é enervado por fibras noradrenérgicas que funcionam como constritores e, por vezes, por fibras colinérgicas vasodilatadoras.

No sistema vascular, as arteríolas são os principais vasos de resistência ao fluxo de sangue. Pequenas alterações no seu calibre produzem grandes alterações na resistência periférica total^[9].

A rede microvascular que se forma em cada órgão é específica desse órgão, no entanto existem propriedades que são comuns a cada rede microvascular. As artérias e as arteríolas, no seu trajecto no órgão, formam redes designadas por arcadas, plexos ou colaterais, ou bifurcações. As vénulas e as veias, por seu lado, têm um arranjo anatómico semelhante, mas com diâmetros maiores e mais densos no seu padrão de ramificação. Estas redes vasculares são fornecidas por uma artéria de entrada que, por sua vez, está ligada a uma artéria central. As vénulas vão convergir numa veia central.

As arteríolas dividem-se em vasos mais pequenos, com músculo liso, designados por metarteríolas, que, por sua vez, se transformam nos capilares. Por vezes, as metarteríolas podem passar directamente para uma vénula através de um capilar de passagem. Do lado venoso, a ligação entre os capilares e as vénulas realiza-se através das vénulas colectoras.

A rede capilar é aquela que apresenta maior número de vasos sanguíneos. Esta rede consiste numa bifurcação de tubos endoteliais, que se estende desde a arteríola terminal até à vénula colectora.

O capilar é um tubo formado por células endoteliais com apenas 1 célula de espessura. Estas células repousam numa membrana basal sem músculo liso ou tecido elástico (Figura 1.3). Alguns órgãos (por exemplo o cérebro) apresentam capilares com maior espessura, normalmente duas células, o que dificulta a difusão de substâncias através destes capilares, formando assim uma barreira à passagem de substâncias de e para as células.

No capilar, as células que formam o endotélio não estão fortemente ligadas, apresentando zonas de descontinuidade com água, chamadas fenestrações. Fora das células endoteliais existem os pericitos, que são células que libertam agentes vasoactivos e que, dessa forma, regulam o fluxo de substâncias através das células endoteliais, especialmente em situações de inflamação^[7].

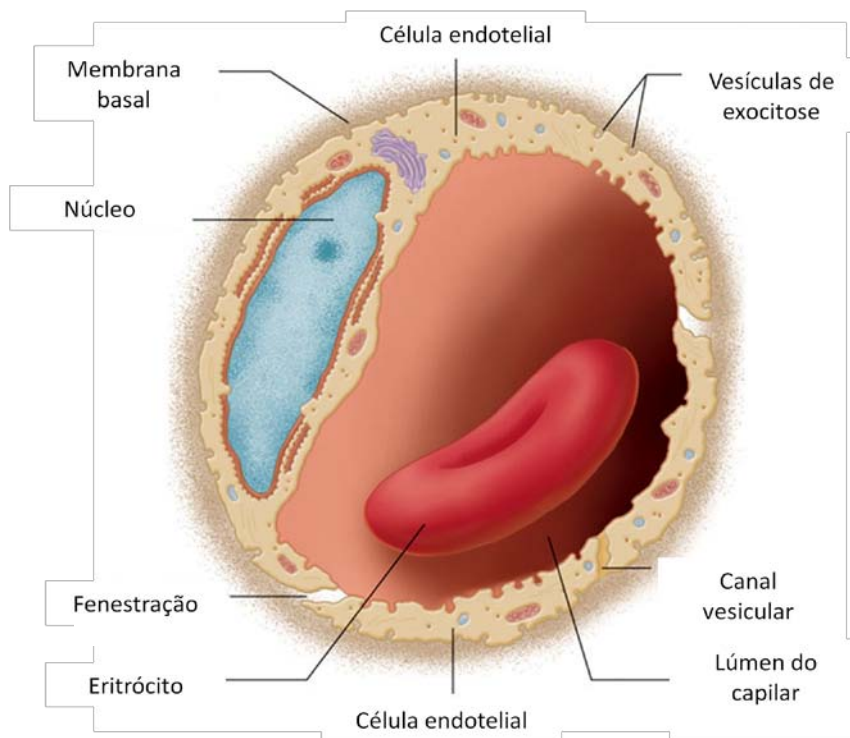


Figura 1.3 - Esquema de uma secção transversal de um capilar, mostrando as células endoteliais e a membrana basal. (Adaptado da referência [8])

O fluxo de sangue que atravessa os capilares depende do funcionamento de toda a unidade microcirculatória, tendo que atravessar as metarteríolas. Estes vasos contêm músculo liso a envolver o seu endotélio. O local de ligação da metarteríola ao capilar é envolvido por um anel de músculo liso designado por esfíncter pré-capilar (Figura 1.4). Este esfíncter contrai e relaxa em resposta a factores metabólicos locais. Quando contraído, este esfíncter impede a entrada de sangue no capilar. Quanto mais activo metabolicamente estiver um determinado tecido, maior o número de esfíncteres pré-capilares que se encontram abertos num determinado momento, significando que mais capilares recebem sangue para nutrir o tecido envolvente^[8].

Num adulto médio, a área total da rede capilar é de 6300m^2 . Apesar da organização histológica do capilar ser comum, a estrutura funcional da parede capilar varia com o órgão considerado. Na maior parte dos órgãos, esta parede permite a passagem de substâncias com um diâmetro de até 10 nm. No entanto, no fígado, a membrana é descontínua, existindo poros com até 600 nm de diâmetro, o que permite a passagem de algumas proteínas, para facilitar a metabolização de substâncias que estejam ligadas a essas proteínas. No rim (excepto no glomérulo) e nas vilosidades intestinais, os poros dos capilares permitem a passagem de substâncias entre 20 e 100 nm, facilitando assim a reabsorção e a absorção de substâncias^[7].

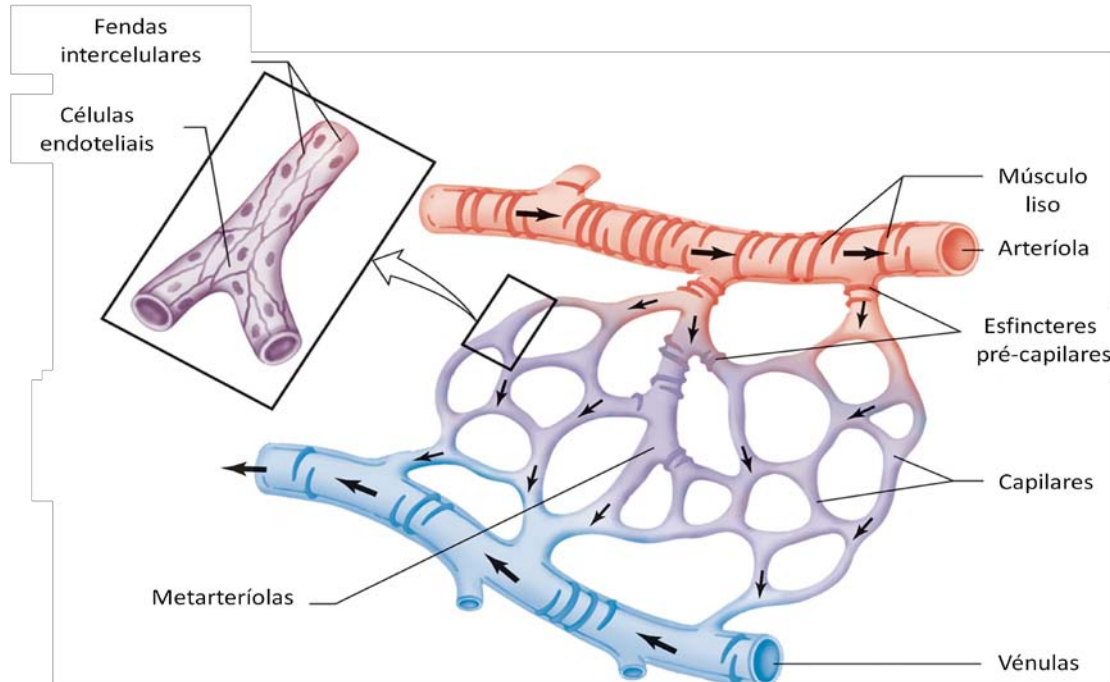


Figura 1.4 - Esquema geral da unidade microcirculatória, mostrando os capilares, os esfíncteres pré-capilares, as arteríolas e as vénulas. (Adaptado da referência [8])

1.2. Fisiologia da microcirculação**1.2.1. Velocidade do fluxo capilar**

Quando um fluxo contínuo se move através de tubos ramificados consecutivamente, a velocidade desse fluxo diminui à medida que a soma dos diâmetros dos tubos aumenta. Apesar de o fluxo ser muito baixo em cada tubo, considerado individualmente, o fluxo total não se altera. Um fluxo lento nos capilares maximiza o tempo necessário para as trocas de substâncias^[8, 9].

Como o diâmetro individual de cada capilar é muito pequeno, este oferece uma grande resistência ao fluxo, não obstante, nas redes capilares, a secção cruzada de todos os capilares mostra-se muito elevada (devido ao grande número de capilares que existem), logo a resistência total de todos os capilares é menor do que a das arteríolas.

A relação que se estabelece entre o fluxo, a pressão e a resistência dos vasos revela-se semelhante à relação que ocorre nos circuitos eléctricos, designando-se por lei de Ohm (Equação 1.1):

$$\text{Lei de Ohm : Fluxo (F)} = \frac{\text{Pressão (P)}}{\text{Resistência (R)}}$$

Equação 1.1

A velocidade média num sistema de vasos sanguíneos é, genericamente, obtida se considerarmos também a área percorrida por um determinado volume de sangue. Assim, a relação que se estabelece entre a velocidade de fluxo (comprimento/tempo) e o fluxo propriamente dito (volume/tempo) é dada pela equação 1.2^[7]:

$$\dot{V} = \frac{Q}{A}$$

Equação 1.2

Em que:

\dot{V} – Velocidade média do fluxo (p.ex cm/s)

Q – Caudal ou fluxo (p.ex cm³/s)

A – Área de condução (p.ex cm)

Outra condicionante da velocidade de fluxo é a viscosidade. A fórmula de Poiseuille-Hagen relaciona o fluxo, a viscosidade e o raio do vaso (Equação 1.3):

$$F = (P_A - P_B) \cdot \left(\frac{\pi}{8}\right) \cdot \left(\frac{1}{\eta}\right) \cdot \left(\frac{r^4}{L}\right)$$

Equação 1.3

Sendo:

F – Fluxo

$P_A - P_B$ – Diferenças de pressões entre duas zonas do vaso

η – Viscosidade

r – Raio do vaso

L – Comprimento do vaso

Aplicando a Lei de Ohm à fórmula de Poiseuille-Hagen, podemos quantificar a resistência exercida no vaso pelo sangue em função da sua viscosidade e do raio do vaso sanguíneo (Equação 1.4).

$$R = \frac{8 \cdot \eta \cdot L}{\pi \cdot r^4}$$

Equação 1.4

Como consequência desta relação, verifica-se que, como o fluxo varia directamente com a 4ª potência do raio e a resistência inversamente, qualquer pequena alteração no raio de um vaso capilar tem um grande impacto no fluxo de sangue, sendo esta uma das formas de regular a pressão arterial.

1.2.2. Fluxo laminar

Num vaso sanguíneo existe uma camada infinitamente fina de sangue em contacto com a parede do vaso onde, teoricamente, não existe movimento. A camada seguinte apresenta uma baixa velocidade, aumentando a velocidade à medida que o sangue se afasta das paredes do vaso. Neste sistema, o centro do vaso revela o fluxo mais elevado (Figura 1.5)^[7, 8].

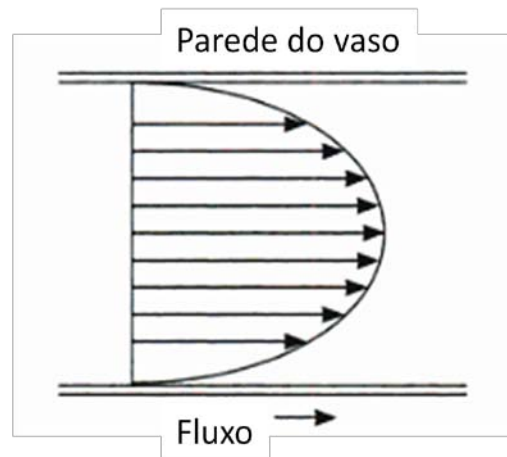


Figura 1.5 - Diagrama das velocidades que ocorrem quando um fluido atravessa um tubo.
(Adaptado da referência [7])

Estabelece-se, assim, um fluxo laminar que ocorre até uma determinada velocidade crítica. Acima ou abaixo desta velocidade crítica ocorre turbulência. O fluxo laminar é silencioso, uma vez que não ocorre atrito, enquanto o fluxo turbulento não o é. Esta é uma das bases dos métodos auscultatórios de medição da pressão arterial^[7, 8].

A probabilidade de ocorrência de turbulência é dada pela razão entre as forças inerciais e a viscosidade do sangue, sendo definida pelo número de Reynolds (Equação 1.5).

$$\text{Número de Reynolds } (Re) = \frac{\rho D \dot{V}}{\eta}$$

Equação 1.5

Sendo que:

ρ - Densidade do fluido

D – Diâmetro do vaso (cm)

V – Velocidade média do fluxo (cm/s)

η – Viscosidade (Poises)

Nestas condições, se o número de Reynolds for até 2000 o fluxo é laminar, se for superior a 3000 o fluxo que se estabelece é turbulento. A constrição arterial aumenta a velocidade do fluxo, logo o número de Reynolds vai aumentar e, desta forma, o fluxo que se estabelece é turbulento, podendo induzir alterações no endotélio do vaso, facilitando a deposição de substâncias^[7, 8].

1.2.3. Relações Tensão e Pressão Transmural^[7]

Os vasos de calibre mais pequeno são mais propícios a rupturas do que os vasos maiores, mais elásticos e musculados. Existe, contudo, um efeito protector dependente do facto de estes vasos possuírem diâmetros reduzidos. Este efeito protector é ilustrado pela Lei de Laplace, aplicada ao sistema vascular (Equação 1.6):

$$T = \frac{P \cdot r}{\omega}$$

Equação 1.6

Sendo que:

T – Tensão superficial de um cilindro

P – Pressão transmural

R – Raio do cilindro

ω - Espessura da parede

A Pressão transmural representa a diferença de pressões que se estabelecem dentro e fora do cilindro considerado. A pressão no tecido é muito baixa, podendo ser negligenciada, tal como a espessura da parede do vaso, pelo que a equação 1.6 assume a seguinte forma (Equação 1.7):

$$P = T \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right)$$

Equação 1.7

Sendo

r_1 e r_2 – Representam os dois principais raios de curvatura.

Considerando uma esfera como $r_1=r_2$ (Figura 1.6):

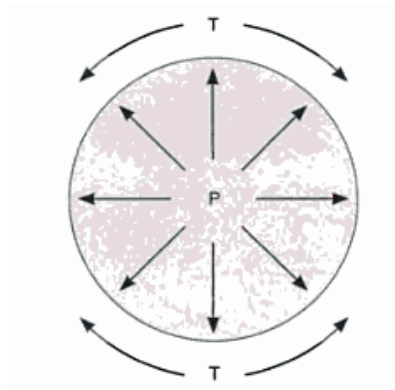


Figura 1.6 - Relação entre a pressão de distensão e a tensão da parede.
(Adaptado da referência [7])

a equação anterior fica (Equação 1.8):

$$P = \frac{2T}{r}$$

Equação 1.8

Para um vaso sanguíneo, um dos raios é infinitamente longo, logo tende para zero e a equação 1.8 toma a forma (Equação 1.9):

$$P = \frac{T}{r}$$

Equação 1.9

Esta relação indica-nos que, quanto menor for o raio de um vaso, menor será a tensão necessária na parede do vaso necessária para contrariar a pressão de distensão.

1.2.4. Difusão através de membranas^[8]

O movimento lento do sangue nos capilares maximiza o tempo que as substâncias conservam para realizar as trocas. Os mecanismos que existem para a ocorrência dessas trocas de substâncias entre o interstício e o plasma são, normalmente, a difusão e o transporte através de vesículas, como, por exemplo, a endocitose e a exocitose.

A difusão é favorecida pela existência de substâncias lipídicas. Os iões e as moléculas polares são pouco solúveis, pelo que passam através de canais com água que existem no endotélio. Estes canais permitem a circulação de pequenas quantidades de proteínas, não obstante as proteínas poderem atravessar o endotélio através de vesículas. A difusão transcápilar do Oxigénio ocorre como resultado da utilização celular desta substância pelo tecido, estando favorecida a passagem do sangue para o interstício.

O fluxo total ocorre ao mesmo tempo que os mecanismos anteriores, e tem como objectivo a distribuição do fluído extracelular. A presença de poros nos capilares proporciona à parede do vaso uma estrutura semelhante a um filtro. Os movimentos dos fluídos neste filtro ocorrem de acordo com as forças de Starling (Equação 1.10):

$$\text{Pressão de filtração} = (P_c - P_i) + (\pi_i - \pi_c)$$

Equação 1.10

Sendo

P_c – Pressão hidrostática capilar

P_i – Pressão hidrostática intersticial

π_i – Pressão oncótica intersticial

π_c – Pressão oncótica capilar

Nestas condições, as relações que se estabelecem entre as várias forças encontram-se definidas na figura 1.7^[12]

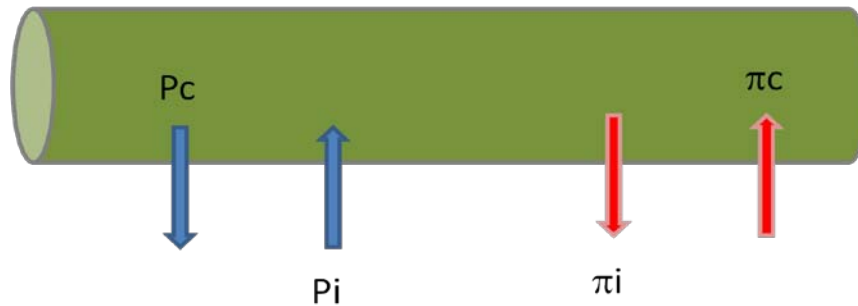


Figura 1.7 - Forças de Starling aplicadas ao vaso sanguíneo

1.3. Aspectos especiais – a Microcirculação cutânea

A microcirculação cutânea apresenta uma organização anatômica e funcional distinta das restantes unidades microcirculatórias. Esta constatação deveu-se ao reconhecimento de que o fluxo de sangue na pele seria muito superior ao necessário para a simples nutrição deste órgão, sugerindo que o fluxo excedente deveria ter outras funções, nomeadamente no controlo da temperatura corporal (homeotermia)^[13].

As arteríolas e vénulas da microcirculação cutânea formam 2 plexos na derme, que se organizam em profundidades diferentes^[13, 14]:

- uma rede horizontal superior, existente na derme papilar, a partir da qual se lançam os capilares com as suas ansas e que formam o sistema nutritivo da pele. Os vasos deste plexo apresentam diâmetros entre 17 e 22 μm .

- um plexo horizontal inferior, situado na transição entre a derme e o tecido subcutâneo, formado por vasos perfurantes provenientes do tecido muscular e do tecido adiposo subcutâneo, que dão origem às arteríolas e vénulas que se ligam ao plexo superior, mas que também fornecem vasos que irrigam as glândulas e os folículos do cabelo. Os vasos deste plexo apresentam diâmetros entre 40 e 50 μm .

Na derme papilar as arteríolas são terminais, sendo que outra das suas funções é servirem de vasos de resistência da pele. Nestes vasos, o endotélio encontra-se envolvido por 2 camadas de células de músculo liso. As células da camada interna encontram-se orientadas longitudinalmente, enquanto as células da camada externa se orientam em espiral. A parede vascular é composta pela membrana basal, que envolve as fibras elásticas, e o músculo liso. O músculo liso interno e as células endoteliais enviam prolongamentos citoplasmáticos para

realizarem junções coesas através das quebras da membrana basal. À medida que o diâmetro dos vasos diminui, as fibras elásticas tornam-se mais periféricas, desaparecendo totalmente quando o diâmetro é inferior a 15 μm . Este valor corresponde à transição para o capilar. Ainda neste sistema existem anastomoses artério-venosas entre as arteríolas e as vénulas horizontais. Estas anastomoses apenas se encontram em certos locais anatómicos, como nas pontas e palmas dos dedos das mãos e dos pés, na face, nas orelhas, no nariz e nos lábios. Estas anastomoses permitem a passagem directa do sangue pela zona mais profunda do plexo, sem que este passe pelos capilares dérmicos, sendo, por isso, uma importante forma de controlo da temperatura^[13, 14].

Os capilares da derme são formados por uma única camada de células com braços circunferenciais que envolvem e completam uma circunferência, conferindo estrutura ao vaso. Estes braços sobrepõem-se ligeiramente em determinadas zonas, funcionando como esfíncteres pré-capilares. Os capilares cutâneos apresentam um diâmetro externo entre 10 e 12 μm e um diâmetro interno entre 4 e 6 μm . A membrana basal é semelhante aos restantes vasos, existem também pericitos que formam junções coesas com as células endoteliais através das quebras da membrana basal^[13, 14].

As vénulas pós-capilares têm um diâmetro exterior entre 12 e 35 μm e o tubo endotelial passa de 8 para 26 μm . Os pericitos formam 2 ou 3 camadas à volta da parede vascular. A membrana basal é multilaminar, com uma espessura entre 3.5 e 5 μm .

A ansa do capilar nasce de uma arteríola terminal no plexo horizontal superior, tem uma porção ascendente, uma porção intrapapilar e uma porção descendente, que se liga a uma vénula pós-capilar. Neste arranjo anatómico, cada papila dérmica é nutrida por uma única ansa. A porção ascendente pode ainda ramificar-se 1, 2 ou 3 vezes antes de entrar na papila dérmica, dando origem a uma rede. Não existem diferenças estruturais entre as ansas das várias zonas anatómicas da pele, no entanto a densidade de ansas pode variar. Vários estudos envolvendo técnicas de fluxometria por Laser Doppler (LDF) demonstram que as arteríolas ascendentes são espaçadas aleatoriamente 1.5-7 mm, o que explica a variabilidade espacial do sinal do fluxo^[13, 14] (Figura 1.8).

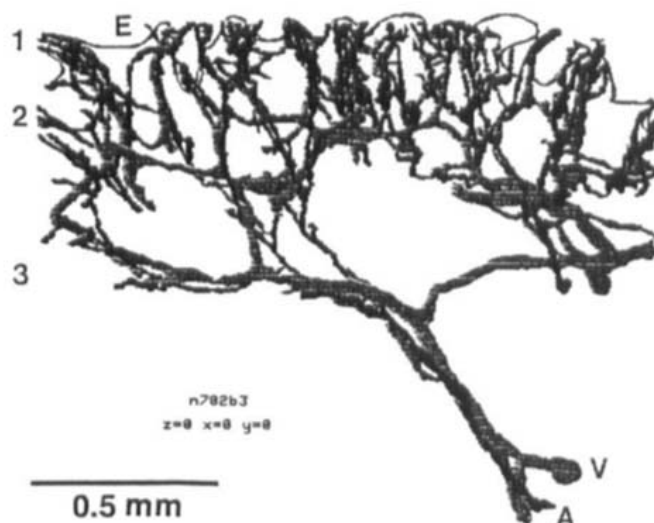


Figura 1.8 - Reconstrução computadorizada dos vasos presentes na derme papilar, mostrando a rede capilar e o plexo horizontal inferior. (Adaptado da referência [14])

1.4. Fisiopatologia

A disfunção microvascular é uma alteração de carácter sistémico, que pode afectar vários leitos vasculares em simultâneo. Devido à sua localização distal, uma das áreas primeiramente afectadas é a microcirculação cutânea dos membros (inferiores e superiores). Nestas situações, ocorre a diminuição do fluxo sanguíneo dos capilares nutricionais que, desta forma, não vão permitir a nutrição do território afectado, com a consequente diminuição do aporte de nutrientes necessário para suprir as necessidades metabólicas dos tecidos circundantes. Os capilares vão contribuir para a resistência vascular, ficando associados a alterações relacionadas com a Doença Vascular Periférica. Por outro lado, a disfunção endotelial parece ser um indicador precoce da doença vascular, levando à vasoconstrição, ao aumento da adesão leucocitária, à activação plaquetária e ao desenvolvimento de aterosclerose, especialmente no membro inferior^[15, 16].

A DVP, o síndrome metabólico, a diabetes mellitus, a hipertensão e a obesidade são condições frequentes com alterações microvasculares no membro inferior^[17].

1.4.1. Anatomia do membro inferior^[18, 19]

Em termos arteriais, a irrigação do membro inferior realiza-se através de ramificações da aorta abdominal. Ao nível da 5ª vértebra lombar, a aorta abdominal ramifica-se em duas artérias ilíacas primitivas (direita e esquerda), que, por sua vez, se dividem em duas outras artérias, a ilíaca externa, que se dirige para os membros inferiores e a ilíaca interna que irriga a região pélvica (Figura 1.9).

A artéria ilíaca externa, ao chegar à coxa, transforma-se na artéria femoral. A artéria femoral vai desenvolver 6 ramificações laterais. A artéria subcutânea abdominal, que irriga a parede abdominal, as artérias pudendas externas superiores e inferiores, que irrigam a zona genital, as artérias dos quadricéps, que irrigam os quadricéps, as artérias anastomóticas magnas, que irrigam a parede interna do joelho e a artéria femoral profunda. Esta artéria nasce 5 centímetros abaixo do arco de Falópio e percorre os músculos adutores maiores. Divide-se em 3 ramos laterais, a artéria circunflexa interna, que irriga o colo do fémur, pelos músculos imediatos, pela articulação e pelo osso, a artéria circunflexa externa, que vai anastomosar-se com a artéria circunflexa interna e as artérias perfurantes, que atravessam as inserções do adutor maior e formam anastomoses com a artéria circunflexa interna.

Ao chegar à região popliteia (na área do tendão posterior do joelho), a artéria femoral transforma-se na artéria popliteia. Esta artéria repousa sobre o ligamento posterior da articulação do joelho e sobre o músculo poplíteo. Esta artéria, no seu trajecto, emite 6 ramos colaterais: as artérias gémeas, que irrigam os músculos gémeos, as artérias articulares superiores internas e externas, que irrigam a zona anterointerior e exterior do joelho e os bíceps, a artéria articular média, que irriga o joelho, os ligamentos cruzados, a membrana sinovial e o fémur, e as artérias articulares inferiores interna e externa, que irrigam o joelho.

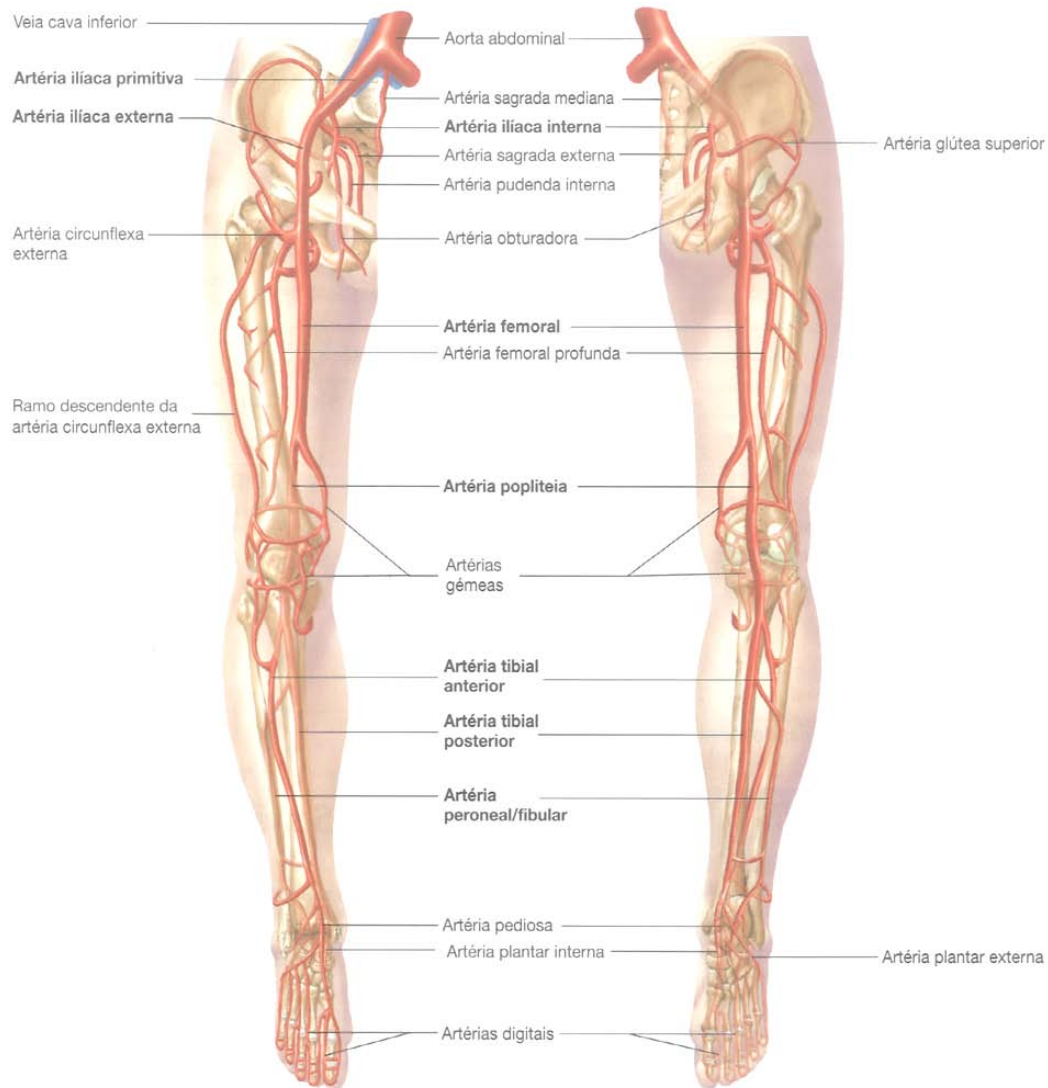


Figura 1.9 - Irrigação arterial do membro inferior. (Adaptado da referência [19])

A artéria poplítea divide-se, posteriormente, em dois ramos, a artéria tibial anterior e posterior.

A artéria tibial anterior irriga a face anterior da perna, chegando ao ligamento anelar anterior do tarso, dando origem à artéria pediosa. Esta emite 4 ramos colaterais: a artéria recorrente tibial anterior, que nasce na parte superior da artéria, se dirige para cima e vai anastomosar-se com as artérias articulares, os ramos musculares, que irrigam os músculos imediatos, a artéria maleolar interna, que se dirige para o interior e emite ramos para a articulação e para os tegumentos da parte interna, e a artéria maleolar externa, que se dirige para fora, em direção

ao maleolo externo e que emite ramificações para a articulação, para o calcanhar e para os tegumentos da face externa do pé.

A artéria tibial anterior termina na artéria pediosa, que irriga o primeiro espaço interósseo, anastomosando-se na região plantar com a terminação da artéria plantar externa. Esta artéria emite 3 ramificações: artéria dorsal do tarso, que se dirige para a zona externa do pé, que se distribui pelo músculo e tendões imediatos e vai anastomosar-se com a artéria meleolar externa, a artéria dorsal do metatarso, que nasce ao nível do primeiro espaço interósseo dirigindo-se para fora, formando um arco de concavidade superior. Da zona de concavidade nascem ramos que formam anastomoses com a artéria dorsal do tarso e da sua convexidade nascem as artérias digitais que seguem o 2º, 3º e 4º espaço interósseo. No extremo do espaço interósseo, estas artérias formam as artérias colaterais dos dedos e comunicam com a artéria interóssea plantar através de duas artérias perfurantes situadas nas extremidades posterior e anterior do espaço. Finalmente, o terceiro ramo colateral da artéria pediosa é a artéria interóssea do primeiro espaço, que se distribui pela zona do 1º espaço interósseo da mesma forma que as anteriores.

Da artéria popliteia nasce um segundo ramo que dá origem ao tronco tíbio-peroneal. Este tronco arterial é acompanhado pelas veias correspondentes e pelo nervo tibial posterior e, após 4-5 centímetros, divide-se em duas artérias principais: a artéria peroneal e a artéria tibial posterior.

A artéria peroneal desce pela zona posterior da perna até às extremidades inferiores do ligamento interósseo, emitindo ramificações para os músculos correspondentes e terminando em dois ramos: a artéria peroneal anterior que perfura o ligamento interósseo, chega à face anterior da perna e forma anastomoses com a artéria dorsal do tarso e com a maleolar externa, e a artéria posterior que segue o ramo principal e se ramifica na parte externa do tornozelo.

O outro ramo do tronco tíbio-peroneal é a artéria tibial posterior, mais volumosa e que segue a face posterior da perna até ao calcanhar. No seu trajecto emite ramificações para os músculos e ossos correspondentes, e envia ramos anastomóticos que se ligam a um ramo da artéria peroneal ao nível do maleolo interno. Ao chegar ao calcanhar ramifica-se em duas artérias plantares (interna e externa).

A artéria plantar interna segue pela planta do pé, entre os músculos da região interna e média, até à cabeça do primeiro metatarso, originando a artéria colateral interna do dedo grande. No

seu trajecto emite ramificações para o abductor oblíquo do dedo grande e para o osso, para o abductor do dedo grande e tegumentos, para o flexor curto plantar e para o flexor curto do dedo grande.

A artéria plantar externa é muito mais volumosa e segue uma direcção oblíqua até à extremidade posterior do 5º metatarso. Localiza-se entre o flexor plantar e o quadrado de Sílvia, dirigindo-se transversalmente para a extremidade posterior do 1º metatarso, anastomosando-se com a artéria pediosa. Na sua zona oblíqua emite ramos para o flexor curto plantar e para o abductor do dedo pequeno, para os ossos do tarso, para os tendões e para o flexor plantar. Na sua porção transversal forma o arco plantar.

Da concavidade do arco plantar nascem ramos para os ossos do tarso. Da convexidade do arco nasce a artéria colateral externa do dedo pequeno e 4 artérias interósseas plantares que passam pelos espaços interósseos, dando origem às artérias colaterais dos dedos do pé. Estas artérias vão anastomosar-se com as artérias interósseas dorsais, através das artérias perfurantes anteriores. Da face superior do arco plantar nascem as artérias perfurantes posteriores que originam as artérias interósseas dorsais.

As artérias mais pequenas sofrem modificações importantes, quando existem alterações metabólicas ou circulatórias, levando ao desenvolvimento de patologias com tradução vascular periférica^[17].

1.4.2. Principais alterações clínicas

1.4.2.1. Síndrome metabólico^[20-23]

O termo “Síndrome metabólico” refere-se a um conjunto de factores de risco para doença cardiovascular e metabólica, com uma ocorrência cada vez mais prevalente e que se estima afectar cerca de 25% da população geral. Este risco de patologia ocorre sempre que existam 3 dos factores definidos na síndrome. Os componentes principais desta síndrome são a obesidade abdominal, a existência de dislipidémia, a hipertensão, a resistência à insulina ou alteração do metabolismo da glucose e o aumento dos factores da coagulação.

Actualmente, a resistência à insulina é considerada o principal denominador comum nas várias manifestações clínicas da síndrome metabólica. Subsiste uma relação importante entre a resistência à insulina e a alteração da tolerância à glucose e a presença de diabetes não insulino-dependente, ou doença cardiovascular. A síndrome metabólica é, frequentemente,

considerada como um sintoma pré-diabético. O risco de desenvolver diabetes em doentes que apresentem 3 das alterações da síndrome metabólica é de cerca de 3 vezes mais comparativamente à população saudável. No caso de existirem 4 dos 5 factores da síndrome metabólica, o risco aumenta 24 vezes.

Também a obesidade parece ser um componente importante na síndrome metabólica, sendo que o tecido adiposo visceral parece desempenhar um papel essencial ao induzir um estado precoce e latente de inflamação, caracterizada por um aumento do factor de necrose tumoral (TNF α), de interleucina 1 e 6 (IL1, IL6) e de inibidor da activação do plasminogéneo (PAI-1), associado a um aumento da proteína C reactiva (CRP) e de stresse oxidativo. Em conjunto, estes factores alteram os vasos de diferentes calibres, provocando a activação de moléculas adesivas, resultando assim na degradação do endotélio dos vasos e na adesão leucocitária. O resultado final é uma obstrução dos vasos lesados, com a consequente disfunção nutricional do tecido envolvente.

Na génese do síndrome metabólico parece encontrar-se um aumento do aporte nutricional associado a sedentarismo (Figura 1.10):

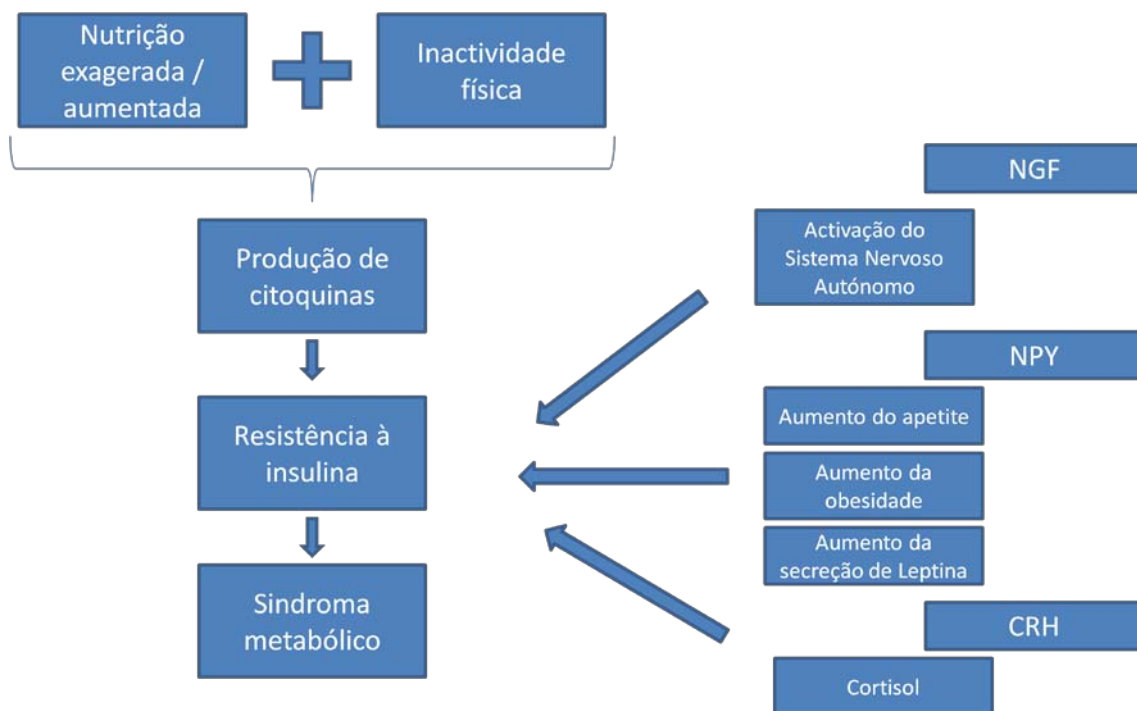


Figura 1.10 - Resumo esquemático das alterações conducentes à Síndrome metabólica. NGF: Factor de Crescimento do Nervo; NPY: Neuropéptido Y; CRH: Hormona Libertadora das Corticotrofinas.

A hipótese usualmente aceite, designada por neurotrófica, explica que a resistência à insulina pode ser desencadeada devido à acção de 3 factores essenciais: a secreção de factor de crescimento do nervo (NGF), a secreção de neuropéptido Y (NPY) e a secreção de Hormona libertadora das Corticotrofinas (CRH).

A existência de síndrome metabólica induz alterações na microcirculação que são comuns a diversas patologias. Uma das alterações microcirculatórias comuns é a existência de disfunção endotelial. Esta situação surge precocemente, por vezes antes mesmo da resistência à glicose. Em indivíduos obesos, a indução de vasodilatação no antebraço, um teste para as alterações endoteliais, encontra-se reduzida, podendo ser correlacionada com a percentagem de tecido gordo e com a secreção de insulina^[21].

Quando a síndrome metabólica é acompanhado por alterações estruturais ou funcionais, verifica-se alteração do fluxo de sangue em repouso. O fluxo microcirculatório cutâneo está aumentado em indivíduos com obesidade, embora a velocidade dos eritrócitos capilar esteja diminuída.

A presença de obesidade e de resistência à insulina conduz a uma diminuição da resposta à dilatação provocada por calor, à oclusão, à insulina e ao exercício.

1.4.2.2. Doença Vascular Periférica^[4-6, 17]

A doença vascular periférica (DVP) ou doença arterial periférica (DAP) é uma patologia que afecta 12 a 14% da população, apresentando uma maior prevalência em indivíduos mais velhos. As alterações ateroscleróticas parecem ser um factor desencadeante, provocando alterações da perfusão e circulação nos vasos afectados. O grau e a extensão da estenose, a velocidade do fluxo e a viscosidade do sangue vão influenciar o grau de obstrução, levando ao aumento da resistência no sistema vascular. À medida que a resistência aumenta com o exercício ou com a marcha, o fluxo não se consegue sobrepor a estas forças. Nestas condições, os doentes vão sofrer uma redução de fluxo à periferia que induz claudicação. Esta patologia co-existe, normalmente, com outras patologias vasculares, nomeadamente a Doença Coronária Arterial e a Doença Cerebrovascular.

Uma das formas mais práticas de avaliação clínica consiste na determinação do quociente tornozelo/braço (ABI), em que se divide a pressão sistólica avaliada ao nível do tornozelo pela pressão sistólica mais elevada obtida ao nível do braço. Um quociente inferior a 1 é indicativo de patologia vascular periférica^[24].

A DVP é potencialmente obstrutiva, sendo comum a outras patologias, nomeadamente diabetes, dislipidémias, alterações metabólicas (especialmente síndrome metabólica), fumadores e alterações da coagulação. É importante referir que estes doentes apresentam um estado inflamatório semelhante ao observado em doentes com angina instável. Os doentes com diabetes apresentam um risco 3 vezes superior de desenvolver DVP em relação aos indivíduos normais^[17].

A DVP tem sido classificada de diversas formas. As escalas mais importantes são a escala de Fontaine e a escala de Rutherford. De acordo com este último autor, a DVP pode ser classificada segundo uma escala de VI estadios de gravidade crescente^[25]:

- I – Situação assintomática ou com sintomas apenas após actividade física muito intensa;
- II – Situação com sintomas após uma actividade física moderada;
- III – Situação com sintomas após uma actividade física reduzida;
- IV – Situação com sintomas em repouso;
- V – Situação com ulceração;
- VI – Situação com ulceração e necrose.

Do ponto de vista da sua expressão clínica, o American College of Cardiology e a American Heart Association classificam a DVP como^[25]:

DVP assintomática

A presença de alterações vasculares não é acompanhada por sintomas perceptíveis pelo doente. Em termos clínicos, esta situação caracteriza-se pela existência de um quociente ABI inferior a 0.9.

Claudicação intermitente

Esta alteração caracteriza-se por desconforto dos músculos do pé, com fadiga que regulariza após alguns minutos em repouso.

Os indivíduos com claudicação intermitente encontram-se sobretudo nas fases I-III da patologia.

Isquémia crítica do membro

Situação clínica com dor nas extremidades em repouso ou ulceração, com ou sem necrose. Esta patologia corresponde às fases IV-VI da escala de Rutherford.

Estes doentes apresentam normalmente uma patologia associada, como a diabetes mellitus (em 70.4% dos casos), ou a insuficiência renal crónica (em 27.8% dos casos).

Isquémia aguda do membro

Esta patologia está associada a dor em repouso e a ausência de pulso e dor no pé. O vaso fica ocluído devido à ruptura de uma placa, seguida de trombose ou migração do coágulo para uma localização proximal.

Nos estadios mais avançados da patologia, verifica-se também uma alteração da microcirculação cutânea. Vários estudos confirmam que os doentes com claudicação intermitente, que se encontram na fase II, manifestam valores basais de fluxo cutâneo de sangue normais, mas apresentam uma hiperémia pós isquémia retardada, verificando-se uma correlação positiva entre o tempo para o pico máximo da hiperémia e a ocorrência e gravidade da DVP. Estes resultados sugerem que os mecanismos compensatórios, que mantêm a perfusão normal em repouso, são ultrapassados.

Em doentes com isquémia crítica do membro, uma evolução da doença vascular, subsiste uma redução da perfusão cutânea da face inferior dos dedos do membro inferior. Estes resultados indicam que os mecanismos compensatórios se esgotam mais cedo do que nos doentes com claudicação intermitente, parecendo existir uma remodelação capilar com redução da densidade capilar, que contribui para as alterações microcirculatórias. Parece, também, existir um comprometimento da função das anastomoses artério-venosas em responder a modificações da pressão ortostática, levando a uma ausência do reflexo venoarteriolar e a um aumento do fluxo através dessas anastomoses. Estes doentes apresentam, ainda, um aumento do fluxo de sangue durante a colocação do membro inferior numa posição dependente. Este resultado indica que a resposta vasoconstritora dependente da postura, que limita o aumento da pressão capilar, fica comprometida nestes indivíduos. O aumento do fluxo favorece a hipertensão capilar e o aumento da pressão de filtração. A consequência deste aumento da pressão é a manifestação de edema que comprime os capilares nutritivos, aumentando a distância de difusão do Oxigénio, levando finalmente ao comprometimento do tecido. Após

oclusão, o fluxo capilar nestes doentes fica, também, comprometido, devido a alterações do endotélio, nomeadamente alterações da vasomotricidade^[17].

A DVP, qualquer que seja a sua tradução clínica, conduz a um comprometimento da microcirculação e a um aumento do fluxo de sangue, conquanto com uma distribuição do sangue pelo território afectado^[17].

1.4.2.3. Diabetes^[26-33]

A diabetes é uma patologia que abrange um conjunto de disfunções metabólicas comuns, que têm como principal sinal a hiperglicémia. Os factores que contribuem para a existência de hiperglicémia podem incluir a redução da secreção de insulina, a diminuição da utilização da glucose ou o aumento da produção de glucose. A alteração metabólica provoca modificações secundárias em vários sistemas, sendo a principal causa de insuficiência renal crónica, de amputações não traumáticas dos membros inferiores e de cegueira no adulto. Esta patologia geral pode ser classificada em dois tipos, de acordo com critérios etiológicos:

- Diabetes Tipo 1

- Diabetes Tipo 2

Na Diabetes Tipo 1, a patologia resulta geralmente da destruição auto-imune das células β do pâncreas, o que conduz à deficiência da produção de insulina. Na Diabetes Tipo 2, os doentes apresentam graus diferentes de resistência e secreção inadequada de insulina, ao mesmo tempo que apresentam alterações na capacidade de produção de glucose. Este subgrupo da patologia evolui, normalmente, a partir de um estágio inicial em que a homeostase da glucose se encontra alterada.

Desde a introdução da insulina no tratamento da Diabetes, as complicações mais frequentes desta patologia passaram de alterações agudas relacionadas com os distúrbios metabólicos, a complicações crónicas como a retinopatia, a nefropatia e a neuropatia diabéticas.

Os doentes com Diabetes Tipo 1, não obstante apresentarem, frequentemente, um bom controlo metabólico, desenvolvem alterações microvasculares que não são prevenidas. Este facto sugere que existem outros factores, para além da alteração da insulina, a desencadear os efeitos da Diabetes.

Em termos microvasculares, a Diabetes tipo 1 caracteriza-se por um aumento do fluxo sanguíneo microvascular, um aumento do *shear stress* e um aumento da pressão intracapilar no endotélio vascular. Como consequência, ocorre esclerose microvascular, que se manifesta devido ao espessamento da membrana basal, bem como hialinose arteriolar, que reduz a capacidade de vasodilatação em situações de aumento das necessidades fisiológicas. Existem também alterações hemorreológicas, que contribuem para as alterações microvasculares, actuando sinergicamente com estas. As principais são o aumento das interações leucócito-endotélio, o aumento da viscosidade do sangue e as modificações nas propriedades reológicas dos glóbulos vermelhos. Estas alterações hemorreológicas parecem preceder as modificações estruturais vasculares, que ocorrem posteriormente.

Verifica-se, também, um aumento não consistente do fluxo de sangue capilar, com isquémia capilar, comprometendo a disponibilidade nutricional, sobretudo em situações de stresse. A existência de neuropatia conduz à alteração da regulação vasoconstritora, com abertura das anastomoses artério-venosas, o que induz a redução da passagem de sangue pelos capilares cutâneos. No entanto, estes resultados não são conclusivos. A alteração do reflexo veno-arterial provoca hipertensão, especialmente quando o membro é colocado numa posição de dependência, aumento da pressão venosa, desencadeando diminuição do fluxo capilar, aumento da filtração para o tecido e, conseqüentemente, edema.

1.4.2.4. Hipertensão^[26, 34-37]

A Hipertensão encontra-se associada a um aumento da resistência vascular periférica. Muitas vezes, o doente apresenta débitos cardíacos normais ou pouco alterados. Em situações normais, a redução da pressão hidrostática ocorre nos vasos com diâmetros entre 10 e 300 μm , ou seja nos vasos arteriulares, sendo este o principal local de manifestação do aumento da resistência.

Ao contribuir para a resistência periférica total, a microcirculação cutânea encontra-se envolvida intimamente nos mecanismos relacionados com o desenvolvimento desta patologia.

Nesta patologia, as alterações microcirculatórias manifestam-se em diversos níveis. O mecanismo regulador do tónus vasomotor parece ficar comprometido, levando a uma vasoconstrição ou a uma redução da vasodilatação. Em doentes com hipertensão, o fluxo de sangue em decúbito, bem como na posição vertical, é significativamente reduzido. O reflexo venoarterial é também reduzido, sugerindo a existência de vasoespasmo. O diâmetro arteriolar reduz-se, e aumenta a razão entre a parede e o lúmen das pequenas artérias.

Finalmente, parece existir uma redução da densidade das arteríolas, das vénulas e dos capilares. Como, pela Lei de Poiseuille-Hagen, a resistência é inversamente proporcional à quarta potência do diâmetro do vaso, qualquer redução no diâmetro tem implicações elevadas na resistência periférica total.

As alterações do diâmetro e a rarefacção capilar parecem ter como denominador inicial a disfunção endotelial e as alterações da pressão intramural. Também vários estudos têm demonstrado que a Angiotensina II estimula a remodelação vascular, ao induzir a síntese de factores de crescimento e de mediadores pré-inflamatórios, que levam à lesão e remodelação estrutural.

Por fim, alguns estudos têm demonstrado que o número de capilares cutâneos se encontra reduzido em doentes com hipertensão primária inicial, levando a que estas alterações microestruturais sejam uma das primeiras manifestações da patologia^[37].

1.4.2.5. Obesidade^[17, 20, 22, 38]

A obesidade produz alterações na microcirculação a diversos níveis. Inicialmente, altera a função endotelial por redução na resposta vasodilatadora dependente do endotélio. Os indivíduos obesos também apresentam uma função vasodilatadora diminuída nos vasos de resistência, bem como uma diminuição do recrutamento capilar como resposta à hiperémia reactiva. Outra das alterações induzidas pela obesidade é a rarefacção dos capilares da musculatura esquelética e da pele. Estas alterações microcirculatórias parecem dever-se a duas vias distintas:

- Alteração da sinalização intracelular.

Em situações normais a acção metabólica da insulina é desenvolvida através da sua acção nos receptores de insulina, que vão estimular a formação de Substrato do receptor de insulina (IRS-1) que, por sua vez, activa a PI3-quinase (PI3-K) levando à produção da quinase 1 dependente da Fosfoinositidina (PDK-1) e à activação de Proteína quinase 1 (Akt). A activação desta via aumenta a síntese de NOsintetase endotelial (eNOs), levando à formação de NO intracelular que desencadeia a vasodilatação.

Ao mesmo tempo, existe, também por acção da insulina, outra via distinta, que conduz à activação da MAP quinase (MAPK) e que induz a produção do péptido vasoconstritor endotelina 1 (ET-1), desencadeando vasoconstrição.

Normalmente, estes dois efeitos encontram-se em simultâneo e em estreito equilíbrio. A acção final é neutra ou existe uma ligeira preponderância do sistema vasodilatador.

Na obesidade existe um aumento da produção de Espécies Reactivas de Oxigénio (ROS), que vão limitar a biodisponibilidade do NO ao reduzirem a sua produção directa através do ião superóxido. Por outro lado, a obesidade produz também uma diminuição da expressão de NOsintetase endotelial (eNOs) no músculo e no rim, o que potencia a diminuição da produção de NO. Finalmente, o aumento dos ácidos gordos livres (AGL) induz a fosforilação do IRS-1, com a consequente diminuição da activação da PI3-quinase.

Em conjunto, estes efeitos vão levar à diminuição do sistema vasodilatador dependente da sinalização da insulina. O sistema vasoconstritor mantém-se intacto, desencadeando-se uma alteração do equilíbrio entre estas duas vias, o que resulta num aumento da vasoconstrição (Figura 1.11).

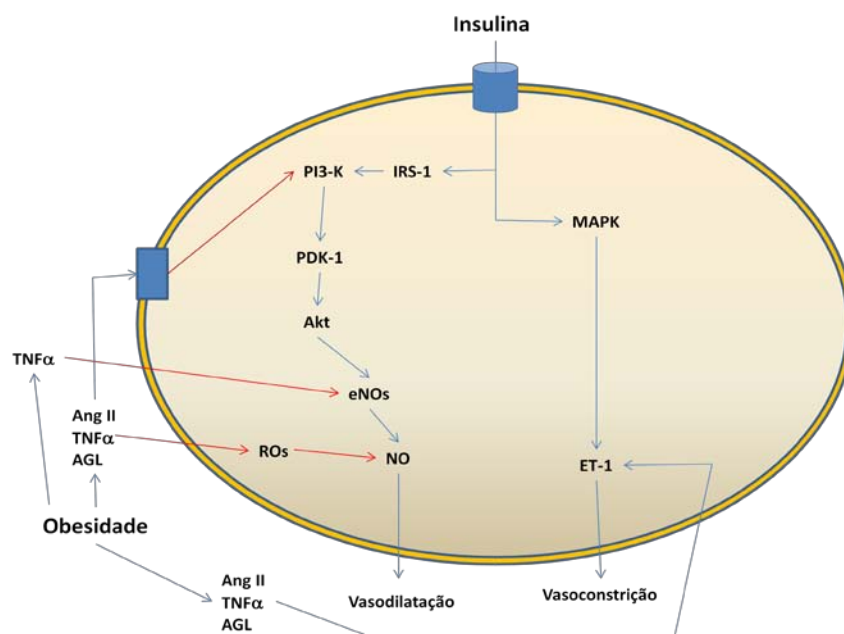


Figura 1.11 - Representação esquemática das alterações que ocorrem na célula endotelial devido à obesidade. (Adaptado da referência [22])

- Alteração da sinalização endócrina

O tecido adiposo é um tecido com actividade endócrina muito marcada. Na obesidade existe um aumento da secreção de ácidos gordos livres (AGL), angiotensinogéneo, Leptina, resistina e de factores inflamatórios como o TNF α e a IL6.

O TNF α diminui a expressão de eNOs e aumenta a expressão de ET-1, provocando, em conjunto, um aumento da vasoconstrição. A Leptina parece desencadear o aumento da ROS que diminui a formação de NO. Finalmente, também o sistema Renina-Angiotensina (Ang II) parece estar potenciado, o que em conjunto com as situações anteriores, vai induzir uma vasoconstrição marcada com a consequente alteração microcirculatória (Figura 1.11).

1.4.3. Técnicas de diagnóstico mais utilizadas^[39]

A microcirculação cutânea reflecte alterações sistémicas com tradução vascular. Também algumas patologias cutâneas podem apresentar uma alteração na microcirculação cutânea, sobretudo aquelas que apresentam uma etiologia inflamatória, como a psoríase ou a rosácea.

Sendo a pele um órgão extenso, e cuja avaliação do fluxo microcirculatório se correlaciona bem com as patologias sistémicas, tem-se tentado desenvolver metodologias que permitam a sua medição de forma prática, rápida e não invasiva. Algumas destas técnicas permitem obter uma informação directa da função microvascular (por exemplo a capilaroscopia ou a microscopia de fluorescência), enquanto outras permitem medir directamente o fluxo de sangue (como a Fluxometria por Laser Doppler).

As técnicas mais correntes são:

Capilaroscopia^[17, 39]

Nesta técnica, os capilares são visualizados directamente através de um microscópio óptico, ou no caso de se querer visualizar o fluxo de sangue, através de um videomicroscópio. Esta técnica é utilizada quando a patologia se traduz numa alteração estrutural dos capilares da prega ungueal.

Microscopia de fluorescência^[39]

Esta técnica consiste na administração intravenosa de um marcador de fluoresceína que se fixa aos capilares da pele. A fluorescência pode ser detectada através de fotografia ou videomicroscopia, permitindo a avaliação de alterações na dinâmica da difusão do marcador. Por vezes, esta técnica pode ser mais sensível utilizando uma técnica de densitometria.

Pletismografia^[39]

A pletismografia permite o registo das modificações pulsáteis da dinâmica da microvasculatura, sincronizadas com a frequência cardíaca. Esta técnica utiliza um transdutor que emite uma luz Infravermelha sobre a pele, que é absorvida pela hemoglobina do sangue capilar. A radiação de fundo reflectida é detectada e analisada. Esta radiação de fundo depende da quantidade de hemoglobina presente na pele, reflectindo o fluxo de sangue.

Pressão transcutânea de Oxigénio (tcpO₂)^[6, 39]

A pressão transcutânea de Oxigénio reflecte a quantidade de Oxigénio nos capilares cutâneos e, indirectamente, a perfusão da pele, medida através de um eléctrodo de platina e prata.

Fluxometria/Velocimetria por Laser Doppler^[6, 39]

Esta técnica é baseada no efeito de Doppler aplicado à óptica. Baseia-se na detecção dos desvios do comprimento de onda após a incidência na pele de um laser monocromático.

Método de lavagem de isótopos^[39]

Estes métodos de avaliação do fluxo de sangue implicam a administração na pele de um isótopo, normalmente ¹³³Xe ou ⁹⁹Tc, seguido de um período de *washout* durante o qual o desaparecimento do isótopo é avaliado. O tempo de desaparecimento reflecte o fluxo de sangue cutâneo.

Cromametria^[39]

É uma técnica utilizada para avaliar a coloração da pele. A pele é iluminada com uma luz de Xenon. A área iluminada é avaliada com um detector que capta a cor da pele e a compara com uma referência.

2. As variáveis transcutâneas no contexto da avaliação da patologia vascular**2.1. Fluxo de sangue avaliado através de Fluxometria por Laser Doppler (LDF) [40-43]****2.1.1. Definição**

A Fluxometria por Laser Doppler (LDF) é um método baseado em princípios ópticos, que permite, de um modo directo, contínuo e não invasivo a medição da perfusão microvascular, nomeadamente a perfusão cutânea^[44].

2.1.2. Princípio de medição e Efeito de Doppler^[42, 45-47]

A técnica de medição do fluxo de sangue através de LDF utiliza, geralmente, um laser monocromático de baixa energia, que penetra no tecido e ilumina os vasos sanguíneos e os glóbulos vermelhos em circulação. Este feixe de luz é posteriormente reflectido e analisado através de um fotodetector. Esta técnica detecta o movimento das células na circulação periférica e na microcirculação, ou seja, nas arteríolas, nos capilares e nas vénulas, com uma secção entre 0.002 e 0.008 mm². Nestes vasos, os glóbulos vermelhos movem-se a velocidades entre 0.01 e 10 mm/s. A profundidade de penetração média é de 1.5 mm. Estando o plexo superficial localizado entre os 1.0 e 1.5 mm de profundidade, significa que esta técnica mede o fluxo de sangue até esta zona.

Todos os movimentos ondulatórios são caracterizados pela relação:

$$v=f \times \lambda$$

Equação 1.11

em que:

v: Velocidade de propagação da onda (m/s)

f: Frequência (Hz)

λ : Comprimento de onda (m)

Se considerarmos a propagação das ondas sonoras (considerando um ouvinte e uma fonte sonora separados por uma distância qualquer), o ouvinte receberá v/λ ondas sonoras por

unidade de tempo, quando a fonte de som estiver parada e emitir uma onda sonora. Esta consideração só ocorre se o ouvinte também estiver parado. Quando o ouvinte se aproxima da fonte sonora, a distância encurta e o seu movimento (velocidade) é adicionado à velocidade de propagação da onda inicial, gerando uma onda com uma frequência diferente da onda inicial.

$$f_1 = (V_o + V_l) / \lambda$$

Equação 1.12

Se considerarmos a luz, e sabendo que a velocidade da luz é constante, apenas o movimento relativo entre o observador e a fonte de luz determina o desvio da frequência. Este efeito, chamado de Efeito de Doppler, pode ser aplicado a qualquer luz que penetre num tecido.

2.1.3. Sistemas de medição^[48, 49]

Existem, essencialmente, dois tipos de equipamentos associados à medição do fluxo de sangue na pele. Um equipamento designado por monitor de fluxo e um equipamento de imagem. O mais difundido é o monitor de fluxo.

Nos monitores de fluxo, a luz emitida pelo equipamento é enviada através de cabos de fibra óptica até ao tecido. No tecido, a luz – com um determinado comprimento de onda – colide com os elementos do sangue em movimento, sofrendo um desvio quando se dá a colisão. Estas alterações do comprimento de onda e da amplitude da intensidade de luz são proporcionais ao número e velocidade dos elementos do sangue em movimento, ou seja são proporcionais à perfusão.

$$\text{Perfusão} = n_{Ke} \times V_{ke}$$

Equação 1.13

Em que

n_{Ke} : Número de elementos do sangue em movimento, no volume medido

V_{ke} : Velocidade média dos elementos em movimento, no volume medido

Assumindo que existe proporcionalidade entre o número de glóbulos vermelhos em movimento e o volume de sangue, o sinal de LDF é linearmente relacionado com o produto entre o volume e a velocidade de sangue no volume medido.

Os equipamentos de imagem baseiam-se no mesmo princípio do medidor de fluxo, no entanto não existe contacto entre a sonda e a pele. Um sistema de espelhos foca o laser na pele e capta o reflexo da luz de uma forma sistemática. Este sistema permite um varrimento de uma área, que pode ir até aos 50 x 50 cm, no entanto não permite avaliar alterações rápidas do fluxo de sangue, uma vez que a imagem demora algum tempo a ser formada. Em contraste, os monitores de fluxo têm a vantagem de permitirem avaliar o fluxo de sangue continuamente, embora a área avaliada seja reduzida, sofrendo uma influência considerável do local anatómico onde a sonda é colocada^[49].

2.1.3.1. Lasers

O objectivo destes sistemas é o de medir a velocidade dos elementos em movimento, através do efeito de Doppler. Esta medição é obtida se iluminarmos o tecido com uma luz muito estável e monocromática, como um laser. A potência do laser necessário para avaliar a microcirculação varia entre o 1 e os 2 mW, sendo possível utilizar lasers de gás ou de diodos. Os lasers de gás têm comprimentos de onda que variam entre os 441.6 e os 632.8 nm. Os lasers de diodo têm, normalmente, comprimentos de onda entre os 780 e os 805 nm. Devido às suas reduzidas dimensões, estes diodos podem ser introduzidos na própria sonda de medição, sendo mais práticos de utilizar^[50].

- Profundidade de medição

Num meio denso, como o organismo humano, a luz laser apenas poderá penetrar nas camadas mais superficiais, por outro lado, devido aos fenómenos de desvios múltiplos, apenas uma pequena porção dessa luz, que consegue de facto penetrar no tecido, acaba por ser detectada pelo receptor. Os estudos realizados com vários comprimentos de onda sugerem que a profundidade de penetração aumenta com o comprimento de onda, tendo os lasers com comprimentos de onda de infravermelho próximo uma penetração que varia entre os 1 e 1.5 mm, dependendo do tecido avaliado^[42, 51].

- Calibração

A calibração do sistema de Fluxometria é realizada através de uma suspensão de partículas de Latex. Este facto deve-se à ausência de um padrão consistente e consensual que permita a medição do fluxo, contra o qual os fluxímetros possam ser calibrados. No entanto, têm sido realizadas avaliações comparativas com outras técnicas de medição de fluxo, nomeadamente com medições utilizando isótopos de Xenon, fluoresceína ou microsferas radioactivas, tendo

os dados de fluxometria sido directamente correlacionáveis com estas técnicas. Contudo, as correlações podem variar, dependendo do órgão avaliado e da zona específica desse órgão, bem como em valores extremos de fluxo e de hematócrito, pelo que estas comparações não podem servir de calibração^[40-42].

- Aspectos interferentes

Um dos aspectos mais importantes na análise dos dados provenientes dos Fluxímetros é a ausência de zero absoluto. Mesmo quando o fluxo dos glóbulos vermelhos é reduzido experimentalmente, ou cirurgicamente, para zero, ainda é possível detectar-se sinal. Recentemente, este sinal foi atribuído ao movimento browniano de macromoléculas provenientes do compartimento intersticial. O conhecimento deste factor é importante, sendo que, a par da variação espacial, consiste num dos principais interferentes na comparação de dados absolutos dos fluxímetros^[52, 53].

Existem também aspectos fisiológicos a ter em conta, nomeadamente a idade, o género, a raça, o local anatómico onde é realizada a medição e variações circadianas, entre outros. A tabela 1.1 exhibe a contribuição dos principais interferentes para a avaliação dos valores de fluxo por LDF^[48].

Tabela 1.1 - Dependência do valor de fluxo, detectado por LDF, de aspectos interferentes (De – sem relevância, até ++++ - muito relevante)^[48].

Factor fisiológico	Influência	Observações
Idade	+	Só é relevante se avaliado em recém-nascidos
Género	-	-
Raça	-	-
Local anatómico	+++	As pontas dos dedos das mãos e pés têm uma perfusão muito elevada, mas as zonas laterais do tronco têm valores de perfusão muito reduzidos
Variações individuais	++	O coeficiente de variação intraindividual é de aproximadamente 25%
Ciclo menstrual	++	Os valores basais são significativamente mais reduzidos nos dias de secreção máxima de estrogénios
Variações circadianas	-	-
Postura	++	Os valores médios em supinação são mais elevados do que as medições sentadas. Em dependência os valores diminuem
Actividade física	++++	A actividade física eleva o fluxo de sangue
Actividade mental	+++	O fluxo aumenta se o indivíduo estiver a realizar cálculos mentais ou se estiver em stresse psicológico
Temperatura ambiente	++++	Até aos 25°C as medições não são influenciadas. Acima deste valor iniciam-se respostas de controlo da temperatura que interferem significativamente com o fluxo de sangue.

2.2. Gasometria transcutânea de Oxigénio e CO₂**2.2.1. Definição**

A medição da pressão parcial de Oxigénio e de CO₂ transcutâneos (tcpO₂ e tcpCO₂) é um método directo de avaliação quantitativa do Oxigénio e do CO₂ que atravessa a pele, proveniente principalmente dos capilares.

2.2.2. Sistemas de Medição^[54-57]

Os métodos de medição utilizados nos aparelhos de análise do Oxigénio e CO₂ transcutâneos utilizam métodos electrométricos para avaliar os gases difundidos através da pele e captados à superfície.

Em termos práticos, os gases difundem da microcirculação cutânea, particularmente dos capilares nutritivos, para a epiderme, atravessam o estrato córneo e chegam ao sensor através de um líquido de contacto que faz a interface entre a superfície da pele e o sensor. Uma vez que, em condições normais, a pele não perde Oxigénio em quantidade suficiente para ser mensurável, é necessário que, como condição essencial para a utilização deste método, exista um aquecimento a uma temperatura constante, capaz de induzir uma vasodilatação máxima. Este aquecimento ocorre a temperaturas entre 43 e 45°C e permite, para além da vasodilatação dos capilares, sobrepor-se à auto-regulação vasoconstritora que existe na microcirculação cutânea. Por outro lado, o aquecimento permite ainda a abertura dos poros, facilitando a difusão do Oxigénio, diminui a solubilidade deste e provoca um desvio à direita na curva de dissociação da oxihemoglobina, provocando um aumento do Oxigénio difundido.

Após análise matemática, definiu-se como temperatura óptima de aquecimento os 44°C. Nestas condições, verifica-se uma pequena quantidade de Oxigénio que é consumido pelo próprio tecido, provocando uma ligeira diminuição do tcpO₂. Nos recém-nascidos, este efeito é compensado pelo efeito vasodilatador da temperatura, no entanto nos adultos esta vasodilatação não é tão elevada e, assim, os valores de tcpO₂ são 5 a 15% inferiores aos valores obtidos através de técnicas invasivas como a avaliação da Pressão arterial de Oxigénio (PaO₂) através de gasometria arterial. Apesar desta variação, estas medições podem ser realizadas com precisões que variam entre 5 e 10mmHg.

Em relação ao tcpCO₂, o aquecimento vai provocar a sua difusão, aumentando também o metabolismo celular. Este efeito conjunto provoca um aumento dos valores de tcpCO₂ em relação ao valor obtido na gasometria arterial.

Em termos de precisão, vários estudos demonstraram que os valores de tcpCO_2 são cerca de 35% superiores aos valores da Pressão arterial de CO_2 (PaCO_2) e que o metabolismo local aumenta o tcpCO_2 em cerca de 3mmHg e reduz o tcpO_2 entre 3 a 4 mmHg. Com uma calibração adequada, o valor de tcpCO_2 pode ser medido com uma precisão de 3 mmHg

Em termos de equipamentos, existem normalmente 3 tipos de equipamentos para medir os gases transcutâneos. Um sistema de medição do tcpO_2 , um sistema de medição do tcpCO_2 e um sistema combinado de medição do $\text{tcpO}_2/\text{tcpCO}_2$

2.2.3. Princípio de medição^[54, 57-59]

Os sistemas mais frequentemente utilizados são os combinados. Neste sistema, a medição do Oxigénio é realizada através de um eléctrodo polarográfico de Clark e o sistema de medição do CO_2 utiliza um eléctrodo de Stow-Severinhaus (Figura 1.12).

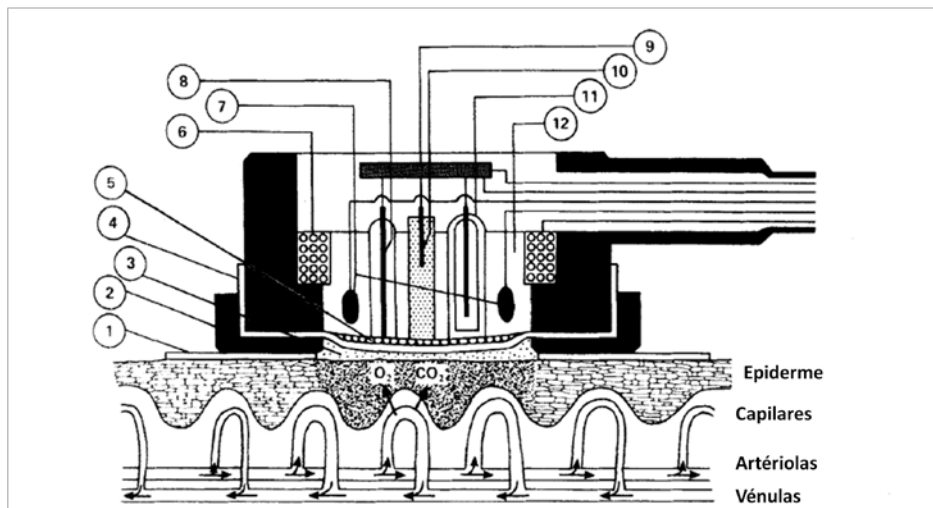


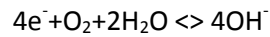
Figura 1.12 - Representação esquemática do eléctrodo de medição combinada de $\text{tcpO}_2/\text{tcpCO}_2$. Legenda: 1,2 – Adesivo fixador; 3 – Líquido de contacto; 4 – Membrana; 5 – Electrólito; 6 – Resistência de aquecimento; 7 – Termóstato; 8 – Cátodo de Platina; 9 – Circuito impresso; 10 – Eléctrodo de referência de Ag/AgCl ; 11 – Eléctrodo de vidro de pH; 12 – Elemento de aquecimento. (Adaptado da referência [54])

O cátodo do eléctrodo de Clark é, normalmente, feito de Ouro ou Platina, enquanto o sistema de medição do CO_2 utiliza um eléctrodo de pH de vidro. Como ânodo de referência, ambos os sistemas utilizam um eléctrodo de Ag/AgCl . Existe ainda montado no sensor um elemento de aquecimento.

O electrólito de contacto é partilhado entre os dois elementos do sensor, bem como a membrana difusora. Uma vez que os componentes dos dois sistemas de medição operam a

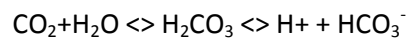
dois pH's diferentes, mostra-se necessário um compromisso na escolha do electrólito. Assim, a formação do OH⁻ no cátodo é tamponada pela solução escolhida.

A medição do Oxigénio é realizada quando, após o aquecimento, o gás difunde e reage com duas moléculas e água e 4 electrões do cátodo metálico produzindo 4 OH⁻ segundo a reacção:

**Equação 1.14**

O fluxo de corrente gerado pela voltagem polarizada, normalmente na gama dos 400-800 mV, é linearmente proporcional à pressão de Oxigénio que existe no electrólito de contacto.

A medição do CO₂ envolve, também, a difusão do gás e a sua reacção com água, formando ácido carbónico que imediatamente se dissocia gerando H⁺ e ião bicarbonato, segundo a reacção:

**Equação 1.15**

Os protões criam uma diferença de potencial entre o eléctrodo de vidro e o eléctrodo de referência que é medida pelo aparelho. Esta diferença de potencial é proporcional ao logaritmo negativo do tcpCO₂.

2.2.4. Calibração^[56, 59]

Este sistema é normalmente calibrado com dois tipos de gases, ou mistura de gases. O primeiro consiste numa mistura de gases contendo 21% de Oxigénio e 5% de CO₂. O segundo gás de calibração consiste numa mistura de gases contendo 10% de CO₂ e Azoto.

2.2.5. Aspectos interferentes^[53, 54, 58]

As vantagens e desvantagens deste método estão relacionadas quer com a tecnologia, quer com a forma de medição. Os valores de tcpO₂ e tcPCO₂ são médias dos valores de pressão de Oxigénio e pressão de CO₂ no local anatómico exactamente por baixo do sensor. Este aspecto reflecte apenas o valor dos gases na microcirculação e não os gases arteriais, pese embora se verifique uma correlação estreita entre os dois. Por outro lado, este sistema, ao medir apenas o Oxigénio difundido dos capilares nutritivos é um indicador do fluxo sanguíneo neste

território, sendo por vezes utilizado em associação com a fluxometria por laser Doppler, de forma a permitir a diferenciação dos dois territórios microcirculatórios.

Os factores interferentes mais importantes são o fluxo capilar, as alterações provocadas pelo metabolismo cutâneo e a resistência vascular periférica.

As principais desvantagens deste sistema de medição são a sua fraca resolução espacial, a proveniência do O₂ de vários territórios anatómicos (rede nutritiva capilar, mas também das células), o facto de a medição ser afectada pela anatomia da pele (espessura e metabolismo) e o facto de o tempo de estabilização, antes de iniciar a medição, ser elevado (ca. 20 min). Este tempo é necessário para garantir uma vasodilatação máxima.

As principais vantagens são a facilidade de utilização, o facto de ser relativamente barato quando utilizado em rotina, ser relativamente livre de interferências relacionadas com o operador, permitir uma monitorização constante dos valores de Oxigénio e CO₂ em simultâneo e de forma não invasiva, ser correlacionado com a gasometria arterial e apresentar uma boa fiabilidade.

2.3. Perda Trans Epidérmica de Água (PTEA)

2.3.1. Definição

A Perda Trans-Epidérmica de Agua (PTEA), isto é, o vapor de água que atravessa o estrato córneo por difusão, é frequentemente utilizado para caracterizar a função de “barreira” cutânea^[60, 61]. A água perdida desta forma sofre um processo de difusão que assenta no princípio de difusão de Fick. Esta lei permite quantificar a água que atravessa uma determinada barreira, servindo por isso de base teórica para os métodos de avaliação desta variável.

2.3.2. Sistemas de medição^[60, 61]

Avaliação da PTEA através da modificação do peso corporal

Este método baseia-se no princípio de que a perda de água insensível (PAI) = Perda de peso insensível – (CO₂-O₂).

Este método está especialmente desenhado para prematuros, onde é difícil a utilização de outras técnicas. Os prematuros são mantidos em incubadoras a 37°C, com medição da humidade relativa. Realizam-se medições do peso dos prematuros, a cada 3H, em balanças de precisão (pelo menos 0,5g). Determina-se a perda insensível de peso através da soma algébrica entre o peso final, o peso

dos produtos de excreção e os aportes. Admite-se ainda um erro constante devido às trocas de CO₂ e O₂.

As principais vantagens são o facto de o equipamento necessário estar difundido nas unidades de cuidados intensivos de neonatologia, as medições poderem ser realizadas por operadores sem qualquer treino específico, o método permitir uma boa quantificação da PAI e as medições poderem ser contínuas, utilizando uma balança que guarde os valores medidos.

As principais desvantagens relacionam-se com o facto da sensibilidade das balanças ser baixa, do período de medição ser longo, e da PTEA não poder ser dissociada da PAI.

Câmara fechada – Peso de substâncias higroscópicas

Este método baseia-se no facto de as substâncias higroscópicas secas absorverem vapor de água que pode ser pesado. A relação que justifica este método é a seguinte:

$$\text{Perda de água} = (\text{água antes} - \text{água após}) / \text{Área} * \text{Intervalo de tempo}$$

Neste método, a um local de medição na pele, é sobreposto um tubo de vidro com um diâmetro conhecido. Pesa-se uma substância higroscópica, p.ex. Cloreto de Cálcio ou Sílica gel e coloca-se dentro do tubo. Esta cápsula mantém-se dentro do tubo durante 15 a 30 min, após o que é removida e pesada.

As vantagens são o facto de as cápsulas serem fáceis e pouco dispendiosas de fabricar. As medições serem realizadas em zonas de pele locais e serem suficientemente sensíveis para comparação.

Como desvantagens, verifica-se que a PTEA não pode ser medida continuamente pelos métodos de câmara fechada. A humidade relativa da cápsula aumenta à medida que a substância higroscópica se aproxima da saturação, por outro lado o vapor de água que existe no tubo antes da introdução da cápsula conduz a um aumento dos valores da PTEA.

Câmara Ventilada

O princípio deste método envolve a passagem contínua de um gás de humidade e velocidade conhecidas através de uma câmara de amostragem (p.ex. incubadora). A humidade do gás efluente é medida e comparada com a humidade do gás afluente.

São vários os métodos envolvidos neste tipo de técnica, podem utilizar-se técnicas que recorram à pesagem de substâncias higroscópicas, pode medir-se a condutividade térmica de uma mistura de

gases, pode utilizar-se um electrohigrómetro, ou analisar o vapor de água através de um espectrómetro de infravermelho. Estas técnicas são utilizadas para comparações relativas da PTEA.

A grande desvantagem destas técnicas é a existência de convexões forçadas, provocadas pelo fluxo de gás que atravessa o local de medição. O gradiente de difusão de água é aumentado pela remoção da camada de ar estagnado e pela maior humidade que recobre a pele.

Câmara aberta

Este é o método de medição mais difundido. O princípio de medição está relacionado com a primeira lei de Fick. O aparelho utilizado correntemente por este método designa-se por evaporímetro e a metodologia correspondente designa-se por evaporimetria.

O aparelho de medição é facilmente utilizado, permitindo medir valores de PTEA até $0,1 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, sendo suficientemente preciso para a monitorização clínica, bem como para a investigação dermatológica. A humidade relativa, a pressão de vapor de água e a velocidade de evaporação são transformados internamente pelo aparelho e a precisão da medição parece não depender da área de pele a medir. A PTEA pode ser medida com uma humidade relativa ambiente. Não existe o efeito das forças de convexão.

Como desvantagem, verifica-se que o tempo de estabilização é longo, as correntes locais sobre a pele afectam as medições e devem ser controladas. As flutuações da humidade relativa devem ser controladas.

2.3.3. Teoria de medição do evaporímetro

O estrato córneo proporciona a força mecânica à epiderme, enquanto a epiderme viável é relativamente permeável e mecanicamente fraca. O estrato córneo apresenta-se, assim, como uma barreira relativamente homogénea à difusão, mantendo ainda afinidade quer para substâncias solúveis em água, quer para substâncias lipossolúveis devido à sua estrutura em mosaico, o que permite a existência de regiões ricas em substâncias aquosas e outras regiões ricas em lípidos.

A existência de queratina intracelular hidratada é, aparentemente, o passo limitante à difusão de substâncias hidrossolúveis^[60, 62]. Assim, a difusão ocorre passivamente a favor de um gradiente de concentração.

Capítulo 1

Introdução

A PTEA é um processo de difusão passiva que é consistente com a localização da mais importante barreira à difusão – o estrato córneo^[60, 63-65]. Esta variável pode ser explicada de acordo com os princípios físicos expressos na equação de Fick^[60] (Equação 1.16)

$$J_s = \frac{D \times (C_1 - C_2)}{d}$$

Equação 1.16

em que:

J_s - corresponde ao fluxo que se estabelece em estado estacionário ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

D - corresponde ao coeficiente de difusão através da membrana ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)

d - corresponde à espessura da membrana (cm)

C_1 e C_2 - correspondem às concentrações de um e outro lado da membrana a ser atravessada ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$)

No entanto, e uma vez que este estrato córneo não é uma membrana inerte, mas apresenta afinidade para a água, podemos reescrever a equação 1.1 da seguinte forma (equações 1.17, 1.18 e 1.19):

$$J_s = \frac{kp \times D \times \Delta C_s}{\delta}$$

Equação 1.17

$$Kt = \frac{kp \times D}{\delta}$$

Equação 1.18

$$J_s = kt \times \Delta C_s$$

Equação 1.19

em que:

J_s – Fluxo de água em estado estacionário ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$)

ΔC_s – Diferença de concentrações em estado estacionário

kt – Constante de transporte (h^{-1})

d – Espessura da membrana (cm)

k_p – Coeficiente de partilha

D – Constante de difusão em água ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)

Nestas condições, o valor de J_s pode ser calculado através do valor da PTEA. O gradiente de concentração depende da humidade relativa ambiente (HR). A variação da concentração (ΔC_s) é aproximadamente zero quando a humidade relativa é 100% e, portanto, ambas as concentrações são equivalentes, não deixando espaço para existir um gradiente de concentração. Quando o valor da humidade relativa é igual a 40% e a temperatura cutânea é de aproximadamente 31°C, o valor da concentração em água à superfície é de 11,7M^[60]. A camada mais interna do estrato córneo apresenta uma concentração de 48,3 a 49,4M que é semelhante à da epiderme viável, logo, o gradiente de concentração é de 37,2M.

A constante de difusão (D) é dependente da temperatura, dado que a energia de activação para a difusão através das membranas é alta.

É importante referir que a equação de Fick (equação 1.16) consiste numa generalização do processo real e, portanto, existem algumas limitações:

- A equação envolve a física elementar dos processos de permeação apenas para estados estacionários de substâncias de baixo peso molecular^[66].
- Não leva em linha de conta a acumulação e ligação de substâncias no estrato córneo^[66].
- Substâncias externas (por exemplo alguns detergentes) que alterem a composição da superfície cutânea ou que modifiquem a estrutura superficial da membrana podem alterar a constante de transporte^[66].

No entanto, e apesar da simplificação, esta lei proporciona uma forma relativamente simples de descrever os factores principais que regulam a PTEA.

Assim, e uma vez que já foi descrita a proporcionalidade entre o vapor de água e a PTEA, pode reescrever-se a equação 1.20 de uma outra forma:

$$J_s = kt \times (P_{\text{sup}} - P_{\text{ar}})$$

Equação 1.20

em que:

P_{sup} – Pressão de vapor de água na pele à superfície

P_{ar} - Pressão de vapor de água no ar ambiente

pelo que:

$$PTEA = kt \times \Delta P$$

Equação 1.21

Sendo a PTEA um processo de difusão passiva em estado estacionário, poderá supor-se que a taxa de difusão através do estrato córneo seja marcadamente influenciada pela humidade relativa ambiente (ΔHR). Neste caso, a equação anterior poderá ser rescrita:

$$PTEA = kt \times \Delta HR$$

Equação 1.22

Para utilizar esta equação, deverá atender-se a que a variação da humidade relativa (ΔHR) corresponda a uma diferença de humidade ao longo do estrato córneo, tendo em atenção que a parte mais profunda do estrato córneo corresponde a 100%.

Este conjunto de equações permite definir a PTEA como um processo de difusão, realizado predominantemente por via intercelular ou transcelular (hidrofílica) dependente apenas da temperatura ambiente, que determina a concentração de água através do estrato córneo, da integridade da função de barreira e da temperatura, factores que determinam os coeficientes de partilha (k_p) e a difusividade (D)^[60, 65, 66]. A equação de Fick (equação 1.16) também nos indica que a PTEA depende inversamente da espessura do estrato córneo, muito embora esta função não seja linear, especialmente porque à medida que aumenta a hidratação do estrato córneo vai, também ela, aumentar a espessura deste, devido ao efeito da “embebição”^[67-69].

Quando se dá a hidratação do estrato córneo, a espessura e a constante de difusão aumentam. No caso da água, tal parece ser antagónico, no entanto, o factor dominante é a constante de difusão que supera o aumento da espessura levando à possibilidade de saída da água^[60, 68, 70]. No entanto, esta equação parece descrever razoavelmente os fenómenos de passagem de água através da epiderme e, por isso, tem sido amplamente utilizada para prever a sua extensão.

3. Métodos de avaliação e análise da microcirculação^[53]

Existem diversos tipos de protocolos utilizados para avaliar a microcirculação. Os mais simples implicam a medição em repouso das variáveis descritas anteriormente, especialmente o fluxo de sangue da microcirculação cutânea e o Oxigénio transcutâneo, mas também a PTEA, num contexto em que existe comprometimento da função de barreira epidérmica e a sua relação com o aporte de sangue à pele. Estas variáveis, quando utilizadas em medições únicas ou basais, são pouco discriminatórias. A utilização da pele como modelo para avaliar as patologias microcirculatórias mais frequentes permite, também, a utilização de protocolos mais sofisticados, que envolvem a medição contínua das variáveis durante manipulação dinâmica, nomeadamente alterações da postura, indução de hiperémia reactiva por redução da perfusão ou inalação de Oxigénio. Estes protocolos permitem discriminar entre os vários graus das diversas patologias, aumentando a sensibilidade das técnicas de medição em repouso. A pele, especialmente nos membros inferiores e superiores, por ser um órgão de fácil acessibilidade, permite avaliações não invasivas que podem ser utilizadas facilmente tanto em ambiente clínico como em ambiente laboratorial, sendo um bom modelo para estudar as alterações microcirculatórias mais frequentes.

3.1. Manobras dinâmicas**3.1.1. Manobras com alteração da postura^[53]**

A alteração postural altera a dinâmica vascular de forma muitas vezes drástica, iniciando mecanismos locais que se reflectem na microcirculação cutânea^[71]. O reflexo mais importante na avaliação de alterações da postura é o reflexo veno-arterial^[72, 73]. Neste reflexo existe uma distensão venosa quando o indivíduo, ou um membro (frequentemente inferior), se encontra na posição de dependência (sentado ou deitado mas com o membro numa posição inferior ao coração). Esta distensão venosa provoca um aumento da pressão transmural venosa, que induz uma vasoconstrição pré-capilar, com a conseqüente redução no fluxo de sangue^[72, 74, 75]. O estímulo para a vasoconstrição parece ser causado por um reflexo axonal local dependente das fibras simpáticas periféricas^[76], com pequenas contribuições do controlo miogénico local, nomeadamente a activação pelo estiramento do músculo liso dos vasos, o que regula a entrada de cálcio através de canais de cálcio dependentes da voltagem e de componentes neurogénicos centrais^[53]. Este reflexo previne o desenvolvimento de hipertensão capilar e a formação de edema^[72]. Quando o indivíduo retoma a posição de decúbito, o sangue deixa de

exercer tanta pressão sobre os vasos, a pressão venosa diminui, induzindo uma diminuição da resistência capilar que aumenta o fluxo arterial^[76].

Este tipo de protocolos é normalmente utilizado como um teste para a capacidade de distensão dos vasos cutâneos, que desencadeia os fenómenos de autocontrolo relacionados com o endotélio. O indivíduo encontra-se na posição de decúbito, seguindo-se uma elevação ou diminuição do membro que se pretende estudar, o membro inferior.

Quando um indivíduo passa da posição de deitado para a posição de sentado, verifica-se uma diminuição do fluxo de sangue, que pode passar para 62% do fluxo em decúbito nos indivíduos jovens ou 43% em indivíduos mais idosos^[72]. Numa outra experiência, compararam-se doentes com doença arterial periférica com controlos normais, com o mesmo tipo de manobra. Os resultados são semelhantes aos anteriores, com uma redução de 70% nos indivíduos normais contra uma redução de apenas 25% nos doentes^[76]. Este resultado parece sugerir que o reflexo venoarterial se encontra alterado, provavelmente como resultado de adaptações à diminuição da perfusão e da pressão que existe nestes doentes.

A colocação do membro inferior em dependência (90º abaixo da posição da bacia) provoca uma diminuição do fluxo de sangue, sugerindo a activação do reflexo veno-arterial. Esta redução não é tão evidente em doentes diabéticos com neuropatia declarada^[74].

Quando o membro inferior é colocado numa posição de dependência, envolvendo a colocação da perna numa posição de 40 cm abaixo do coração, os resultados são semelhantes aos anteriores. A redução do fluxo de sangue em doentes com diabetes não é tão evidente como nos indivíduos saudáveis (58% de redução nos doentes contra 75% nos indivíduos saudáveis)^[71]. Estes resultados parecem justificar que o aumento da hipertensão capilar nos doentes pode explicar o aumento da espessura da membrana basal dos capilares encontrados nos diabéticos. Também doentes com disautonomia familiar, uma patologia que afecta a via autonómica simpática e por consequência o reflexo veno-arterial, apresentam alterações semelhantes. Nestes doentes existe uma menor redução do fluxo de sangue, em comparação com indivíduos saudáveis, quando o membro inferior é colocado numa posição 40 cm abaixo da linha do coração, confirmando o envolvimento do reflexo-venoarterial nas alterações posturais^[77].

Quando o membro inferior é elevado 45º acima da linha do coração, em indivíduos em decúbito, induz-se uma alteração da distensibilidade dos vasos que provoca uma redução do fluxo de sangue em doentes com Doença Vascular Periférica^[78, 79]. No entanto, quando o

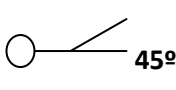
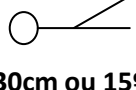

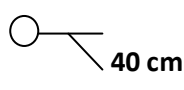
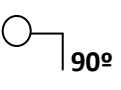










Capítulo 1

Introdução

membro é elevado apenas a 15° ou 30 cm acima da linha do coração, parece existir uma redução da pressão venosa e, desta forma, um aumento do fluxo capilar, também em doentes com DVP^[80].

Os resultados mais significativos destes protocolos encontram-se resumidos na tabela 1.2.




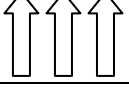
Tabela 1.2 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos de alteração da postura. Variações em relação ao decúbito ^[71-80]. Dados de Fluxo de sangue (LDF).

LDF	 45°	 30cm ou 15°		 40 cm	 90°
Controlo normal		=			
Diabetes	n.a.	n.a.	n.a.		
DVP				n.a.	n.a.
Disautonomia familiar	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.

n.a. – Não acessível

O Oxigénio transcutâneo é, também, alterado em função das modificações da postura. Quando o indivíduo passa para a posição de sentado, verifica-se um aumento do Oxigénio transcutâneo, provavelmente devido a uma redistribuição da perfusão causada pela vasoconstricção arteriolar dentro do tecido adjacente não aquecido (tabela 1.3). Este efeito é mais marcado em doentes com doença arterial periférica, aumentando este efeito com a gravidade da patologia^[81-83].

Tabela 1.3 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos de alteração da postura. Variações em relação ao decúbito ^[81-83]. Dados de tcpO₂

tcpO ₂	
Controlo normal	
Claudicação	
Estadio III/IV	

Mostra-se importante referir que tanto as medições do fluxo de sangue microcirculatório como do Oxigénio transcutâneo em repouso não são capazes de discriminar, por si só, as várias situações patológicas.

3.1.2. Manobras de baixa perfusão (postura e Hiperémia reactiva)

Este tipo de protocolos pode ser utilizado para investigar a resposta miogénica transitória após uma oclusão de um membro^[53]. Permite, ainda, estudar a resposta da função endotelial local durante o pico da resposta hiperémica. Normalmente, induz-se uma oclusão suprasistólica durante um período de tempo pré-definido (3, 5, 10 ou 13 minutos), com a consequente indução de uma hiperémia reactiva.

A hiperémia reactiva consiste num aumento transitório do fluxo de sangue, acima dos valores de repouso, após um curto período de isquémia. Este aumento do fluxo de sangue depende de dois factores principais^[84]:

- Factores mecânicos como a deformação mecânica das células endoteliais durante o colapso arterial que ocorre durante o período de oclusão, e que provoca a libertação de mediadores vasodilatadores, nomeadamente o NO. Durante a fase de reperfusão ocorre um estiramento dos vasos e um aumento da força mecânica do sangue sobre o vaso (*shear stress*), o que também induz a activação da NOSintetase dependente do endotélio e consequente produção de NO^[84].
- Factores metabólicos devido à formação, acumulação e posterior eliminação de metabolitos vasodilatadores como o CO₂, o ADP ou a Adenosina^[84].

Alguns estudos conseguiram, mesmo, diferenciar duas fases na evolução do fluxo de sangue após uma hiperémia induzida por oclusão. Uma primeira fase rápida correspondente ao aumento súbito do fluxo de sangue da microvasculatura cutânea, após a remoção da oclusão, dependente de factores estruturais e da libertação de adenosina e prostaglandinas e sendo considerado um indicador de *shear stress* sobre a parede arteriolar. Uma fase lenta posterior, que mantém a hiperémia e onde o NO parece estar envolvido, uma vez que a administração de inibidores da NOSintetase, como o L-NMMA, reduzem esta fase, sendo por isso considerado um indicador da função endotelial^[85].

Existem diversas formas de avaliar os resultados provenientes da hiperémia reactiva, normalmente calcula-se o tempo para se atingir o **pico máximo de fluxo de sangue** ou a **% de**

variação desse fluxo. Por vezes, também se avalia o parâmetro **metade do fluxo máximo** e o correspondente tempo para se atingir esse valor.

Em voluntários normais, os resultados demonstram que a percentagem de variação entre o basal e o máximo pode ocorrer entre 360 e 460%^[85-87], dependendo dos protocolos. Esta variação é reduzida, em relação ao normal, em doentes com esclerose sistémica. Nestes doentes, a variação é de apenas 120%, provavelmente devido a alterações funcionais e estruturais do músculo liso que provocam um comprometimento arteriolar com a consequente redução da hiperémia^[86]. Em doentes com diabetes, a percentagem de variação também é reduzida, numa fase mais precoce da patologia, devido a alterações do fluxo microvascular que provocam um estímulo insuficiente no endotélio e a consequente redução da libertação de NO. Em fases mais adiantadas, a vasodilatação dependente do NO também diminui devido à redução da sensibilidade do músculo liso para o NO, resultando em alterações da morfologia dos vasos^[88-90]. Na DVP, os resultados são semelhantes. Os vários estudos comprovam que, em repouso, não se verificam diferenças significativas entre os valores de fluxo, no entanto os picos máximos, após hiperémia, são mais reduzidos nos doentes do que nos controlos. Quando se atinge a fase de isquémia crítica do membro, a vasodilatação já é máxima em repouso. Desta forma, após uma oclusão, não existem diferenças significativas em relação à condição inicial^[87].

O **tempo para se atingir o pico máximo** ou o **tempo para atingir o fluxo basal** são também parâmetros utilizados para caracterizar a evolução da hiperémia. Estes tempos dependem da diminuição da resistência vascular dos capilares e arteríolas da pele, do aumento da resistência dos vasos maiores e do aumento de volume dos vasos arteriais de maior calibre nas zonas distais à oclusão que determinam o enchimento do segmento vascular considerado.

Doentes com DVP apresentam tempos para o fluxo basal significativamente superiores aos controlos, sendo portanto este um bom indicador para diferenciar e caracterizar a patologia^[87]. Por outro lado, doentes com diabetes tipo 2 apresentam tempos para atingir o fluxo máximo muito mais reduzidos que o controlo^[90].

Os principais resultados dos diversos protocolos encontram-se resumidos na tabela 1.4

Tabela 1.4 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos com indução de hiperémia. Variações em função das patologias^[85-90]. Dados de fluxo de sangue (LDF)

LDF	Fluxo máximo	Tempo para o fluxo máximo	Tempo para ½ do fluxo basal
Controlo normal	↑↑↑	↑↑	↑
DVP	↑	n.a.	↑↑
Diabetes	↑	↑	n.a.
Esclerose sistémica	↑↑	n.a.	n.a.

n.a. – Não acessível

A hiperémia reactiva pode, também, ser avaliada através da análise da evolução do Oxigénio transcutâneo. Neste caso, os parâmetros mais importantes, e que são tradicionalmente utilizados, são o **tempo de recuperação de metade do nível de Oxigénio** após uma oclusão, o **tempo para o reaparecimento do Oxigénio** e o **tempo de diminuição do Oxigénio**, bem como o **valor de tcpO₂ em repouso**.

Os resultados dos vários estudos demonstram que, em repouso, o nível de tcpO₂ se encontra ligeiramente diminuído em doentes com DVP, de acordo com a gravidade da patologia, não obstante estas diferenças não são significativas, pelo que o tcpO₂ em repouso não é discriminativo^[91-94]. O tempo de recuperação do Oxigénio aumenta significativamente com esta patologia. É importante referir, ainda, que a idade interfere nos valores de tcpO₂, nomeadamente porque o fluxo é mais reduzido devido à diminuição da densidade capilar, há um aumento da resistência periférica e uma diminuição da função cardiovascular que pode levar à diminuição da capacidade discriminativa deste parâmetro^[92, 95]. O tempo de reaparecimento do Oxigénio após uma oclusão parece ser o parâmetro mais sensível para discriminar alterações provocadas pela DVP. Este parâmetro está aumentado nesta patologia, provavelmente devido à obstrução arterial e a *shunts* para as zonas de menor resistência.

Os principais resultados dos diversos protocolos, utilizando a gasometria transcutânea como variável central, encontram-se resumidos na tabela 1.5

Tabela 1.5 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos com indução de hiperémia^[91-95]. Dados de tcpO₂.

tcpO ₂	tcpO ₂ em repouso	Tempo para recuperar ½ do Oxigénio	Tempo de reaparecimento do Oxigénio
Controlo normal	↑↑	↑	↑
DVP	↑	↑↑	↑↑↑

Foram ainda comparadas as variações do fluxo de sangue e do Oxigénio transcutâneo com as da PTEA, durante a indução de uma hiperémia pós oclusiva, no sentido de esclarecer a influência da hemodinâmica local sobre a barreira cutânea. Estes resultados mostraram que a PTEA aumentou significativamente em relação ao basal durante o processo de oclusão, e diminuiu também significativamente durante a hiperémia. Foi sugerido uma alteração do equilíbrio das forças de Starling durante a oclusão, seguido de uma retoma rápida aos valores normais durante a hiperémia. No entanto, estes resultados, não permitiram estabelecer uma correlação directa entre esta variável e o fluxo de sangue ou o tcpO₂ durante estas experiências, provavelmente devido ao curto tempo de oclusão estabelecido^[96].

Finalmente, algumas alterações posturais, nomeadamente com elevação dos membros a alturas muito acima do coração parecem induzir uma hiperémia reactiva postural, mas até ao momento, esses protocolos são pouco reproduzíveis o que significa uma fraca capacidade discriminativa do protocolo^[79].

3.1.3. Manobras com modificação do consumo de Oxigénio

A inalação de Oxigénio é um procedimento terapêutico vulgarmente utilizado, por exemplo, no tratamento da ferida diabética, em que a hipóxia e as infecções são as causas mais frequentes da cronicidade da ferida. A terapêutica hiperbárica de Oxigénio aumenta a angiogénese, levando a um aumento do Oxigénio tecidual que, como consequência, pode levar à destruição dos microorganismos anaeróbios que colonizam a ferida^[97]. Por outro lado, os mecanismos pelos quais os leucócitos polimorfonucleares destroem as bactérias utilizam Oxigénio. Esta terapêutica tem sido utilizada como um adjuvante da antibioterapia^[98].

Com o Oxigénio administrado de forma hiperbárica a hemoglobina fica completamente saturada e o Oxigénio dissolve-se fisicamente no plasma, na proporção directa da sua pressão

parcial. Na terapêutica hiperbárica existe Oxigénio em quantidade suficiente no plasma para suprir as necessidades tecidulares, sem recurso à dissociação da hemoglobina. A 2 ou 2.5 atm, o Oxigénio dissolvido no plasma aumenta 10 vezes, criando um gradiente favorável à sua difusão desde os capilares funcionais até ao tecido isquémico. A inalação de Oxigénio nestas condições provoca vasoconstrição local. No entanto, o efeito resultante total é equilibrado pela hiperoxigenação pelo que, no final, existe sempre um aumento da disponibilidade de Oxigénio no tecido. A inalação de 100% de Oxigénio pode, também, ser utilizada como indicador para a viabilidade do tecido, sendo, por isso, utilizada na previsão dos locais de amputação^[98].

Na análise destes resultados, utiliza-se essencialmente o Oxigénio transcutâneo e os mesmos parâmetros utilizados na hiperémia, nomeadamente o **tempo de reaparecimento do Oxigénio**.

Em indivíduos normais, a % de variação do Oxigénio, durante a inalação de uma atmosfera com 100% deste gás durante um determinado tempo, aumenta entre 238 e 500%^[81, 99]. Este parâmetro fica alterado em situações de patologia vascular periférica. No entanto, o sentido da alteração não é conclusivo. Alguns estudos apontam um aumento da percentagem de variação em relação ao basal^[81, 100], enquanto que outros estudos demonstram exactamente o contrário^[81, 97, 100].

Em doentes com diabetes, a percentagem de variação pode ser de 900%. Este valor foi obtido em membros que apresentavam ferida, que posteriormente foi curada. Quando a ferida levou à necessidade de amputação, a % de variação medida foi de apenas 590%^[100].

O significado destes resultados indica que as técnicas de análise utilizadas não parecem ser suficientemente discriminatórias.

O tempo de reaparecimento de Oxigénio parece ser o parâmetro mais discriminativo. Este valor aumenta na DVP, sugerindo-se a existência de uma alteração da capacidade de reperfusão com a consequente diminuição da oxigenação^[101].

Os principais resultados dos diversos protocolos encontram-se resumidos na tabela 1.6:

Tabela 1.6 - Resumo dos resultados obtidos durante os vários protocolos com inalação de Oxigénio a 100%. Variações em função das patologias. Dados de tcpO₂

tcpO ₂	% Variação do tcpO ₂ em relação ao repouso	Tempo de reaparecimento do Oxigénio
Controlo normal	↑↑	↑
DVP	↑↓	↑↑↑
Diabetes	↑↑↑ se recuperar	n.a.

n.a. – Não acessível

3.2. Modelação matemática

Na sequência das novas formas de avaliação da fisiologia cutânea iniciadas com a aplicação dos testes dinâmicos, foram desenvolvidos diversos métodos de análise baseados em concepções matemáticas mais ou menos complexas^[70,102].

A estratégia de criação de fórmulas matemáticas para descrever fenómenos complexos tem sido largamente utilizada nas ciências biológicas, onde se utilizam vários modelos clássicos. É o caso da equação de Michaelis-Menten, utilizada para descrever um processo tão complexo como o da saturação enzimática^[103], ou o modelo compartimental de PTEA utilizado para avaliar a função de barreira^[104, 105]. Outra área onde a utilização de modelos matemáticos é frequente é na descrição cinética de fármacos, utilizados em saúde humana. De facto, a descrição cinética de fenómenos biológicos é, hoje em dia, uma área em ascensão, uma vez que, através de estratégias analíticas, se consegue reduzir um fenómeno, um conjunto de observações ou até mesmo um conjunto de variáveis a um conjunto de parâmetros quantificáveis, que resume todos os outros^[103].

Os modelos matemáticos podem, assim, ser criados com dois objectivos principais:

- O primeiro e mais simples consiste na investigação da correlação existente entre dois ou mais tipos de observações. Um exemplo deste tipo de modelo é o modelo de regressão utilizado nas curvas de calibração. Uma vez que não existe o objectivo de conhecer os mecanismos envolvidos, as equações matemáticas, mais correntemente utilizadas, são equações simples e de solução fácil (muitas vezes a equação de uma recta)^[106].

- O segundo objectivo consiste na investigação dos aspectos mecanísticos associados aos fenómenos em estudo. Neste caso, os modelos devem ser capazes de realizar um certo grau de previsão dos fenómenos, de forma a serem utilizados noutras situações que não as estudadas. As formulações matemáticas utilizadas levam, muitas vezes, à resolução de equações diferenciais e a modelos compartimentais ou não compartimentais mais complexos.

Relativamente às variáveis microcirculatórias, nomeadamente o fluxo de sangue e o Oxigénio transcutâneo, têm existido algumas tentativas de parametrizar as curvas obtidas, nomeadamente em experiências que envolvam a oclusão suprasistólica com indução de hiperémia. Estes parâmetros não podem ser considerados verdadeiros modelos matemáticos, uma vez que não assentam em bases mecanísticas, mas antes em descrições empíricas das curvas de evolução das experiências, numa tentativa de quantificar os fenómenos para posterior comparação (Figura 1.13)^[87, 101, 102].

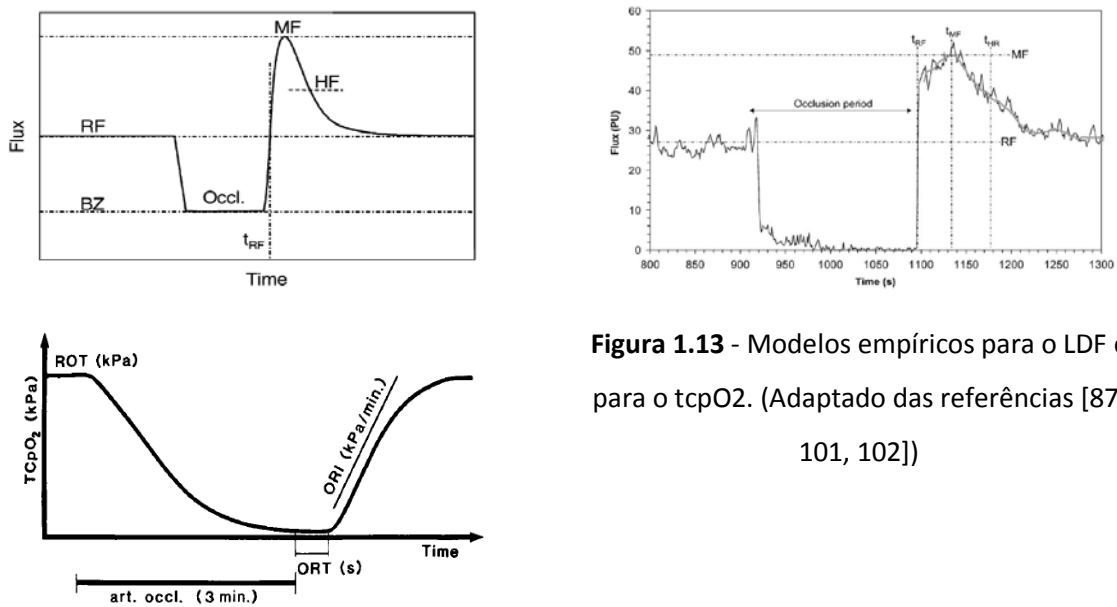


Figura 1.13 - Modelos empíricos para o LDF e para o tcpO₂. (Adaptado das referências [87, 101, 102])

Sendo o objectivo destes métodos meramente descritivo, não existe qualquer preocupação com o tipo de modelo matemático utilizado, desde que a descrição das curvas simplifique o processo de análise. Após a utilização destes modelos empíricos e da constatação de que muitos dos problemas de análise se mantêm com a sua utilização, nomeadamente a falta de precisão no cálculo dos parâmetros devido à não utilização de um modelo relacionado com os conhecimentos fisiológicos disponíveis, a fraca capacidade discriminativa de alguns dos parâmetros utilizados e a não uniformização da definição dos mesmos, justifica-se uma outra abordagem do problema, em busca de um modelo mais preciso, baseado em outros conceitos, que possa ser utilizado para os fins em vista.

4. Objectivos

A microcirculação e as condições de perfusão periférica, abordadas através da fluxometria de laser Doppler e da pressão parcial de Oxigénio transcutâneo, são indicadores reconhecidos da função vascular periférica *in vivo*, apesar de a sua aplicabilidade se encontrar ainda longe do seu potencial interesse, especialmente em termos clínicos.

A permanente procura de mais e melhores estratégias de utilização destas variáveis, no sentido de as tornar mais práticas e precisas, são uma clara demonstração do interesse que a generalidade das especialidades com interesse na função vascular periférica lhes tem dedicado. A modelação matemática do Oxigénio transcutâneo, do fluxo de sangue microcirculatório e das suas relações com a PTEA constitui um exemplo interessante dessa busca que, no presente projecto, se procura desenvolver. De facto, o presente trabalho de modelação parte da análise empírica dos resultados dinâmicos actualmente utilizados, para desenvolver um conjunto de modelos de base compartimental que procuram descrever os fenómenos experimentais relacionáveis com a realidade histo-funcional da pele e assim aumentar a capacidade discriminativa dos parâmetros obtidos. Os modelos desenvolvidos no presente estudo procuram descrever a dinâmica do $tcpO_2$, com recurso à informação obtida também pelos dados de fluxo de sangue, em condições tão próximas quanto possível da realidade observada *in vivo*. A metodologia experimental proposta contempla, ainda, a selecção dos melhores modelos, com base em critérios fisiológicos e em abordagens matemáticas, que permitem a avaliação final dos modelos matemáticos, bem como a validação final num grupo de pacientes com disfunção vascular. Através desta estratégia analítica, o presente estudo procura propor a utilização de parâmetros cinéticos com significado fisiológico adequados à descrição rigorosa da dinâmica microcirculatória no indivíduo inteiro, no sentido de tentar desenvolver um índice funcional da função vascular que possa ser utilizado como indicador/“predictor” de progressão da alteração fisiopatológica em curso.

2. Material e Métodos

1. Modelação matemática – Base conceptual

A pele humana, devido à sua especial organização histológica e funcional, pode ser modelada através de um conjunto de compartimentos, através dos quais se movimenta o Oxigénio. Este é proveniente dos vasos microcirculatórios que perfundem a pele e é detectado à superfície através de metodologias não invasivas, como a gasometria transcutânea (Figura 2.1).

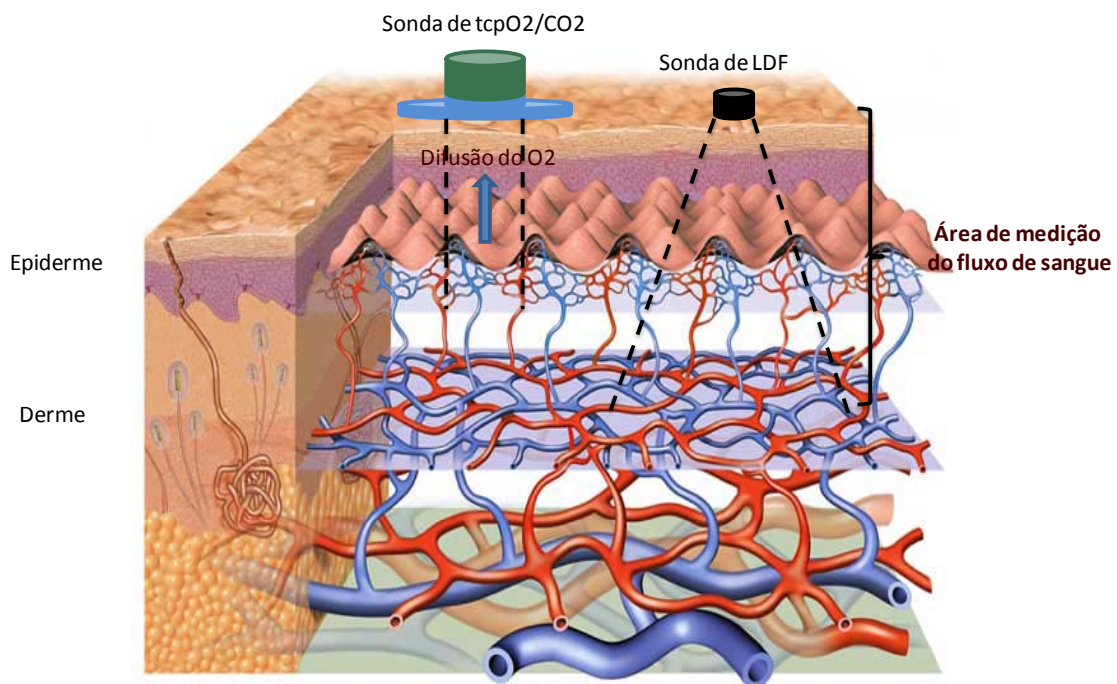


Figura 2.1 - Esquema da organização da microcirculação cutânea. Estão também representados os principais sistemas de medição (gasometria transcutânea – tcpO₂/CO₂ e Fluxometria por Laser Doppler – LDF), bem como as áreas e profundidades atingidas com estes sistemas. (Adaptado da referência [107])

Durante as manobras dinâmicas de alteração da perfusão e de modificação do Oxigénio disponível, a taxa de Oxigénio vai variando desde a rede capilar até ao tecido, e deste novamente para a rede capilar e para o exterior. Estes movimentos permitem conceptualizar um sistema matemático compartimental que pode ser utilizado para a obtenção de um índice da função vascular normal, que actue como indicador da progressão de possíveis alterações fisiopatológicas. Nestes modelos compartimentais, a alteração da disponibilidade do Oxigénio, seja por alteração da perfusão ou pela inspiração do mesmo, permite visualizar uma ou duas

velocidades distintas de alteração, que estão directamente dependentes da perfusão existente e da saturação da Hemoglobina (uma medida directamente relacionada com a disponibilidade do Oxigénio no tecido analisado).

Assim podem considerar-se III fases distintas (Figura 2.2):

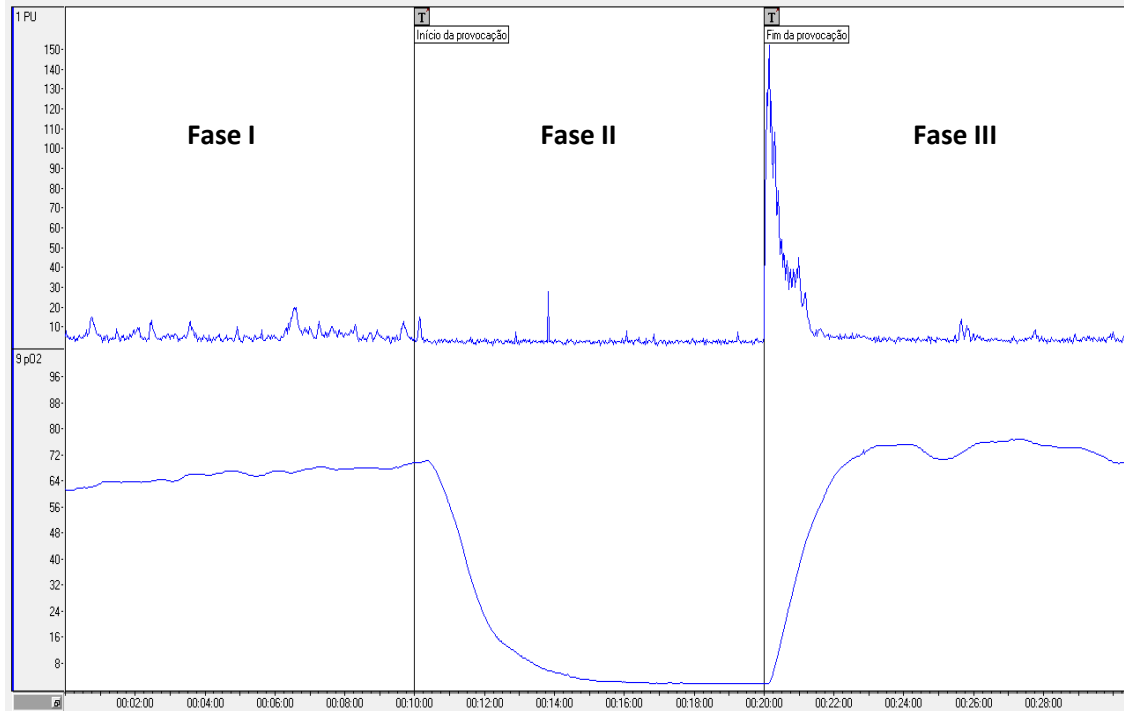


Figura 2.2 - Modificações do Fluxo de sangue (PU) e do Oxigénio transcutâneo (pO₂) durante uma experiência de redução da perfusão. Estão indicadas as 3 fases sequenciais de avaliação. Dados in vivo de um voluntário.

Fase I – Correspondente aos valores basais de tcpO₂. Existe um equilíbrio entre a quantidade de Oxigénio que chega ao tecido e aquela que é detectada à superfície. O sinal de tcpO₂ é constante.

Fase II – Correspondente à fase em que ocorre a variação da quantidade de Oxigénio, seja por diminuição da perfusão (e conseqüente diminuição da chegada de gás ao local), seja por aumento da inspiração do Oxigénio (por aumento da disponibilidade deste, através da inspiração de uma atmosfera de 100% de Oxigénio). Esta fase envolve uma diminuição ou um aumento do valor de Oxigénio detectado que está principalmente dependente da capacidade vascular do tecido. Se a experiência envolver uma diminuição da perfusão, então o sinal irá diminuir com uma velocidade dependente do estado do sistema vascular (figura 2.2). Se a experiência envolver a inspiração de 100% de Oxigénio, observa-se um aumento do Oxigénio

transcutâneo dependente da chegada deste gás ao local periférico, bem como da capacidade do tecido em consumir e captar esse Oxigénio.

Fase III – Correspondente à retoma aos valores basais. Neste caso, a retoma aos valores de perfusão normais ou a inspiração de uma atmosfera normal provoca, respectivamente, um aumento ou diminuição dos valores de Oxigénio transcutâneo, dependente também da função vascular.

Esta evolução torna possível o desenvolvimento de uma rotina de análise de dados assente em modelos de 1 ou 2 compartimentos, baseado na primeira lei de difusão de Fick, através do qual se podem obter parâmetros destinados à descrição e avaliação quantitativa do Oxigénio transcutâneo.

2. Modelos

Os modelos compartimentais assumidos, aproximados à concepção estrutural da pele humana, não são mais do que uma simplificação da realidade e, em particular, dos complexos mecanismos envolvidos nas transferências de Oxigénio que ocorrem no indivíduo. Por este motivo, os compartimentos que constam do modelo não têm uma relação anatómica bem definida, representando antes espaços homogéneos com diferentes conteúdos de Oxigénio e com diferentes relações com o meio exterior.

2.1. Modelo monocompartimental

2.1.1. Modelo

Este modelo compartimental considera que existe um único compartimento que envolve um aporte constante de sangue que contém Oxigénio (modelado por meio de um processo de ordem 0 - K_0). A saída de Oxigénio desse compartimento corresponde ao Oxigénio que é consumido e àquele que sai do espaço de amostragem, sendo regulado por um processo de primeira ordem (K_e) (Figura 2.3).

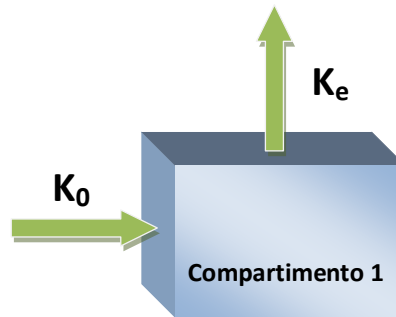


Figura 2.3 - Modelo monocompartmental adoptado para descrever os movimentos do Oxigénio na pele humana (k_0 – Constante de ordem zero que regula a entrada de Oxigénio no compartimento; k_e – Constante de primeira ordem que regula a saída do Oxigénio do compartimento).

Em condições basais, a entrada de Oxigénio é sensivelmente semelhante à sua saída, pelo que os valores detectados de Oxigénio transcutâneo são constantes.

Durante as experiências de redução da perfusão, a modificação do aporte de sangue acarreta uma modificação da quantidade de Oxigénio disponível. Este facto leva a que exista um consumo de Oxigénio maior do que aquele que entra e, portanto, o gás que é eliminado é superior ao que chega, levando a um decaimento exponencial do valor de Oxigénio.

Durante as experiências que envolvem o aumento da inspiração de Oxigénio, existe um aumento da % de saturação da hemoglobina e, portanto, um aumento da quantidade de Oxigénio que chega ao compartimento. Esta alteração faz com que o Oxigénio que chega ao local seja superior ao que é eliminado/consumido. Os valores de Oxigénio vão aumentar.

Durante a fase de estabilização, os valores de Oxigénio vão regularizar, e as entradas de Oxigénio vão, novamente, equiparar-se às saídas/consumo do Oxigénio.

2.1.2. Dedução matemática

Nestas condições, a equação diferencial que rege os movimentos do Oxigénio no compartimento é a seguinte:

$$\frac{dM}{dt} = k_0 - k_e M, \quad \text{equação 2.1}$$

em que:

$$\frac{dM}{dt}$$

- corresponde à variação do Oxigénio transcutâneo em função do tempo

K_0 – corresponde à constante cinética que regula o aporte constante de Oxigénio ao local

K_e – corresponde à constante cinética que regula a eliminação do Oxigénio do tecido

passando para o domínio de Laplace, \mathcal{L}

$$s\overline{M} = \frac{k_0}{s} - k_e \overline{M} \quad \text{equação 2.2}$$

resolvendo a equação 2.2 obtém-se sucessivamente:

$$s\overline{M} + k_e \overline{M} = \frac{k_0}{s}$$

$$(s + k_e)\overline{M} = \frac{k_0}{s}$$

$$s(s + k_e)\overline{M} = k_0$$

$$\overline{M} = \frac{k_0}{s(s + k_e)} \quad \text{equação 2.3}$$

Passando a equação 2.3 novamente para o domínio do tempo e resolvendo com a expansão de Heaviside, \mathcal{L}^{-1} , obtém-se:

$$M(t) = \frac{k_0}{k_e} e^{0t} + \frac{k_0}{-k_e} e^{-k_e t} \quad \text{equação 2.4}$$

$$M(t) = \frac{k_0}{k_e} - \frac{k_0}{k_e} e^{-k_e t} \quad \text{equação 2.4}$$

$$M(t) = \frac{k_0}{k_e} \left(1 - e^{-k_e t} \right) \quad \text{equação 2.5}$$

A equação 2.5 representa a equação final do modelo de 1 compartimento com perfusão.

Para este modelo assume-se que o valor de $tcpO_2$ está dependente do fluxo de sangue que chega ao território analisado. A sua evolução resulta do fluxo de sangue, que é uma função das variações da perfusão que vão ocorrendo em cada momento experimental. A curva de evolução do Oxigénio durante estas experiências resulta do somatório de todas as variações da perfusão e da aplicação da fórmula do modelo de 1 compartimento às várias situações (Figura 2.4).

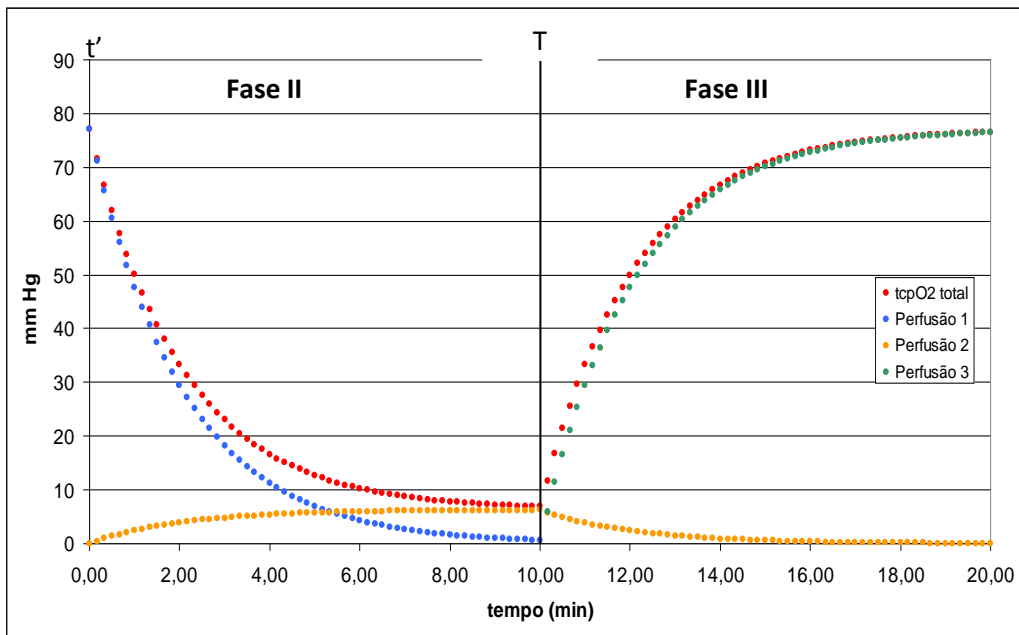


Figura 2.4 - Representação gráfica da evolução da influência das várias perfusões no valor final de $tcpO_2$. Apenas estão considerados as Fases II e III. Dados simulados com o modelo monocompartimental

Assim:

Na Fase I, considera-se que existe uma perfusão que atingiu o estado estacionário e em que, como consequência, o valor de O_2 também se encontra estabilizado. A equação 2.5 em t' tende para ∞ e, portanto, a expressão $(e^{-k_e t'})$ tende para zero, pelo que a equação toma a forma de:

$$M(t) = \frac{k_{o_1}}{k_e}$$

equação 2.6

Na Fase II, a perfusão inicial é interrompida (perfusão 1) e o valor de Oxigénio decai de forma exponencial, sem nunca atingir o valor de zero. Isto sugere o início de uma nova perfusão (perfusão 2), que mantém um fluxo de sangue baixo e o consequente nível de Oxigénio diferente de zero. (Se o valor de Oxigénio chegasse a zero, tal significaria que a perfusão inicial era a única que controlava os valores do gás).

A equação que rege a paragem da primeira perfusão toma a forma de :

$$M(t) = \frac{k_{0_1}}{k_e} \cdot e^{-k_e t}$$

equação 2.7

A equação que rege a segunda perfusão é:

$$M(t) = \frac{k_{0_2}}{k_e} (1 - e^{-k_e t})$$

equação 2.8

Na Fase III, a segunda perfusão é interrompida no momento T, a primeira perfusão está já próxima de zero e inicia-se uma nova perfusão (perfusão 3), que tende para um novo valor basal, que pode ser igual ou diferente do valor inicial, e que faz elevar os valores de Oxigénio.

A equação que rege a paragem das perfusões anteriores é:

$$M(t) = \left[\frac{k_{0_1}}{k_e} \cdot e^{-k_e T} + \frac{k_{0_2}}{k_e} (1 - e^{-k_e T}) \right] \cdot e^{-k_e (t-T)}$$

equação 2.9

A equação que rege a nova perfusão é:

$$M(t) = \frac{k_{0_3}}{k_e} (1 - e^{-k_e (t-T)})$$

equação 2.10

Desta forma temos que:

$$M(t) = \begin{cases} \text{Para } t < T \Rightarrow \frac{k_{01}}{k_e} \cdot e^{-k_e t} + \frac{k_{02}}{k_e} (1 - e^{-k_e t}) \\ \text{Para } t > T \Rightarrow \left[\frac{k_{01}}{k_e} \cdot e^{-k_e T} + \frac{k_{02}}{k_e} (1 - e^{-k_e T}) \right] \cdot e^{-k_e (t-T)} + \frac{k_{03}}{k_e} (1 - e^{-k_e (t-T)}) \end{cases}$$

equação 2.11

Se admitirmos que em III a contribuição da 1ª perfusão já é nula, podemos simplificar a equação 2.11, ficando o modelo:

$$M(t) = \begin{cases} \text{Para } t < T \Rightarrow \frac{k_{01}}{k_e} \cdot e^{-k_e t} + \frac{k_{02}}{k_e} (1 - e^{-k_e t}) \\ \text{Para } t > T \Rightarrow \left[\frac{k_{02}}{k_e} (1 - e^{-k_e T}) \right] \cdot e^{-k_e (t-T)} + \frac{k_{03}}{k_e} (1 - e^{-k_e (t-T)}) \end{cases}$$

equação 2.12

Nesta fase devemos admitir que:

A taxa de entrada de uma substância num tecido perfundido é dada por Q.Ca, sendo:

Q – Fluxo de sangue (vol/tempo)

Ca – Concentração arterial (massa/vol)

O valor de Q poderá ser aproximado através do valor medido por LDF, tendo em atenção que existe um factor de conversão que transforma o valor de LDF no verdadeiro valor do fluxo, ao qual chamámos γ .

O valor de Ca poderá ser aproximado ao valor de tcpO_2 no tempo zero ($\text{tcpO}_{2(0)}$), uma vez que será este valor que representará a pressão parcial de Oxigénio que chega realmente ao tecido, quando o sistema está em repouso.

LDF₁, LDF₂, LDF₃: são os valores do fluxo de sangue da microcirculação durante as perfusões 1, 2 e 3, respectivamente.

I: é um parâmetro multiplicativo. Este parâmetro não tem um significado fisiológico discernível, por esta razão não é utilizado na análise, servindo apenas para a construção do modelo.

Ke: é a constante de saída de Oxigénio. Esta constante rege os movimentos de Oxigénio na pele durante as várias perfusões. É o parâmetro mais relevante desta análise. Permite avaliar a resposta da microcirculação face aos vários estímulos em estudo (redução ou aumento da perfusão). O valor numérico desta constante de velocidade permite comparar as diversas situações fisiológicas.

A equação final do modelo de 1 compartimento é assim obtida se:

- Passamos a trabalhar em concentrações $C(t)$ (que é uma aproximação ao valor real de tcpO_2)

- Se: $k_0 = Q \cdot Ca = \text{LDF} \times \text{tcpO}_{2(0)}$, e se :

$$- I = \frac{\gamma \cdot \text{tcpO}_{2(0)}}{k_e \cdot V}$$

$$\text{tcpO}_2(t) = \begin{cases} \text{Para } t < T \Rightarrow \text{LDF}_1 \cdot I \cdot e^{-k_e t} + \text{LDF}_2 \cdot I (1 - e^{-k_e t}) \\ \text{Para } t > T \Rightarrow [\text{LDF}_2 \cdot I (1 - e^{-k_e T})] e^{-k_e (t-T)} + \text{LDF}_3 \cdot I (1 - e^{-k_e (t-T)}) \end{cases}$$

equação 2.13

A equação 2.13 representa a equação final para o modelo de 1 compartimento com perfusão, durante experiências de alteração da perfusão semelhantes às descritas na figura 2.4.

O parâmetro K_e , correspondendo a uma constante cinética de primeira ordem, pode ser transformado no respectivo tempo de semi-vida ($t_{1/2e}$) segundo a fórmula seguinte:

$$t_{1/2e} = \frac{\text{LN}(2)}{k_e}$$

equação 2.14

Nestas condições:

$t_{1/2e}$: tempo necessário para que os valores de eliminação do tcpO_2 se reduzam para metade ou aumentem para o dobro, conforme estejamos em experiências que reduzam a perfusão e, conseqüentemente, o aporte de O_2 , ou aumentem a perfusão e, conseqüentemente, o aporte de O_2 .

2.1.3. Análise dimensional

A análise dimensional do modelo serve, fundamental, para verificar se o modelo matemático encontrado, que é teórico, se mostra coerente com as unidades medidas pelo sistema de medição do Oxigénio transcutâneo:

Sabendo que:

$$K_0 = Q \cdot C_a = LDF \cdot tcpO_2, \text{ que}$$

$$K_e = t^{-1}, \text{ que}$$

$$\gamma = \text{Unidades de Fluxo} \cong V \cdot t^{-1}$$

$$LDF = \text{adimensional}, \text{ que}$$

$$I = \frac{\gamma \cdot tcpO_2}{K_e \cdot V}, \text{ e que}$$

$$tcpO_2 = mmHg$$

Então, para $t < T$ a equação:

$$tcpO_2 = LDF_1 \cdot I \cdot e^{-K_e t} + LDF_2 \cdot I \cdot (1 - e^{-K_e t})$$

em termos de unidades fica:

$$mmHg = \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \quad \text{equação 2.15}$$

simplificando obtemos:

$$mmHg = + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \quad \text{equação 2.16}$$

simplificando ainda mais obtemos:

$$mmHg = mmHg \quad \text{equação 2.17}$$

confirmando desta forma que a equação inicial estava correcta.

Para $t > T$, a equação 2.13 tem que conter todos os termos das várias perfusões, para que as unidades se mantenham coerentes.

Desta forma a equação passa a assumir a forma:

$$tcpO_2 = (LDF_1 \cdot I \cdot e^{-K_e T}) e^{-K_e \cdot (t-T)} + \\ + [LDF_2 \cdot I \cdot (1 - e^{-K_e T})] \cdot e^{-K_e \cdot (t-T)} + LDF_3 \cdot I \cdot (1 - e^{-K_e \cdot (t-T)})$$

equação 2.17

em termos de unidades fica:

$$mmHg = \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + \\ + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1}$$

equação 2.18

simplificando obtemos:

$$mmHg = + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \\ mmHg = + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V}$$

$$mmHg = mmHg$$

equação 2.19

logo, sabendo que as unidades de tcpO₂ são mmHg, conclui-se que o modelo matemático que descreve a evolução do Oxigénio transcutâneo se revela coerente com as medições realizadas pelo sistema de medição.

2.2. Modelo bi-compartimental

2.2.1. Modelo

Este modelo compartimental é o mais complexo dos representados no presente trabalho. Considera dois compartimentos, em que um compartimento (compartimento 1) é constantemente perfundido através de uma perfusão regida por uma constante de ordem zero (K_0). Este compartimento será aproximado ao espaço microcirculatório. Os movimentos de distribuição do Oxigénio realizam-se para um compartimento periférico (Compartimento 2), correspondente ao tecido, e para o exterior, sendo regidos por constantes de primeira ordem (K_{12} e K_{10}). O compartimento 2 também proporciona algum retorno do Oxigénio não consumido (regido pela contante K_{21}), pese embora com pouca expressão. Nestas condições, todo o Oxigénio é distribuído para o Compartimento 1 e, depois, para o compartimento 2 (Figura 2.5).

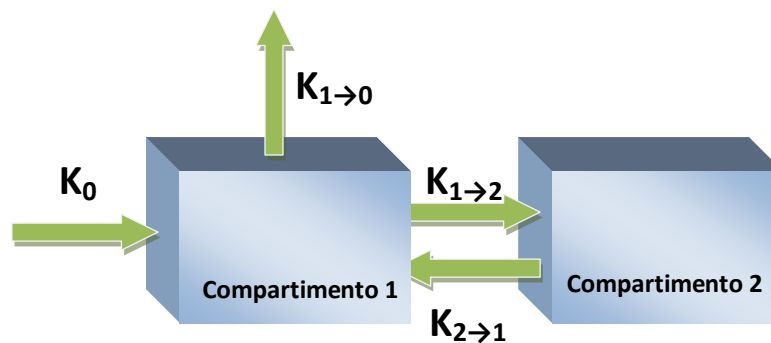


Figura 2.5 - Modelo bicompartimental adoptado para descrever os movimentos do Oxigénio na pele humana (k_0 – Constante de ordem zero que regula a entrada de Oxigénio no compartimento; k_{10} , k_{12} e k_{21} – Constantes cinéticas de primeira ordem que regulam os movimentos do Oxigénio entre compartimentos e a sua saída para o exterior).

Em condições basais, a entrada de Oxigénio é sensivelmente semelhante à sua saída, tendo em conta a distribuição entre os dois compartimentos, pelo que os valores detectados de O_2 transcutâneo são constantes.

Durante as experiências de redução da perfusão, a modificação do aporte de sangue acarreta uma modificação da quantidade de Oxigénio disponível. Este facto leva a que, no compartimento 2, se verifique um consumo de Oxigénio maior do que aquele que entra no compartimento 1 e, por conseguinte, o Oxigénio que desaparece deste compartimento é superior ao que chega, conduzindo a um decaimento exponencial do valor do gás.

Durante as experiências que envolvem o aumento da inspiração de Oxigénio, verifica-se um aumento da % de saturação da hemoglobina e, portanto, um aumento da quantidade de Oxigénio que chega ao compartimento. Esta alteração faz com que o Oxigénio que chega ao local seja superior ao que é eliminado/consumido. Os valores de Oxigénio vão, assim, aumentar no compartimento de amostragem.

Durante a fase de estabilização, os valores de Oxigénio vão regularizar e as entradas de Oxigénio vão, novamente, equiparar-se às saídas/consumo do Oxigénio.

2.2.2. Dedução matemática

Nestas condições, a equação diferencial que rege os movimentos de Oxigénio no compartimento é a seguinte:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_1}{dt} = k_0 + k_{21}M_2 - k_{12}M_1 - k_{10}M_1 \\ \frac{dM_2}{dt} = k_{12}M_1 - k_{21}M_2 \end{array} \right. \Leftrightarrow$$

equação 2.20

Sendo que

$\frac{dM_1}{dt}$ a variação do tcpO₂ no compartimento 1 (central ou de amostragem)

$\frac{dM_2}{dt}$ a variação do tcpO₂ no compartimento 2 (periférico)

passando para o domínio de Laplace, \mathcal{L} e resolvendo sucessivamente obtém-se:

$$\left\{ \begin{array}{l} s\overline{M}_1 - M_1(0) = \frac{k_0}{s} + k_{21}\overline{M}_2 - k_{12}\overline{M}_1 - k_{10}\overline{M}_1 \\ s\overline{M}_2 - M_2(0) = k_{12}\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 \end{array} \right. \Leftrightarrow$$

equação 2.21

$$\begin{cases} s\overline{M}_1 = \frac{k_0}{s} + k_{21}\overline{M}_2 - (k_{12} + k_{10})\overline{M}_1 \\ s\overline{M}_2 = k_{12}\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 \end{cases} \quad \begin{matrix} E_1=(k_{10}+k_{12}) \\ \Leftrightarrow \end{matrix}$$

$$\begin{cases} s\overline{M}_1 = \frac{k_0}{s} + k_{21}\overline{M}_2 - E_1\overline{M}_1 \\ s\overline{M}_2 = k_{12}\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 \end{cases} \quad \Leftrightarrow$$

$$\begin{cases} s\overline{M}_1 + E_1\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 = \frac{k_0}{s} \\ s\overline{M}_2 - k_{12}\overline{M}_1 + k_{21}\overline{M}_2 = 0 \end{cases} \quad \Leftrightarrow$$

$$\begin{cases} (s + E_1)\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 = \frac{k_0}{s} \\ -k_{12}\overline{M}_1 + (s + k_{21})\overline{M}_2 = 0 \end{cases} \quad \Leftrightarrow$$

equação 2.22

Passando para a forma de matriz e resolvendo a mesma em ordem ao compartimento 1:

$$\begin{vmatrix} s + E_1 & -k_{21} \\ -k_{12} & s + k_{21} \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \overline{M}_1 \\ \overline{M}_2 \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \frac{k_0}{s} \\ 0 \end{vmatrix}$$

equação 2.23

$$\Delta = (s + E_1)(s + k_{21}) - (-k_{21})(-k_{12}) \Leftrightarrow$$

$$\Delta = (s + E_1)(s + k_{21}) - k_{21}k_{12} \Leftrightarrow$$

equação 2.24

$$\Delta_1 = \left(\frac{k_0}{s} \right) (s + k_{21}) - (0)(-k_{21}) \Leftrightarrow$$

equação 2.25

$$\Delta_1 = \left(\frac{k_0}{s} \right) (s + k_{21})$$

equação 2.26

Juntando as equações 2.24 e 2.26 e simplificando sucessivamente:

$$\overline{M}_1 = \frac{\frac{k_0}{s}(s + k_{21})}{(s + E_1)(s + k_{21}) - k_{21}k_{12}} \Leftrightarrow$$

equação 2.27

$$\overline{M}_1 = \frac{\frac{k_0}{s}(s + k_{21})}{s^2 + sk_{21} + E_1s + E_1k_{21} - k_{21}k_{12}} \Leftrightarrow$$

$$\overline{M}_1 = \frac{\frac{k_0}{s}(s + k_{21})}{s^2 + sk_{21} + (k_{10} + k_{12})s + (k_{10} + k_{12})k_{21} - k_{21}k_{12}} \Leftrightarrow$$

$$\overline{M}_1 = \frac{\frac{k_0}{s}(s + k_{21})}{s^2 + (k_{21} + k_{10} + k_{12})s + k_{10}k_{21} + k_{12}k_{21} - k_{21}k_{12}} \Leftrightarrow$$

$$\overline{M}_1 = \frac{\frac{k_0}{s}(s + k_{21})}{s^2 + (k_{21} + k_{10} + k_{12})s + k_{10}k_{21}}$$

equação 2.28

O denominador da equação 2.28 encontra-se na forma $as^2 + bs + c$. Nesta forma, as equações são resolvidas pela fórmula resolvente, em que as raízes são calculadas pela equação 2.29:

$$raízes(\alpha, \beta) = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

equação 2.29

E tomam a forma:

$$(s + \alpha)(s + \beta) \quad \text{equação 2.30}$$

Deste modo, pode admitir-se que:

$$as^2 + bs + c = (s + \alpha)(s + \beta)$$

logo:

$$s^2 + (k_{21} + k_{10} + k_{12})s + k_{10}k_{21} = (s + \alpha)(s + \beta) \quad \text{equação 2.31}$$

Desenvolvendo o 2º termo da equação 2.31:

$$(s + \alpha)(s + \beta) = s^2 + (\alpha + \beta)s + \alpha\beta$$

Ficamos com uma nova identidade:

$$s^2 + (k_{21} + k_{10} + k_{12})s + k_{10}k_{21} = s^2 + (\alpha + \beta)s + \alpha\beta$$

Que igualando nos diz que:

$$s^2 = s^2$$

$$(k_{21} + k_{10} + k_{12}) = (\alpha + \beta), \text{ e}$$

$$k_{10}k_{21} = \alpha\beta$$

Substituindo o denominador da equação 2.28 pela equação 2.30 obtém-se:

$$\overline{M}_1 = \frac{\frac{k_0}{s}(s + k_{21})}{(s + \alpha)(s + \beta)} \Leftrightarrow$$

$$\overline{M}_1 = \frac{k_0(s + k_{21})}{s(s + \alpha)(s + \beta)} \Leftrightarrow$$

$$\overline{M}_1 = \frac{k_0s + k_0k_{21}}{s(s + \alpha)(s + \beta)}$$

equação 2.32

Consultando as tabelas de transformadas de Laplace e de antitransformadas, verifica-se que equações na forma:

$$\frac{(As + B)}{s(s + a)(s + b)}$$

passam para o domínio do tempo na forma de:

$$\frac{B}{ab} - \frac{Aa - B}{a(a - b)}e^{-at} + \frac{Ab - B}{b(a - b)}e^{-bt}$$

equação 2.33

Aplicando a equação 2.33 à equação 2.32 obtém-se:

$$M_1(t) = \frac{k_0k_{21}}{\alpha\beta} - \frac{k_0\alpha - k_0k_{21}}{\alpha(\alpha - \beta)}e^{-\alpha t} + \frac{k_0\beta - k_0k_{21}}{\beta(\alpha - \beta)}e^{-\beta t}$$

equação 2.34

No sentido de tornar esta equação mais simples de implementar, interessa transformá-la numa equação do tipo $Ae^{-at} + Be^{-bt}$.

Deste modo, a simplificação da equação 2.34 pode ser realizada da seguinte forma, sabendo que $\alpha\beta = k_{10}k_{21}$:

$$M_1(t) = \frac{k_0k_{21}}{k_{10}k_{21}} - \frac{k_0\alpha - k_0k_{21}}{\alpha(\alpha - \beta)}e^{-\alpha t} + \frac{k_0\beta - k_0k_{21}}{\beta(\alpha - \beta)}e^{-\beta t} \Leftrightarrow$$

$$M_1(t) = \frac{k_0}{k_{10}} - \frac{k_0\alpha - k_0k_{21}}{\alpha(\alpha - \beta)}e^{-\alpha t} + \frac{k_0\beta - k_0k_{21}}{\beta(\alpha - \beta)}e^{-\beta t}$$

equação 2.35

Interessa, pois, passar o termo $\frac{k_o}{k_{10}}$ para a forma A+B. Desta forma,

multiplicando os dois termos por $(\beta - \alpha)$ obtém-se:

$$\begin{aligned} \frac{k_o}{k_{10}} &= \frac{\left(\frac{k_o}{k_{10}}\right)(\beta - \alpha)}{(\beta - \alpha)} = \frac{\left(\frac{k_o\beta}{k_{10}}\right) - \left(\frac{k_o\alpha}{k_{10}}\right)}{(\beta - \alpha)} = \\ &= \frac{\left(\frac{k_o\beta}{k_{10}}\right) - k_0 - \left(\frac{k_o\alpha}{k_{10}}\right) + k_0}{(\beta - \alpha)} = \\ &= \frac{\left(\frac{k_o\beta}{k_{10}}\right) - k_0}{(\beta - \alpha)} - \frac{\left(\frac{k_o\alpha}{k_{10}}\right) - k_0}{(\beta - \alpha)} \Leftrightarrow \end{aligned}$$

equação 2.36

Multiplicando o primeiro termo da equação 2.36 por α e o segundo por β , obtém-se:

$$\begin{aligned} &\frac{\left(\frac{k_o\beta}{k_{10}}\right) - k_0}{(\beta - \alpha)} - \frac{\left(\frac{k_o\alpha}{k_{10}}\right) - k_0}{(\beta - \alpha)} = \\ &= \frac{\left(\frac{k_o\beta\alpha}{k_{10}}\right) - k_0\alpha}{\alpha(\beta - \alpha)} - \frac{\left(\frac{k_o\alpha\beta}{k_{10}}\right) - k_0\beta}{\beta(\beta - \alpha)} = \\ &= \frac{\left(\frac{k_o\alpha\beta}{k_{10}}\right) - k_0\alpha}{\alpha(\beta - \alpha)} + \frac{\left(\frac{k_o\alpha\beta}{k_{10}}\right) - k_0\beta}{\beta(\alpha - \beta)} \Leftrightarrow \end{aligned}$$

equação 2.37

(para ficar com a mesma forma dos termos com exponenciais) e sabendo que $\alpha\beta = K_{10}K_{21}$:

$$\frac{\left(\frac{k_o\alpha\beta}{k_{10}}\right) - k_0\alpha}{\alpha(\beta - \alpha)} + \frac{\left(\frac{k_o\alpha\beta}{k_{10}}\right) - k_0\beta}{\beta(\alpha - \beta)} =$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\left(\frac{k_o k_{10} k_{21}}{k_{10}}\right) - k_o \alpha}{\alpha(\beta - \alpha)} + \frac{\left(\frac{k_o k_{10} k_{21}}{k_{10}}\right) - k_o \beta}{\beta(\alpha - \beta)} = \\
 &= \frac{k_o k_{21} - k_o \alpha}{\alpha(\beta - \alpha)} + \frac{k_o k_{21} - k_o \beta}{\beta(\alpha - \beta)} \Leftrightarrow
 \end{aligned}$$

Logo:

$$\frac{k_o}{k_{10}} = \frac{k_o k_{21} - k_o \alpha}{\alpha(\beta - \alpha)} + \frac{k_o k_{21} - k_o \beta}{\beta(\alpha - \beta)} \quad \text{equação 2.38}$$

Substituindo a equação 2.38 na equação 2.35 obtém-se:

$$M_1(t) = \frac{k_o k_{21} - k_o \alpha}{\alpha(\beta - \alpha)} + \frac{k_o k_{21} - k_o \beta}{\beta(\alpha - \beta)} - \frac{k_o \alpha - k_o k_{21}}{\alpha(\alpha - \beta)} e^{-\alpha t} + \frac{k_o \beta - k_o k_{21}}{\beta(\alpha - \beta)} e^{-\beta t} \Leftrightarrow$$

$$M_1(t) = \frac{k_o(k_{21} - \alpha)}{\alpha(\beta - \alpha)} + \frac{k_o(\alpha - k_{21})}{\alpha(\beta - \alpha)} e^{-\alpha t} + \frac{k_o(k_{21} - \beta)}{\beta(\alpha - \beta)} + \frac{k_o(\beta - k_{21})}{\beta(\alpha - \beta)} e^{-\beta t} \Leftrightarrow$$

$$M_1(t) = \frac{k_o(k_{21} - \alpha)}{\alpha(\beta - \alpha)} - \frac{k_o(k_{21} - \alpha)}{\alpha(\beta - \alpha)} e^{-\alpha t} + \frac{k_o(k_{21} - \beta)}{\beta(\alpha - \beta)} - \frac{k_o(k_{21} - \beta)}{\beta(\alpha - \beta)} e^{-\beta t} \Leftrightarrow$$

$$M_1(t) = \frac{k_o(k_{21} - \alpha)}{\alpha(\beta - \alpha)} (1 - e^{-\alpha t}) + \frac{k_o(k_{21} - \beta)}{\beta(\alpha - \beta)} (1 - e^{-\beta t}) \quad \text{equação 2.39}$$

Simplificando a equação 2.39 de acordo com as expressões seguintes obtém-se :

$$A = \frac{k_o(k_{21} - \alpha)}{\alpha(\beta - \alpha)} \text{ e } B = \frac{k_o(k_{21} - \beta)}{\beta(\alpha - \beta)}$$

$$M_1(t) = A(1 - e^{-\alpha t}) + B(1 - e^{-\beta t}) \quad \text{equação 2.40}$$

A equação 2.40 representa, assim, a equação final de um modelo de 2 compartimentos com perfusão

Também para este modelo se admite que existem diversas perfusões a ocorrerem ao mesmo tempo. A curva da evolução do Oxigénio durante estas experiências resulta do somatório de todas as perfusões e da aplicação da fórmula do modelo de 2 compartimentos às várias situações (Figura 2.6).

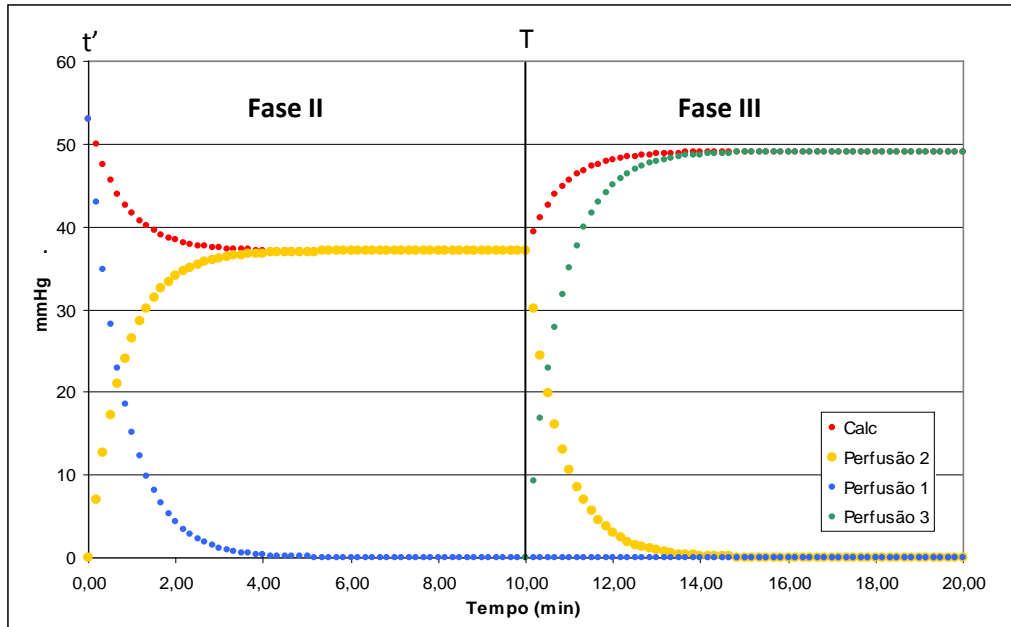


Figura 2.6 - Representação gráfica da evolução das influência das várias perfusões no valor final de $tcpO_2$. Apenas estão considerados as Fases II e III. Dados simulados com o modelo bicompartimental.

No início, considera-se que existe uma perfusão que atingiu o estado estacionário e, como consequência, o valor de Oxigénio também se encontra estabilizado. A equação 2.40 em que t' tende para ∞ e, portanto, as expressões $(e^{-\alpha t'})e(e^{-\beta t'})$ tendem para zero, pelo que a equação assume a forma de:

$$M(t) = A_1 + B_1 \quad \text{equação 2.41}$$

Na fase II, a perfusão inicial pára e o valor de Oxigénio decai de forma exponencial, sem nunca atingir o valor de zero. Isto sugere o início de uma nova perfusão que mantém um fluxo de sangue baixo e o conseqüente nível de O_2 diferente de zero. (Se o valor de O_2 chegasse a zero, significaria que a perfusão inicial seria a única a manter os valores de O_2).

A equação que rege a paragem da perfusão inicial toma a forma de:

$$M(t) = A_1 e^{-\alpha t} + B_1 e^{-\beta t} \quad \text{equação 2.42}$$

A equação que rege a nova perfusão é:

$$M(t) = A_2(1 - e^{-\alpha t}) + B_2(1 - e^{-\beta t}) \quad \text{equação 2.43}$$

Na fase III, a segunda perfusão pára, a 1ª perfusão está já próximo de zero, e inicia-se uma nova perfusão que tende para um novo valor basal, que pode ser igual ou diferente do valor inicial, e que faz elevar os valores de O_2 .

A equação que rege a paragem das perfusões 1 e 2 é:

$$M(t) = [A_2(2 - e^{\alpha T})]e^{-\alpha(t-T)} + [B_2(1 - e^{\beta T})]e^{-\beta(t-T)} \quad \text{equação 2.44}$$

A equação que rege a nova perfusão é:

$$M(t) = A_3(1 - e^{-\alpha(t-T)}) + B_3(1 - e^{-\beta(t-T)}) \quad \text{equação 2.45}$$

Deste modo, temos que:

$$M(t) = \begin{cases} \text{Para } t < T \Rightarrow A_1 e^{-\alpha t} + B_1 e^{-\beta t} + A_2(1 - e^{-\alpha t}) + B_2(1 - e^{-\beta t}) \\ \text{Para } t > T \Rightarrow [A_2(1 - e^{-\alpha T})]e^{-\alpha(t-T)} + [B_2(1 - e^{-\beta T})]e^{-\beta(t-T)} + A_3(1 - e^{-\alpha(t-T)}) + B_3(1 - e^{-\beta(t-T)}) \end{cases}$$

equação 2.46

Por forma a obter a equação final, mostra-se necessário, ainda, admitir que:

- Passamos a trabalhar em concentrações $C(t)$ (que é uma aproximação ao valor real do tcpO_2)
- $k_0 = Q \cdot \text{Ca} = \text{LDF} \times \text{tcpO}_{2(0)}$
- Existe um factor de conversão que chamámos γ e que converte os valores de LDF em verdadeiros valores de fluxo através da relação $(Q = \gamma \cdot \text{LDF})$

$$A = \frac{\gamma \cdot \text{LDF} \cdot \text{tcpO}_{2(0)} \cdot (k_{21} - \alpha)}{\alpha(\beta - \alpha)} \quad \text{e} \quad B = \frac{\gamma \cdot \text{LDF} \cdot \text{tcpO}_{2(0)} \cdot (k_{21} - \beta)}{\beta(\alpha - \beta)}$$

$$tcpO_2(t) = \begin{cases} \text{Para } t < T \Rightarrow LDF_1 A e^{-\alpha t} + LDF_1 B e^{-\beta t} + LDF_2 A (1 - e^{-\alpha t}) + LDF_2 B (1 - e^{-\beta t}) \\ \text{Para } t > T \Rightarrow [LDF_2 A (1 - e^{-\alpha T})] e^{-\alpha(t-T)} + [LDF_2 B (1 - e^{-\beta T})] e^{-\beta(t-T)} + LDF_3 A (1 - e^{-\alpha(t-T)}) + LDF_3 B (1 - e^{-\beta(t-T)}) \end{cases}$$

equação 2.47

A equação 2.47 é, assim, a equação final para o modelo de 2 compartimentos com perfusão durante experiências de alteração da perfusão semelhantes às descritas na figura 2.6

Nesta equação os parâmetros correspondem a:

LDF₁, LDF₂, LDF₃: Valores do fluxo de sangue da microcirculação durante as perfusões 1, 2 e 3 respectivamente.

A e B: Parâmetros multiplicativos comuns às duas exponenciais. Estes parâmetros não tem um significado fisiológico discernível, por esta razão não são utilizados na análise.

α: Constante de distribuição de Oxigénio. Traduz a distribuição inicial do Oxigénio da microcirculação para o tecido.

β: Constante de eliminação de Oxigénio. Rege os movimentos de Oxigénio na pele durante as várias perfusões. É o parâmetro mais relevante desta análise. Permite avaliar a resposta da microcirculação face aos vários estímulos em estudo (redução ou aumento da perfusão). O valor numérico desta constante de velocidade permite comparar as várias situações fisiológicas.

O parâmetro β, correspondendo a uma constante cinética de primeira ordem, pode ser transformado no respectivo tempo de semi-vida ($t_{1/2\beta}$), segundo a fórmula seguinte:

$$t_{1/2\beta} = \frac{LN(2)}{k_\beta}$$

equação 2.48

Nestas condições,

$t_{1/2\beta}$ — tempo necessário para que os valores de $tcpO_2$ se reduzam para metade ou aumentem para o dobro, conforme estejamos em experiências que reduzam a perfusão ou o aporte de O_2 ou aumentem a perfusão ou o aporte de O_2 .

2.2.3. Análise dimensional

A análise dimensional do modelo é fundamental para verificar se o modelo matemático encontrado – que é teórico – é coerente com as unidades medidas pelo sistema de medição do Oxigénio transcutâneo:

Sabendo que:

$$K_0 = Q \cdot C_a = LDF \cdot tcpO_2, \text{ que}$$

$$K_{21} = K_{12} = \alpha = \beta = t^{-1}, \text{ que}$$

$$\gamma = \text{Unidades de Fluxo} \cong V \cdot t^{-1}$$

$$LDF = \text{adimensional}, \text{ que}$$

$$tcpO_2 = mmHg$$

$$A = \frac{\gamma \cdot tcpO_2 (K_{21} - \alpha)}{\alpha \cdot (\beta - \alpha) \cdot V} = \frac{V \cdot mmHg \cdot (t^{-1} - t^{-1})}{t \cdot t^{-1} (t^{-1} - t^{-1}) \cdot V} = \frac{V \cdot mmHg}{t \cdot t^{-1} \cdot V}, \text{ que}$$

$$B = \frac{\gamma \cdot tcpO_2 (K_{21} - \beta)}{\beta \cdot (\alpha - \beta) \cdot V} = \frac{V \cdot mmHg \cdot (t^{-1} - t^{-1})}{t \cdot t^{-1} (t^{-1} - t^{-1}) \cdot V} = \frac{V \cdot mmHg}{t \cdot t^{-1} \cdot V}, \text{ e que}$$

$$tcpO_2 = mmHg$$

Então, para $t < T$ a equação:

$$tcpO_2 = LDF_1 \cdot A \cdot e^{-\alpha t} + LDF_1 \cdot B \cdot e^{-\beta t} + LDF_2 \cdot A \cdot (1 - e^{-\alpha t}) + LDF_2 \cdot B \cdot (1 - e^{-\beta t})$$

Em termos de unidades fica :

$$mmHg = \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} +$$

$$+ \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1}$$

equação 2.49

simplificando obtemos:

$$mmHg = mmHg \cdot t^{-1} + mmHg \cdot t^{-1} + mmHg - mmHg \cdot t^{-1} + \\ + mmHg - mmHg \cdot t^{-1}$$

$$mmHg = +mmHg + mmHg$$

Deste modo, obtemos:

$$mmHg = mmHg$$

Para $t > T$, não se pode simplificar a primeira perfusão para que as unidades se mantenham coerentes. Deste modo, a equação passa a ter a forma:

$$tcp_{O_2} = (LDF_1 \cdot A \cdot e^{-\alpha T}) \cdot e^{-\alpha(t-T)} + (LDF_1 \cdot B \cdot e^{-\beta T}) \cdot e^{-\beta(t-T)} + \\ + [LDF_2 \cdot A \cdot (1 - e^{-\alpha T})] \cdot e^{-\alpha(t-T)} + [LDF_2 \cdot B \cdot (1 - e^{-\beta T})] \cdot e^{-\beta(t-T)} + \\ + LDF_3 \cdot A \cdot (1 - e^{-\alpha(t-T)}) + LDF_3 \cdot B \cdot (1 - e^{-\beta(t-T)})$$

em termos de unidades fica:

$$mmHg = \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} - \\ - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \\ - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1} + \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} - \frac{V}{t} \cdot \frac{mmHg}{t^{-1} \cdot V} \cdot t^{-1}$$

Equação 2.50

simplificando obtemos:

$$mmHg = mmHg \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + mmHg \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + mmHg \cdot t^{-1} - \\ - mmHg \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + mmHg \cdot t^{-1} - mmHg \cdot t^{-1} \cdot t^{-1} + mmHg - mmHg \cdot t^{-1} \\ + mmHg - mmHg \cdot t^{-1}$$

simplificando obtemos:

$$mmHg = +mmHg \cdot t^{-1} + mmHg \cdot t^{-1} + mmHg - mmHg \cdot t^{-1} + mmHg - mmHg \cdot t^{-1}$$

$$mmHg = mmHg + mmHg$$

simplificando obtemos:

$$mmHg = mmHg$$

logo, sabendo que as unidades de tcpO₂ são mmHg, conclui-se que o modelo matemático que descreve a evolução do Oxigênio transcutâneo é coerente com as medições realizadas pelo sistema de medição.

2.3. Modelos de LDF

2.3.1. Modelo simples de LDF

A modelação do LDF, obtida simultaneamente com a modelação do Oxigênio, é essencial para um correcto ajustamento do modelo de tcpO₂. Neste sentido, a evolução do fluxo de sangue durante os vários protocolos segue um modelo simples de perturbação das condições basais durante um período de tempo, seguido de retoma a essas condições iniciais. Este sistema poderá ser representado genericamente pela figura seguinte (Figura 2.7):

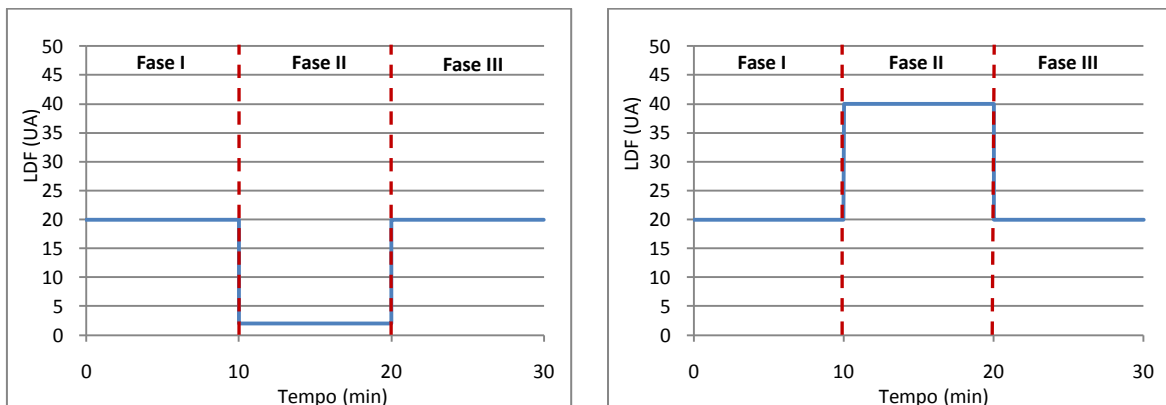


Figura 2.7 - Representação gráfica do modelo simples de variação do fluxo de sangue durante os vários protocolos. As três fases correspondem aos vários momentos do protocolo (Fase I: Valores basais; Fase II: Alteração/perturbação do sistema; Fase III: Retoma aos valores basais)

Nestas condições, o modelo obtido é um modelo de recta em que o declive é zero ($m=0$):

$$LDF(t) = \begin{cases} m \cdot t + LDF_1, & \text{para } t \leq 10 \\ m \cdot t + LDF_2, & \text{para } 10 > t \leq 20 \\ m \cdot t + LDF_3, & \text{para } t > 20 \end{cases} \quad \text{equação 2.51}$$

2.3.2. Modelo de Hiperémia

Durante as experiências de redução da perfusão, verifica-se, ainda, uma alteração autónoma do fluxo de sangue, designada por hiperémia reactiva. Este fenómeno consiste numa forma extrema de autoregulação do fluxo de sangue, que ocorre devido à libertação de mediadores locais como o Óxido Nítrico (NO) e a bradiquinina^[8, 88]. Em situações de redução do aporte de sangue ao tecido, ocorre um estímulo para a libertação destes mediadores que provocam uma vasodilatação das arteríolas. Quando se retoma a perfusão, o sangue flui livremente por estes vasos, provocando um aumento brusco do fluxo (Figura 2.8)

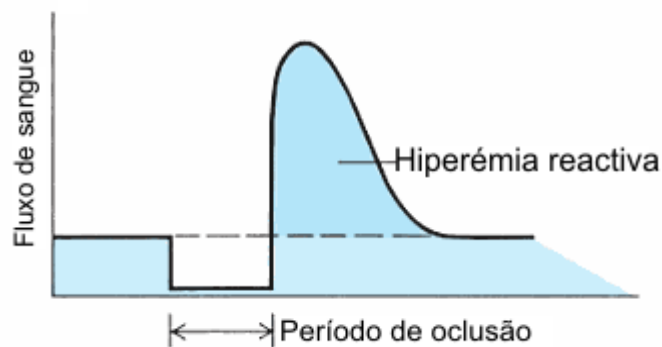


Figura 2.8 - Resposta do Fluxo de sangue após uma oclusão – Hiperémia reactiva (Adaptado da referência [108])

Nestas condições a variação do fluxo de sangue comporta-se previsivelmente como um sistema de 2 compartimentos com bólus I.V., em que o Compartimento 1 corresponde à macrocirculação e o compartimento 2 corresponde à microcirculação (Figura 2.9).

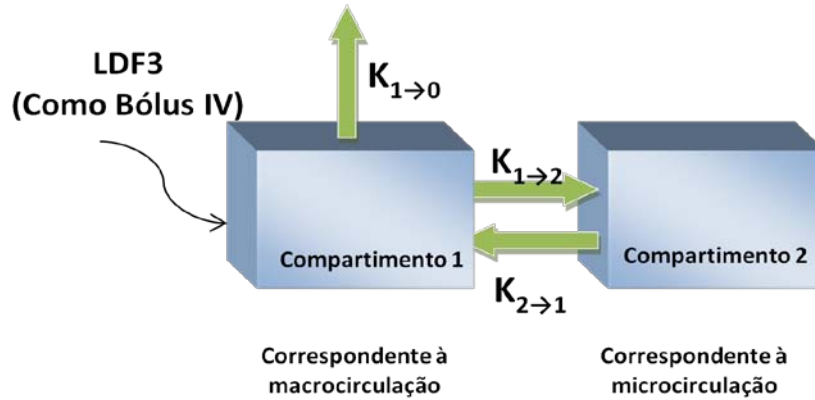


Figura 2.9 - Modelo bicompartimental adoptado para descrever a variação do fluxo de sangue na pele humana, após experiências de redução da perfusão e com indução de hiperémia reactiva. (k - Constantes cinéticas de primeira ordem que regulam as variações do fluxo entre compartimentos).

2.3.3. Dedução matemática

Nestas condições, a equação diferencial que rege a variação do fluxo de sangue no compartimento 2 é a seguinte:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_1}{dt} = +k_{21}M_2 - k_{12}M_1 - k_{10}M_1 \\ \frac{dM_2}{dt} = k_{12}M_1 - k_{21}M_2 \end{array} \right. \Leftrightarrow \text{equação 2.52}$$

passando para o domínio de Laplace, \mathcal{L}

$$\left\{ \begin{array}{l} s\overline{M}_1 - M_1(0) = +k_{21}\overline{M}_2 - k_{12}\overline{M}_1 - k_{10}\overline{M}_1 \\ s\overline{M}_2 - M_2(0) = k_{12}\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 \end{array} \right. \Leftrightarrow \text{equação 2.53}$$

Na equação 2.53 $M_1(0)=LDF_3$ e $M_2(0)=0$, logo obtém-se:

$$\begin{cases} s\overline{M}_1 - LDF_3 = -k_{10}\overline{M}_1 + k_{21}\overline{M}_2 - k_{12}\overline{M}_1 \\ s\overline{M}_2 = k_{12}\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 \end{cases} \Leftrightarrow$$

$$\begin{cases} s\overline{M}_1 + k_{10}\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 + k_{12}\overline{M}_1 = LDF_3 \\ s\overline{M}_2 - k_{12}\overline{M}_1 + k_{21}\overline{M}_2 = 0 \end{cases} \Leftrightarrow$$

$$\begin{cases} (s + k_{10} + k_{12})\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 = LDF_3 \\ -k_{12}\overline{M}_1 + (s + k_{21})\overline{M}_2 = 0 \end{cases} \begin{matrix} E_1=k_{10}+k_{12} \\ \Leftrightarrow \end{matrix}$$

$$\begin{cases} (s + E_1)\overline{M}_1 - k_{21}\overline{M}_2 = LDF_3 \\ -k_{12}\overline{M}_1 + (s + k_{21})\overline{M}_2 = 0 \end{cases} \Leftrightarrow$$

equação 2.54

Resolvendo a matriz em ordem ao compartimento 2, obtém-se:

$$\begin{vmatrix} s + E_1 & -k_{21} \\ -k_{12} & s + k_{21} \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \overline{M}_1 \\ \overline{M}_2 \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} LDF_3 \\ 0 \end{vmatrix}$$

equação 2.55

$$\Delta = (s + E_1)(s + k_{21}) - (-k_{21})(-k_{12}) \Leftrightarrow$$

$$\Delta = (s + E_1)(s + k_{21}) - k_{21}k_{12}$$

equação 2.56

$$\Delta_2 = (s + E_1)(0) - (-k_{12})LDF_3 \Leftrightarrow$$

$$\Delta_2 = (k_{12})LDF_3$$

equação 2.57

Juntando a equação 2.56 e 2.57 obtém-se:

$$\frac{\Delta_2}{\Delta} = \frac{(k_{12})LDF_3}{(s + E_1)(s + k_{21}) - k_{21}k_{12}} \Leftrightarrow$$

$$\frac{\Delta_2}{\Delta} = \frac{(k_{12})LDF_3}{s^2 + sk_{21} + E_1s + E_1k_{21} - k_{12}k_{21}} \Leftrightarrow$$

$$\frac{\Delta_2}{\Delta} = \frac{(k_{12})LDF_3}{s^2 + (k_{21} + E_1)s + (k_{10} + k_{21})k_{21} - k_{12}k_{21}} \Leftrightarrow$$

$$\frac{\Delta_2}{\Delta} = \frac{(k_{12})LDF_3}{s^2 + (k_{21} + E_1)s + k_{10}k_{21} + k_{12}k_{21} - k_{12}k_{21}} \Leftrightarrow$$

$$\frac{\Delta_2}{\Delta} = \frac{(k_{12})LDF_3}{s^2 + (k_{21} + E_1)s + k_{10}k_{21}} \Leftrightarrow$$

$$\overline{M}_2 = \frac{(k_{12})LDF_3}{s^2 + (k_{21} + E_1)s + k_{10}k_{21}} \Leftrightarrow$$

equação 2.58

O denominador da equação anterior está na forma $as^2 + bs + c$. Nesta forma, as equações são resolvidas pela fórmula resolvente, em que as raízes são calculadas pela equação:

$$raízes(\alpha, \beta) = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

E assumem a forma:

$$(s + \alpha)(s + \beta)$$

Deste modo, pode admitir-se que: $as^2 + bs + c = (s + \alpha)(s + \beta)$, logo:

$$s^2 + (k_{21} + k_{10} + k_{12})s + k_{10}k_{21} = (s + \alpha)(s + \beta)$$

equação 2.59

Desenvolvendo o 2º termo da equação 2.59:

$$(s + \alpha)(s + \beta) = s^2 + (\alpha + \beta)s + \alpha\beta$$

Ficamos com uma nova identidade:

$$s^2 + (k_{21} + k_{10} + k_{12})s + k_{10}k_{21} = s^2 + (\alpha + \beta)s + \alpha\beta$$

Que igualando nos diz que:

$$s^2 = s^2,$$

$$(k_{21} + k_{10} + k_{12}) = (\alpha + \beta) \text{ e}$$

$$k_{10}k_{21} = \alpha\beta$$

Substituindo na equação 2.58 obtém-se:

$$\overline{M}_2 = \frac{k_{12}LDF_3}{(s + \alpha)(s + \beta)} \Leftrightarrow$$

equação 2.60

Consultando as tabelas de transformadas de Laplace e de antitransformadas, verifica-se que equações na forma:

$$\frac{1}{(s + a)(s + b)}$$

passam para o domínio do tempo na forma de:

$$\frac{1}{b - a}(e^{-at} - e^{-bt})$$

Aplicando à equação 2.60 obtém-se:

$$M_2(t) = \frac{k_{12}LDF3}{(\alpha - \beta)} e^{-\beta t} + \frac{k_{12}LDF3}{(-\alpha + \beta)} e^{-\alpha t} \quad \text{equação 2.61}$$

No sentido de tornar esta equação mais simples de implementar, interessa transformá-la numa equação do tipo $LDF \cdot I \cdot (e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t})$. Também nesta equação, a forma $M_2(t)$ corresponde à variação do fluxo ao longo do tempo ($LDF(t)$).

Assim sendo, a simplificação da equação 2.61 pode ser realizada da seguinte forma:

$$\begin{aligned} LDF(t) &= \frac{k_{12}LDF3}{(\alpha - \beta)} e^{-\beta t} - \frac{k_{12}LDF3}{(\alpha - \beta)} e^{-\alpha t} \Leftrightarrow \\ LDF(t) &= \frac{k_{12}LDF3}{(\alpha - \beta)} (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \Leftrightarrow \\ LDF(t) &= LDF3 \frac{k_{12}}{(\alpha - \beta)} (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \quad I = \frac{k_{12}}{(\alpha - \beta)} \Leftrightarrow \\ LDF(t) &= LDF3 I (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \end{aligned} \quad \text{equação 2.62}$$

A equação 2.62 representa, assim, a equação final para um modelo de 2 compartimentos com bólus IV.

O modelo mais simples de variação do fluxo de sangue (equação 2.51) passa, assim, a ter a seguinte forma (equação 2.63), quando aplicado a experiências de redução da perfusão com indução de hiperémia:

$$LDF(t) = \left\{ \begin{array}{l} m \cdot t + LDF_1, \text{ para } t \leq 10 \\ m \cdot t + LDF_2, \text{ para } 10 > t \leq 20 \\ LDF_3 \cdot I \cdot (e^{-\beta \cdot t} - e^{-\alpha \cdot t}), \text{ para } t > 20 \end{array} \right\} \quad \text{equação 2.63}$$

2.3.4. Análise dimensional

Também aqui, a análise dimensional do modelo é fundamental para verificar se o modelo matemático encontrado – que é teórico – se mostra coerente com as unidades medidas pelo sistema de medição do fluxo:

Sabendo que:

$$k = t^{-1}, \text{ que}$$

$LDF = LDF_3 = BPU$ (Unidades de perfusão sanguínea) , e que

$$I = \frac{k_{12}}{\alpha - \beta},$$

Então, a equação 2.62:

$$LDF(t) = LDF_3 \cdot I \cdot (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t})$$

em termos de unidades fica:

$$BPU = BPU \cdot \frac{t^{-1}}{t^{-1} - t^{-1}} \cdot (t^{-1} - t^{-1})$$

simplificando obtemos:

$$BPU = BPU \cdot \frac{t^{-1}}{t^{-1} - t^{-1}} \cdot (t^{-1}) - \frac{t^{-1}}{t^{-1} - t^{-1}} \cdot (t^{-1}) \quad \text{equação 2.64}$$

sabendo que os termos iguais se anulam obtemos:

$$BPU = BPU$$

Logo, sabendo que as unidades de LDF são BPU, conclui-se que o modelo matemático, que descreve a evolução do fluxo microcirculatório durante uma hiperémia reactiva, é coerente com as medições realizadas pelo sistema de medição.

3. Procedimentos experimentais (Manobras dinâmicas)

As manobras dinâmicas que foram realizadas, assentam em quatro tipos de procedimentos diferentes. Um procedimento que tem por base uma modificação postural, dois protocolos que reduzem a perfusão (por alteração da postura, ou por oclusão arterial). Finalmente, um protocolo de administração de Oxigénio a 100%.

Todos estes protocolos estão baseados em 3 momentos de avaliação:

- Fase I: Registo basal
- Fase II: Provocação
- Fase III: Retoma ao registo basal

Os protocolos só se iniciam quando os valores de todas as variáveis estiverem estabilizados.

3.1. Alteração da postura

Neste procedimento, os voluntários serão sujeitos a uma modificação de postura, com o objectivo de colocar em evidência as várias dependências hemodinâmicas.

O procedimento inicia-se com o voluntário sentado (Figura 2.10).

Fase I: Registo basal de todas as variáveis durante 10 minutos.

Fase II: Modificação postural consistindo na elevação de um dos membros inferiores, fazendo um ângulo de 90º com a posição anterior. O membro será mantido nesta posição de forma passiva durante 10 minutos.

Fase III: Retoma à postura inicial com manutenção nessa posição durante mais 10 minutos.

O procedimento é sequencial, o que determina que as variáveis analisadas são registadas em contínuo durante os 30 minutos que dura o procedimento experimental.



Figura 2.10 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de alteração da postura. O voluntário inicia a experiência sentado, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período eleva o membro inferior mantendo-se nessa posição durante 10 min. No final o voluntário volta à posição inicial.

3.2. Baixa perfusão

3.2.1. Por alteração da postura

Neste procedimento, verifica-se uma modificação da postura, o que origina modificações hemodinâmicas mais drásticas. O objectivo deste protocolo é reduzir temporariamente a perfusão, produzindo-se seguidamente uma hiperémia reactiva.

O procedimento inicia-se com o voluntário em decubito (Figura 2.11).

Fase I: Registo basal de todas as variáveis durante 10 minutos.

Fase II: Modificação postural consistindo na elevação de um dos membros inferiores, fazendo um ângulo de 45° com a posição anterior. O membro será também aqui mantido de forma passiva durante 10 minutos. Este procedimento induz uma redução significativa da perfusão do membro inferior. O membro será mantido nesta posição durante 10 minutos.

Fase III: Retoma à postura inicial com manutenção nessa posição durante mais 10 minutos. A retoma a esta posição induz uma hiperémia reactiva no membro. A medição será realizada durante 10 minutos.

O procedimento é sequencial, o que determina que as variáveis analisadas são registadas em contínuo durante os 30 minutos que dura o procedimento experimental.

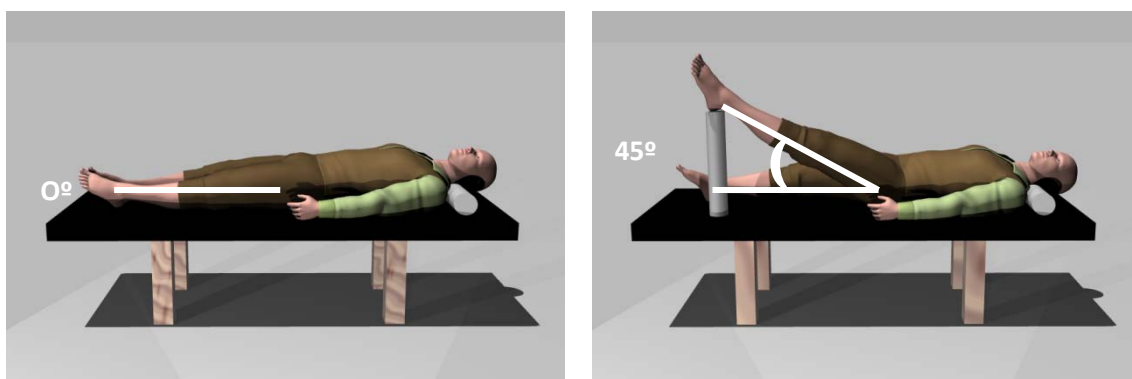


Figura 2.11 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. O voluntário inicia a experiência em decubito, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período eleva passivamente o membro inferior a 45° mantendo-se nessa posição durante 10 min. No final o voluntário volta à posição inicial.

3.2.2. Por redução da perfusão (hiperémia reactiva)

Neste procedimento, pretende-se a indução de uma hiperémia reactiva significativa, de forma a observar como o fluxo de sangue e o Oxigénio podem chegar ao tecido.

O procedimento inicia-se com o voluntário sentado (Figura 2.12).

Fase I: Registo basal de todas as variáveis durante 10 minutos.

Fase II: Oclusão suprasistólica (aproximadamente a 200 mmHg) realizada ao nível do tornozelo com uma manga de pressão. Esta alteração provoca a oclusão das artérias tibial posterior e anterior e da artéria peroneal, que fazem a perfusão do pé. Provoca-se assim um período reduzido de isquémia que permite calcular o tempo de consumo do Oxigénio. A medição será realizada durante 10 minutos.

Fase III: Abertura da manga de pressão com a conseqüente indução da hiperémia reactiva e retoma da perfusão do membro a valores normais. O desaparecimento da isquémia permite também calcular o tempo de redistribuição do Oxigénio. A medição será realizada durante 10 minutos.



Figura 2.12 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. O voluntário inicia a experiência sentado, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período provoca-se a oclusão arterial com uma manga de pressão. A oclusão mantém-se durante 10 min. No final abre-se a manga provocando uma hiperémia reactiva.

3.3. Alteração do consumo de Oxigénio

Neste procedimento, pretende-se confirmar a viabilidade metabólica do tecido, através da capacidade de captar este gás, quando se respira uma atmosfera de 100% de Oxigénio.

O procedimento inicia-se com o voluntário sentado (Figura 2.13).

Fase I: Registo basal de todas as variáveis durante 10 minutos.

Fase II: Os voluntários inspiram uma atmosfera saturada de Oxigénio (100%) durante 10 minutos. Para garantir este nível de Oxigénio utiliza-se uma máscara própria (AGA MedControl 45 Bar Oxygen Demand Valve), que impede a entrada de ar não proveniente da botija. Este processo satura a hemoglobina, garantindo que a biodisponibilidade do Oxigénio no tecido é máxima. Qualquer alteração do nível de Oxigénio é proveniente da capacidade de distribuição do mesmo no tecido, sendo, por isso, função da viabilidade do tecido. A medição será realizada durante 10 minutos.

Fase III: Paragem da inspiração da atmosfera saturada de Oxigénio. A medição será realizada durante 10 minutos.



Figura 2.13 - Esquema do procedimento adoptado no procedimento de alteração do consumo de Oxigénio. O voluntário inicia a experiência sentado, mantendo-se nesta posição durante 10 min. Após esse período inicia a ventilação numa atmosfera de Oxigénio 100% durante 10 min. No final o voluntário volta a respirar uma atmosfera normal.

4. Voluntários

As manobras dinâmicas foram realizadas em voluntários humanos, incluídos no estudo de acordo com critérios de inclusão resumidos na tabela 2.1. Todos os voluntários responderam ao questionário de inclusão. Foi também avaliada a pressão arterial no braço e no tornozelo, utilizando um sistema de medição automático (Tensoval Confort, Hartmann). Para todos os voluntários, calculou-se o índice tornozelo/braço^[24], sendo este um indicador de doença vascular periférica.

Tabela 2.1 - Critérios de inclusão definidos

Critérios de inclusão / Questionário clínico
Voluntários saudáveis
Idades entre os 18-35 anos e entre os 40-65 anos
Normotensos
Não fumadores
Sem doença vascular declarada, avaliada por questionário
Sem doença cutânea visível por avaliação clínica
Sem doença metabólica conhecida, avaliada por questionário
Não tomar qualquer medicação vasoactiva
Não tomar qualquer outra medicação nos 2 dias anteriores à realização dos procedimentos experimentais
Não ter nenhuma outra patologia específica relacionada ou não com a microcirculação
Não ter tido febre nos 5 dias anteriores à realização dos procedimentos experimentais
Não ter bebido café, chá ou bebidas estimulantes que afectem a microcirculação no dia anterior à realização dos procedimentos experimentais
Não ter aplicado productos tópicos que potencialmente afectem a microcirculação no dia anterior à realização dos procedimentos experimentais

Todos os voluntários deram o seu consentimento informado, tendo toda a parte experimental respeitados os princípios enunciados na Declaração de Helsinquia, bem como de todas as emendas subsequentes^[109].

Definiram-se três grupos de avaliação:

Grupo I: Homens e mulheres saudáveis, com idades compreendidas entre os 18 e os 35 anos

Grupo II: Homens e mulheres saudáveis, com idades compreendidas entre os 40 e os 65 anos

Grupo III: Doentes com Doença Vascular Periférica com idades compreendidas entre os 50 e os 75 anos. Os critérios para a inclusão destes doentes são os mesmos que os anteriores, excepto no que respeita às patologias e medicação. Todos estes voluntários apresentam diabetes com doença vascular periférica diagnosticada, avaliada através de questionário.

As características demográficas dos voluntários encontram-se resumidas na tabela 2.2

Tabela 2.2 - Características demográficas dos voluntários utilizados em todas as experiências realizadas

	Grupo I		Grupo II		Grupo III	
	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres
Idade média	20.3	22.2	51.8	50.0	63	73,5
Máximo	24	35	65	56	64	82
Mínimo	19	19	41	40	62	70
n	15	15	12	12	2	4

	Grupo I (Total)	Grupo II (Total)	Grupo III (Total)
Idade média	21.2	50.8	70
Máximo	35	65	82
Mínimo	19	40	62
n	30	24	6

4.1. Colocação das sondas

Todas as sondas de medição foram colocadas num membro inferior, aleatoriamente definido.

Os locais de colocação das diversas sondas foram os seguintes:

Sonda de tcpO₂/CO₂: Zona anterior do pé ao nível da raiz do segundo dedo.

Sonda de PTEA: Zona anterior do pé ao nível da raiz do 3º e 4º dedo.

Sonda de LDF: Zona posterior do segundo dedo.

Sonda do Oxímetro: Colocada no primeiro dedo.

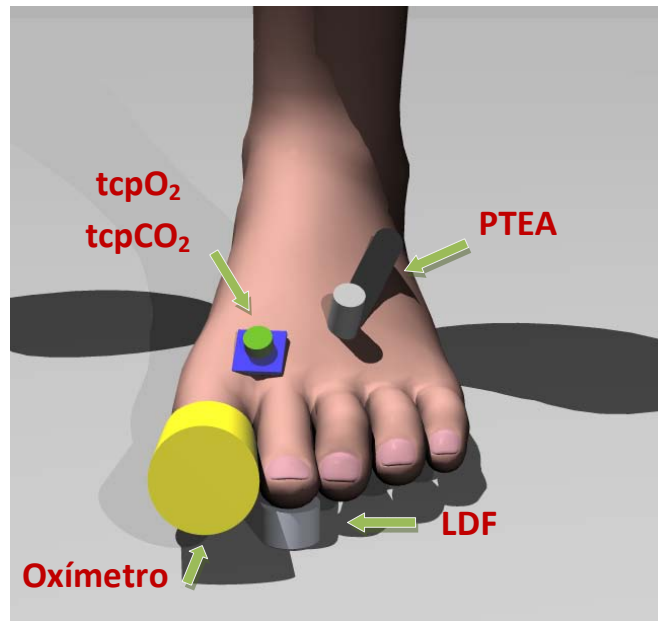


Figura 2.14 - Esquema da colocação das diversas sondas no membro inferior dos voluntários. Todos os voluntários colocaram as sondas no mesmo local independentemente dos vários procedimentos experimentais realizados.

5. Metodologias de medição

5.1. Fluxometria por Laser Doppler

A Fluxometria por Laser Doppler (LDF) é uma técnica, simples e validada, de avaliação do fluxo de sangue da microcirculação dos órgãos analisados^[110]. Esta técnica utiliza um princípio físico que se encontra em todos os fenómenos harmónicos, denominado Efeito Doppler (em homenagem a Christian Johann Doppler que sugeriu este efeito). O efeito Doppler indica que as ondas de luz se comportam como as ondas de som quando atingem objectos em movimento, provocando uma alteração da sua frequência. A aplicação deste princípio à superfície dos tecidos permite a quantificação dos desvios produzidos e, deste modo, uma medida do volume de líquido deslocado ^[49].

No sistema de Fluxometria por Laser Doppler utilizado (Sistema LDPM Periflux PF5000 com dois canais de Laser PF 5010, Perimed, Suécia), o tecido é iluminado por um laser monocromático de 780 nm (infravermelho próximo), que leva a luz até ao tecido através de um cabo de fibra óptica. Uma fibra semelhante recebe a luz reflectida e não reflectida e transporta-a até um fotodetector. Esta luz consiste num componente resultante da interacção com as estruturas estáticas da pele, e um outro componente composto por um espectro de várias frequências, resultante da interacção com os glóbulos vermelhos circulantes. O sinal final é extraído pela potência e frequência dos desvios Doppler^[110] (Figura 2.15).

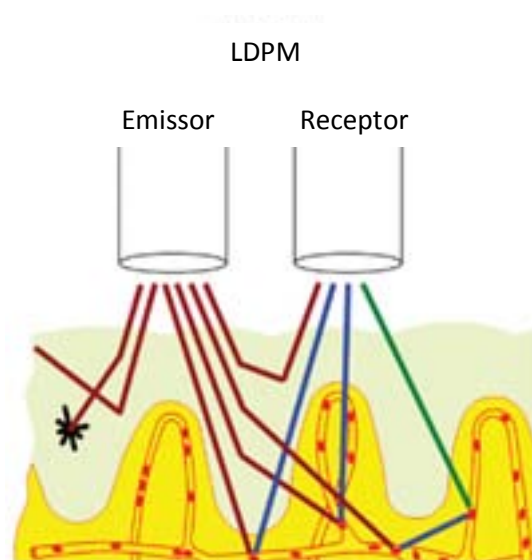
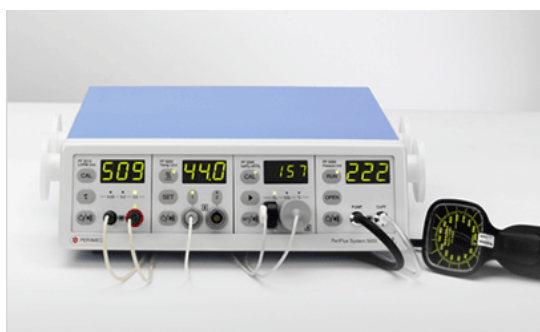


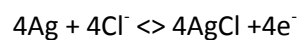
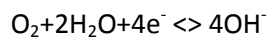
Figura 2.15 - Sistema de monitorização do Fluxo de Sangue por Fluxometria por Laser Doppler (LDPM). Esquerda: Sistema Periflux PF5000 (Perimed, Suécia). Direita: Representação esquemática do método de medição. Figuras obtidas no website do fabricante (www.perimed.se)

As unidades de medição são arbitrárias(UA ou BPU – Unidades de Perfusão de Sangue), uma vez que é impossível determinar o volume de tecido iluminado, bem como a sua profundidade. Alguns autores sugerem que um laser de 780 nm consegue iluminar uma área de pele de 1 mm³. Nestas condições, a profundidade de medição situa-se entre os 0,5 e 1,2 mm dependendo do tipo de tecido avaliado^[49].

5.2. Pressão parcial de Oxigénio transcutâneo (tcpO₂)

O valor da Pressão parcial do Oxigénio transcutâneo (tcpO₂) representa a pressão parcial de Oxigénio, medida por um electrodo colocado à superfície da pele. Quando a pele sofre um ligeiro aquecimento até 43-44°C, o valor de tcpO₂ aproxima-se da Pressão arterial de Oxigénio (PaO₂). Se os valores de PaO₂ forem normais, então qualquer modificação na tcpO₂ sofre a influência de factores locais ou periféricos (fluxo de sangue na pele, difusibilidade do Oxigénio, respiração celular).

O método de medição do equipamento utilizado (Periflux PF5000, Sistema tcpO₂/tcpCO₂ PF5040, Perimed, Suécia) baseia-se numa técnica polarográfica utilizando um eléctrodo de Clark, consistindo num cátodo de platina, um ânodo de Prata e um electrólito (KCl, p.ex), coberto por uma membrana hidrofóbica (Teflon, polistireno, etc.) apenas permeável a gases. Quando é aplicada uma determinada voltagem, entre o cátodo e o ânodo, ocorrem as seguintes reacções^[111]:



Esta corrente é proporcional à concentração de Oxigénio. Para se converter a corrente gerada em unidades de pressão, o sistema tem que ser calibrado com uma gás calibrador cuja concentração em O₂ é conhecida. Para se gerar o aquecimento necessário à difusão do O₂ na pele, o sistema apresenta um elemento de aquecimento que permite temperaturas entre os 27 e os 45°C. Após um período de estabilização entre os 15-20 min, necessário para se atingir a vasodilatação máxima, o sistema reflecte apenas as alterações do Oxigénio na pele (Figura 2.16).

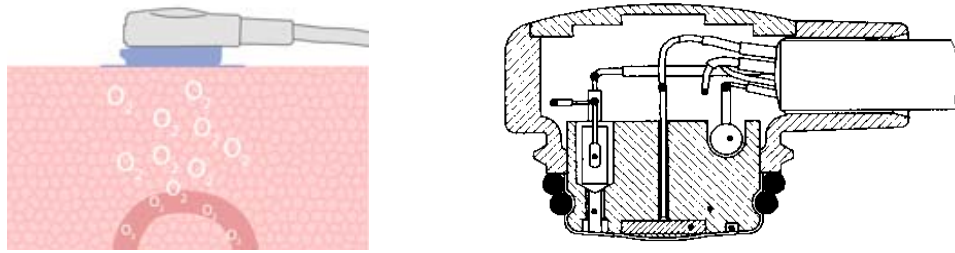


Figura 2.16 - Sistema de medição do Oxigénio transcutâneo. Esquerda: Representação esquemática do método de medição. Direita: Esquema do interior da sonda mostrando não só o elemento de medição do Oxigénio, mas também o eléctro de medição do tcpCO₂. Figuras obtidas no website do fabricante (www.perimed.se)

5.3. Pressão parcial de CO₂ transcutâneo (tcpCO₂)

A monitorização transcutânea do CO₂ avalia a pressão parcial do CO₂ num pequeno compartimento fora da pele. Este compartimento encontra-se normalmente repleto com um liquido de contacto (uma solução electrolítica), que equilibra rapidamente com a tensão do CO₂ na camada exterior da epiderme^[112]. Nestas condições, a medição obtida reflecte a Pressão arterial de Dióxido de Carbono (paCO₂) do sangue capilar. Existem alguns factores que interferem nesta medição, nomeadamente o fluxo de sangue capilar, a temperatura e a produção de CO₂ pela própria pele. Para que os valores de fluxo de sangue sejam suficientemente elevados para se estabelecer uma correcta correlação com os valores de PaCO₂ arteriais, mostra-se necessário induzir uma certa vasodilatação, por aquecimento. A elevação da temperatura induz a necessidade de existir uma correcção para a temperatura normal da pele pelo que a correcção aplicada é:

$$P_{CO_2}(37) = P_{CO_2}(t) \frac{1}{10^{\alpha(t-37)}}$$

Finalmente, é também necessário aplicar a correcção para a quantidade de CO₂ produzida no tecido (0.5 kPa). Assim, o valor de tcPCO₂ é o produto do valor de paCO₂(37) pela correcção da temperatura ($\alpha=0.7129$ para medições realizadas a 44°C), adicionado da contribuição metabólica (0.5 kPa).

O sistema de medição utilizado (Periflux PF5000, Sistema tcpO₂/tcpCO₂ PF5040, Perimed, Suécia), utiliza um eléctrodo de Stow-Severinghaus. Este sistema consiste num eléctrodo de pH de vidro, um electrodo de referência de Ag/AgCl e um elemento de aquecimento. Uma membrana semi-permeável ao CO₂ reveste o electrodo (Figura 2.16).

Durante a monitorização dos valores de tcpCO_2 , o CO_2 libertado pela pele difunde através do líquido de contacto e da membrana semi-permeável, entrando na solução electrolítica. O CO_2 reage com a água formando ácido carbónico (H_2CO_3) que se dissocia gerando iões H^+ e bicarbonato (HCO_3^-). Após esta dissociação, o pH do electrólito altera-se sendo detectado pelo eléctrodo de pH.

5.4. Perda Trâns-Epidérmica de Água (PTEA)

A evaporimetria tem por base a medição do gradiente da pressão de vapor detectado à superfície da pele *in vivo*.

Na ausência de convecções forçadas, se o efeito proveniente da difusão térmica for negligenciado, a movimentação da água através de uma membrana permeável pode ser expressada em termos do gradiente de pressão de vapor, imediatamente adjacente a essa superfície, que é regulada pela equação 2.65, uma simplificação da Lei de Fick^[66, 113].

$$\text{Troca de água} = -D \times \frac{dp}{dx}$$

equação 2.65

em que :

D – Constante de difusão

$\frac{dp}{dx}$ - Gradiente de pressão de vapor

Ainda, na ausência de forças de convecção, considerando a superfície cutânea como uma superfície permeável à água, o processo de troca de água através desta camada pode ser expresso em termos do seu gradiente de pressão de vapor. Assim sendo, nas condições apresentadas, assume-se que o valor do gradiente de pressão de vapor, imediatamente acima da superfície cutânea, é relativamente constante e proporcional à diferença de vapor de água, que se mede em 2 pontos distintos acima da superfície cutânea e dentro da zona de difusão.

O aparelho de medição utilizado para calcular este fluxo (Tewameter Tm 300, Courage+Khazaka, Alemanha), apresenta uma câmara de medição cilíndrica, aberta nas duas extremidades na qual se encontram 2 sensores de humidade juntamente com 2 sensores de temperatura (Figura. 2.17) .

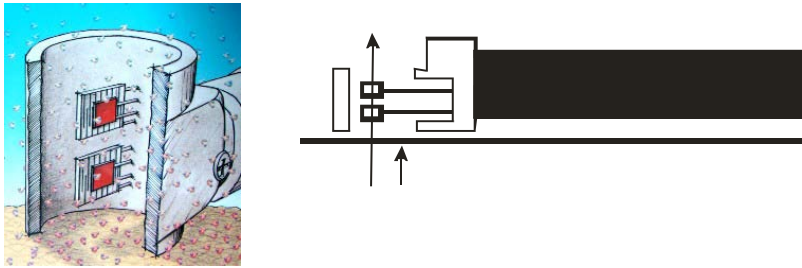


Figura 2.17 - Esquema de medição do evaporímetro representando os sensores de humidade e temperatura no interior de uma câmara aberta com um volume conhecido e constante.
(Adaptado da referência [114]).

A câmara apresenta uma altura de 20mm e um diâmetro de 10 mm. Com esta disposição, os sensores de medição encontram-se separados por 6 mm de distância. A cabeça da sonda de medição delimita, assim, uma pequena área de pele (cerca de 1cm^2)^[66, 113], onde se pode calcular a pressão de vapor (p) em cada um dos sensores de humidade.

6. Validação experimental

O processo de validação experimental dos modelos desenvolvidos tem como objectivo garantir que estes se adequem aos dados experimentais, para que os possam descrever da forma mais rigorosa possível. Por outro lado, tem também como objectivo seleccionar as condições de análise de dados que apresentem melhores resultados, garantindo assim que os parâmetros obtidos são representativos dos dados experimentais. No final do processo de validação, deveremos obter um método de análise de dados padronizado, que será utilizado em todas as experiências obtidas. Para uma melhor garantia da qualidade do método de ajustamento dos modelos, utilizaram-se os dados provenientes dos voluntários saudáveis jovens (Grupo I) das experiências de baixa perfusão e de aumento da ventilação com Oxigénio.

A validação experimental envolveu os seguintes protocolos de análise de dados:

6.1. Selecção do melhor modelo de descrição do tcpO_2

Este protocolo envolveu o ajustamento dos modelos de 1 e 2 compartimentos aos dados experimentais dos protocolos de redução de perfusão e de ventilação com 100% de Oxigénio, obtidos com os voluntários saudáveis, seguido da sua comparação. Os critérios utilizados para esta comparação basearam-se nos critérios de selecção de modelos descritos a seguir.

Após se seleccionar o modelo que melhor descreve os dados experimentais, utilizou-se esse modelo no restante processo de validação experimental.

6.2. Validação das condições de ajustamento dos dados

6.2.1. Confirmação da igualdade das velocidades nas Fases II e III dos protocolos

Nesta fase, interessa confirmar se as constantes que regem os movimentos do Oxigénio durante a Fase II são semelhantes às constantes que regem os movimentos de Oxigénio na Fase III (figura 2.4). A validação envolveu a separação da constante de eliminação do Oxigénio em 3 constantes de eliminação distintas, correspondentes às velocidades das várias perfusões que vão acontecendo (para o modelo de 1 compartimento: ke_1 , ke_2 e ke_3). Interessa comparar os resultados das constantes que regem a primeira perfusão e a terceira perfusão. Sendo estas constantes iguais, fica justificada a necessidade de utilização de apenas uma constante. Definiu-se como valor de referência que 35% das constantes poderiam ser diferentes, uma vez que este é o valor atribuído à variabilidade intrínseca dos dados.

6.2.2. Influência da introdução do ajuste simultâneo do LDF

Este processo de validação teve como objectivo confirmar que o ajustamento simultâneo, realizado com os dados do fluxo de sangue, permite uma melhoria da qualidade do ajustamento, contribuindo assim para que os parâmetros melhor descrevam os dados experimentais.

Este protocolo de análise de dados envolveu a criação de um modelo apenas com o parâmetro comum às exponenciais, ou a separação dos dados de LDF em 3 novos parâmetros correspondentes a cada perfusão (LDF_1 , LDF_2 ou LDF_3). Comparou-se os resultados obtidos com os critérios de selecção de modelos referidos a seguir

6.2.3. Utilização do modelo de hiperémia em experiências de redução da perfusão

Este processo de validação teve como objectivo confirmar se a utilização de um modelo mais complexo, para as experiências que envolveram a indução de hiperémia reactiva, permitiu uma maior qualidade nos ajustamentos.

Os dois modelos em comparação foram os obtidos com as equações 2.13 e 2.47. Comparou-se os resultados através dos critérios de selecção de modelos referidos a seguir.

7. Estatística para a modelação matemática e análise comparativa

Para se realizar qualquer um destes tipos de análise será necessário utilizar ferramentas matemáticas que permitam ajustar os modelos matemáticos criados aos dados experimentais. Conforme se pode observar pelas figuras 2.2, 2.4 e 2.6, os dados obtidos durante os protocolos apresentam uma característica de não linearidade, que tem como consequência a necessidade de realizar ajustamentos também de forma não linear. Estes ajustamentos dos modelos matemáticos aos dados experimentais necessitam de ser realizados com processos de regressão.

7.1. Modelos de regressão

Os modelos de regressão mais frequentes são a regressão linear e a regressão não linear. Apesar de uma maior simplicidade de utilização, a regressão linear é um método menos preciso do que a regressão não linear^[115]. Antes da expansão derivada dos novos métodos de cálculo, proporcionada pela disseminação dos computadores, o cálculo realizado através de regressão não linear era extremamente moroso e, em alguns casos, praticamente impossível de realizar. Por esse motivo,

tentou transformar-se os dados experimentais para que se obtivessem rectas para aplicação dos métodos de regressão linear mais simples. As transformações logarítmicas dos dados são, provavelmente, o exemplo mais comum neste tipo de análise, com numerosos modelos farmacocinéticos a recorrerem a este processo. Actualmente, estes métodos podem ser substituídos pela regressão não linear com vantagens, uma vez que as transformações lineares distorcem o erro experimental associado aos pontos experimentais. Por outro lado, a regressão linear assume que a distribuição dos pontos, em volta da recta de regressão, segue uma distribuição Gaussiana, o que, após transformação, poderá não acontecer. Outro problema relaciona-se com o facto de, na maioria dos casos, a relação entre X e Y ser alterada, através da alteração da escala em que essa relação se estabelece. Por estes factores e, apesar de ser mais rápida de utilizar e de mais fácil implementação nos sistemas disponíveis, as transformações de dados com vista à sua linearização devem ser evitadas, pois podem produzir resultados com elevado grau de incerteza e precisão bastante inferior, quando comparada com os resultados provenientes da regressão não-linear^[116].

Com a regressão não-linear todos estes problemas são resolvidos, já que não existe alteração da estrutura dos dados. No entanto, tratando-se de um processo iterativo, existem outros inconvenientes, nomeadamente a dependência do processo da escolha das estimativas iniciais ou a possibilidade de encontrar mínimos locais.

7.2. Métodos de ajustamento de modelos

O método de ajustamento dos modelos aos dados experimentais mais utilizado consiste na “minimização da soma dos quadrados dos resíduos”, processo vulgarmente designado por método dos mínimos quadrados^[117]. No entanto, uma correcta utilização deste método tem necessariamente de seguir determinadas regras, designadamente:

- o menor número possível de parâmetros, respeitando o princípio da parcimónia,
- considerar o erro associado aos dados,
- assegurar que os dados são representativos do sistema e estatisticamente independentes,
- assegurar a variância constante ao longo da série de dados, ainda que esta possa não ser conhecida; caso a variância não seja constante, isto é, se não existir homocedasticidade dos pontos experimentais, deverá utilizar-se uma regressão ponderada,
- conhecer com rigor a variável independente, neste caso o tempo.

-fornecer estimativas iniciais dos parâmetros do modelo ao sistema de regressão, para que a partir destas estimativas se inicie o cálculo dos parâmetros finais^[118-120].

Por outro lado, devem também ser realizadas medições sobre a precisão dos parâmetros e ter um método de medição da qualidade de ajustamento do modelo final aos dados experimentais.

O algoritmo de optimização utilizado na folha de cálculo que contém o modelo (Microsoft Excel 2007) é uma modificação do *Generalized Reduced Gradient Algorithm (GRG2)*. Este tipo de algoritmo é vulgarmente utilizado em problemas não lineares mais complexos do que o algoritmo mais corrente, designado por simplex. Em ambos os casos, o algoritmo de convergência tenta minimizar a função da soma dos quadrados dos resíduos (equação 2.66) para chegar à solução final.

$$SQR = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

equação 2.66

Os métodos de gradiente tentam resolver as equações não lineares, aplicando limites à equação. Estes métodos resolvem as equações na forma^[121, 122]:

$$\text{minimiza} \quad g_{m+1}(X)$$

$$\text{em função de} \quad g_i(X) = 0, i = 1, neq$$

$$0 \leq g_i(X) \leq ub(n+i), i = neq + 1, m$$

$$lb \leq X_i \leq ub(i), i = neq + 1, n$$

Em que X é um vector de n variáveis e neq o número de limites a essas variáveis. Assume-se que g_i é uma função diferenciável.

Assumindo que F é a função objectivo, representada pela equação 2.66, e a_i o conjunto de parâmetros de regressão que são modificáveis, a implementação deste algoritmo numa folha de cálculo segue o seguinte sistema^[123]:

- 1 – O algoritmo lê independentemente o valor de cada célula modificável a_i ;
- 2 – Aplica um factor de perturbação (aproximadamente 10^{-8}) à célula modificável;
- 3 – Escreve o novo valor na folha de cálculo;

4 – A folha é recalculada com o novo valor;

5 – É calculada a derivada parcial de acordo com a equação:

$$\frac{dF}{da_i} \approx \frac{\Delta F}{\Delta a_i} = \frac{F(a_i + \Delta a_i) - F(a_i)}{\Delta a_i} \quad \text{equação 2.67}$$

6 – Obtém-se uma matriz de derivadas parciais que permite obter o gradiente da superfície de resposta;

7 – Os valores subsequentes, bem como a sua direcção, são modificados de acordo com estes valores até se chegar à solução fina, correspondente à minimização da função objectivo (F).

Como todos os métodos iterativos, este sistema apresenta alguns inconvenientes, nomeadamente a necessidade de se utilizar apenas variáveis contínuas, a possibilidade de obtenção de mínimos locais, a instabilidade do valor final da resposta devido a pequenas alterações numa das variáveis, produzindo-se valores dos parâmetros que podem sofrer variações e a incerteza quanto ao número de iterações necessárias à obtenção de uma boa convergência.

7.3. Critérios de ajustamento de modelos (“goodness of fit tests”)

Em regressão não linear, uma vez que as equações do modelo são resolvidas de forma iterativa, o resultado pode variar consoante as estimativas iniciais que se fornecem ao algoritmo de minimização. Outro problema relacionado com o processo iterativo é a necessidade de saber quando parar este método. Normalmente, os algoritmos de minimização param quando já não há capacidade de fazer variar o valor do parâmetro em análise. Por vezes, especialmente se as estimativas iniciais não forem bem escolhidas, o algoritmo de ajustamento pára num local em que os valores dos parâmetros não produzem gráficos adequados aos dados experimentais. Quando tal ocorre, diz-se que se convergiu para um mínimo local. Os mínimos locais são locais no espaço paramétrico em que se processa a convergência, mas em que alterando de forma significativa um ou mais parâmetros ainda se consegue um resultado melhor^[123, 124] (Figura 2.18).

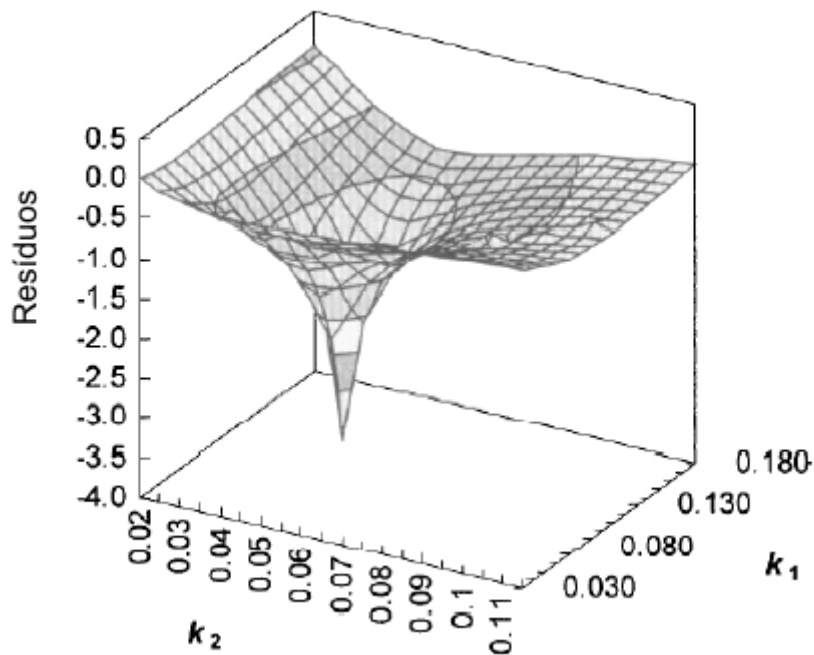


Figura 2.18 - Representação gráfica da superfície dos gradientes obtidos num problema de regressão não linear utilizando o algoritmo GRG2. (Adaptado da referência [123])

Para evitar estes problemas, mostra-se necessário correr os algoritmos de ajustamento várias vezes, com estimativas iniciais diferentes e verificar qual o melhor resultado, nomeadamente pelo menor valor da soma dos quadrados dos resíduos. Será também necessário averiguar a qualidade de ajustamento do modelo aos dados experimentais.

Existem diferentes métodos para realizar este processo, mas os mais frequentes são o cálculo do R^2 , a inspeção do valor da soma do quadrado dos resíduos (no caso do modelo ter o mesmo número de parâmetros), do cálculo de um critério de informação (p.ex. o AKAIKE) e da inspeção dos gráficos de resíduos^[125-127].

R^2 ^[124]

O valor do R^2 é, talvez, o método mais utilizado para inspeccionar a qualidade de ajustamento de um modelo a um conjunto de dados experimentais. A sua formulação encontra-se discriminada na equação 2.68.

$$R^2 = 1 - \frac{SQR}{SQT} \quad \text{equação 2.68}$$

em que SQR é a soma dos quadrados dos resíduos e SQT é a soma dos quadrados total.

Ou seja o valor de R^2 representa a proporção de variação explicada pelo modelo. Um valor de R^2 próximo de 1 significa que o modelo descreve, aproximadamente, os dados experimentais. No entanto, este valor é, frequentemente, mal utilizado, sobretudo pela importância que a ele se dá. Uma forma de artificialmente aumentar o valor do R^2 é adicionar mais parâmetros a um modelo matemático, assim o modelo consegue descrever melhor os dados experimentais, resultando em sobreparametrização e, conseqüentemente, significando que o modelo não será o mais adequado. Por este motivo, não se deve utilizar apenas o valor de R^2 para verificar a qualidade de ajustamento dos modelos.

Critério de informação de AKAIKE (AIC)^[125, 127]

O critério de AKAIKE (AIC) consiste num critério de informação, que expressa numericamente a quantidade de informação em função do número de parâmetros que existem, numa determinada equação, que representa um grupo de dados experimentais. Esta equação assume que os erros aleatórios obedecem a uma distribuição normal. Nestas condições, o Critério de AKAIKE é definido por:

$$AIC = N \ln Re + 2p$$

equação 2.69

Em que, N é o número de pontos experimentais, p é o número de parâmetros e Re é a soma dos quadrados dos resíduos que se obtêm entre os pontos experimentais e os dados fornecidos pelo modelo.

Para os mesmos dados experimentais, o modelo que melhor descreve a evolução desses dados será então aquele que apresentar o menor valor numérico de AIC. Quando a soma dos quadrados dos resíduos é semelhante para os dois modelos, escolhe-se aquele que apresentar menos parâmetros, de acordo com o “princípio da parcimónia”.

Resíduos padronizados vs. Resíduos normais

Outra das formas de avaliar a qualidade do ajustamento dos modelos matemáticos é a inspeção gráfica dos resíduos.

Se o método de regressão utilizado for o dos mínimos quadrados, então os resíduos experimentais, ou seja os valores de $(Y - \hat{Y}_i)$ podem ser colocados num gráfico contra os valores de X (Figura 2.19).

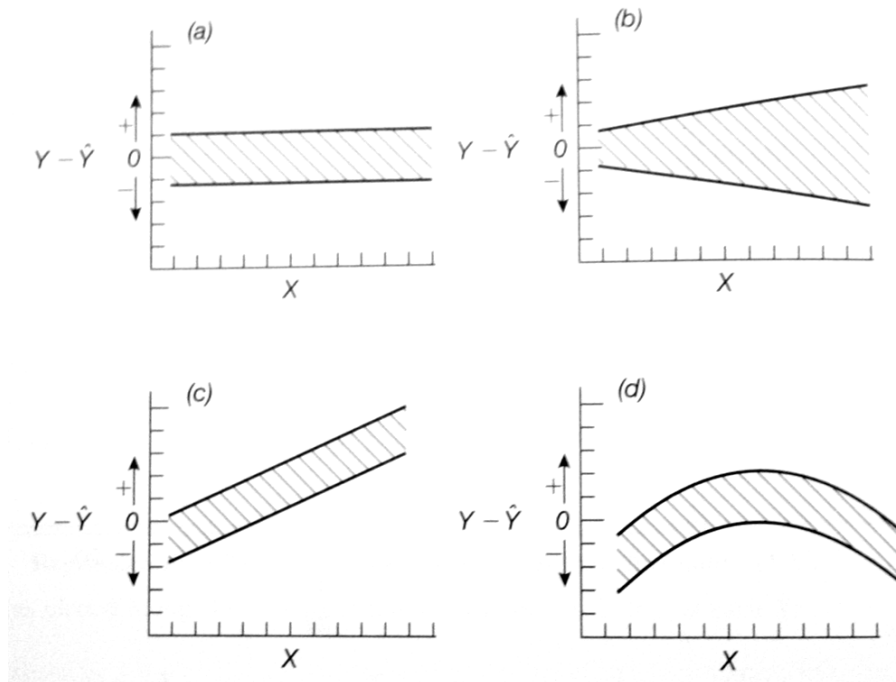


Figura 2.19 - Vários tipos de resíduos de regressão. a) Resíduos normais, b) Resíduos heterocedásticos, c e d) Resíduos indiciando modelos mal adaptados aos dados experimentais. (Adaptado da referência [128])

Se existir homocedasticidade, então os resíduos deverão distribuir-se uniformemente em torno do valor zero. Existem situações tipo, na análise de resíduos, que é importante conhecer. Se, por exemplo, os resíduos seguirem uma forma de hipérbole, normalmente tal significa a falta de um termo exponencial no modelo, ou seja, que a relação entre X e Y não é explicada pelo modelo utilizado. Por outro lado, se, por exemplo, os resíduos seguirem uma forma de funil, tal significa heterocedasticidade dos dados, o que viola um dos pressupostos da regressão, determinando a transformação dos dados experimentais, para que tenham uma variância constante^[128, 129]. A transformação mais corrente implica a ponderação dos dados, atribuindo-se maior peso àqueles que se sabe serem os mais exactos. Neste caso, só a experimentação com os dados reais poderá indicar qual a melhor função de ponderação. Alguns autores utilizam o inverso da variância ao quadrado como função de ponderação^[119, 120, 130, 131].

Outro aspecto a ter em consideração na análise de resíduos é a sua normalização. Frequentemente, os resíduos ordinários encontram-se correlacionados com a variância do próprio modelo, pelo que se torna difícil detectar os desvios dos pressupostos envolvidos na regressão. Uma forma de contornar este processo é analisar resíduos calculados com a mesma precisão, através da sua padronização ou “*Studentização*”. Estes resíduos têm média igual a zero e desvio padrão igual a 1, tornando-se um instrumento precioso na análise da regressão. Devido ao facto de seguirem uma distribuição de *Student* (t), pode criar-se uma regra para considerar como aceitáveis o conjunto de valores de resíduos. Esta regra indica que qualquer resíduo padronizado superior a 3 ou inferior a -3 será um valor de pior ajustamento^[124]. Qualquer série de dados que apresente um grande conjunto destes resíduos significará um modelo fracamente ajustado, com fraca capacidade de descrição dos dados experimentais^[128, 130, 131].

Outro aspecto a considerar é a forma como os resíduos se encontram distribuídos. Para que a regressão tenha sido bem realizada, os resíduos devem distribuir-se aleatoriamente acima e abaixo do valor zero. Ou seja, não deve existir um padrão da distribuição dos resíduos. Para confirmar este pressuposto, mostra-se necessário realizar um teste de sequências que testa o número de alternâncias que existe nos resíduos. Um resultado significativo neste teste indica um padrão na forma como os resíduos se distribuem em torno de zero, indicando uma menor qualidade do ajustamento

8. Tratamento dos dados experimentais

8.1. Ajustamento

O ajustamento dos modelos aos dados experimentais foi realizado através de regressão não linear implementada numa macro escrita em VBA para a folha de cálculo MS Excel® 2007, desenvolvida especificamente para o efeito (figura 2.20).

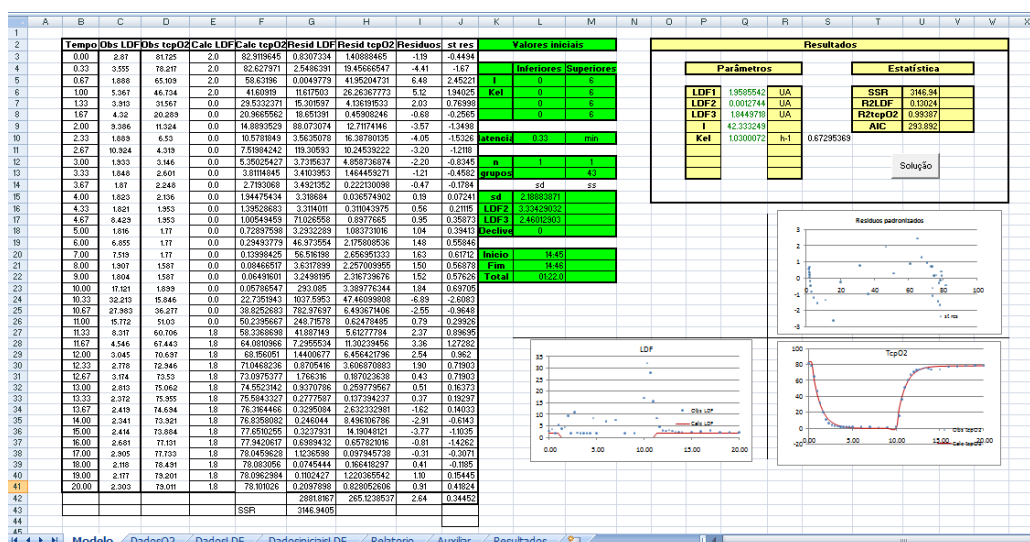


Figura 2.20 - Página de dados da macro criada para analisar os dados da evolução do Oxigénio durante um protocolo de redução da perfusão.

Esta macro ajusta o modelo aos pontos através do algoritmo GRG2^[123], que está implementado no subprograma Solver (Frontline Systems, Inc.) do MS Excel® 2007. Para iniciar o *software*, o utilizador tem de fornecer um valor mínimo e máximo para cada parâmetro ajustável. O *software* divide, então, esses valores em 3 ou 4 partes iguais e utiliza esses valores como estimativas iniciais. Seguidamente, a macro realiza vários ajustamentos aos dados, partindo das várias estimativas iniciais. Minimizam-se, assim, os efeitos de uma possível convergência para um mínimo local (figura 2.21).

É seleccionado o conjunto de parâmetros que melhor se adapta aos dados simulados, através de testes de “goodness-of-fit”, nomeadamente o R² e a inspeção do valor da soma do quadrado dos resíduos. O melhor resultado, correspondente ao menor mínimo, é então fornecido como resultado final.

8.2. Tratamento e análise da validação experimental

a) Procedimento de ajustamento

O ajustamento foi realizado segundo o método anterior, tendo em atenção que foram desenvolvidos e implementados os modelos descritos no ponto 6.

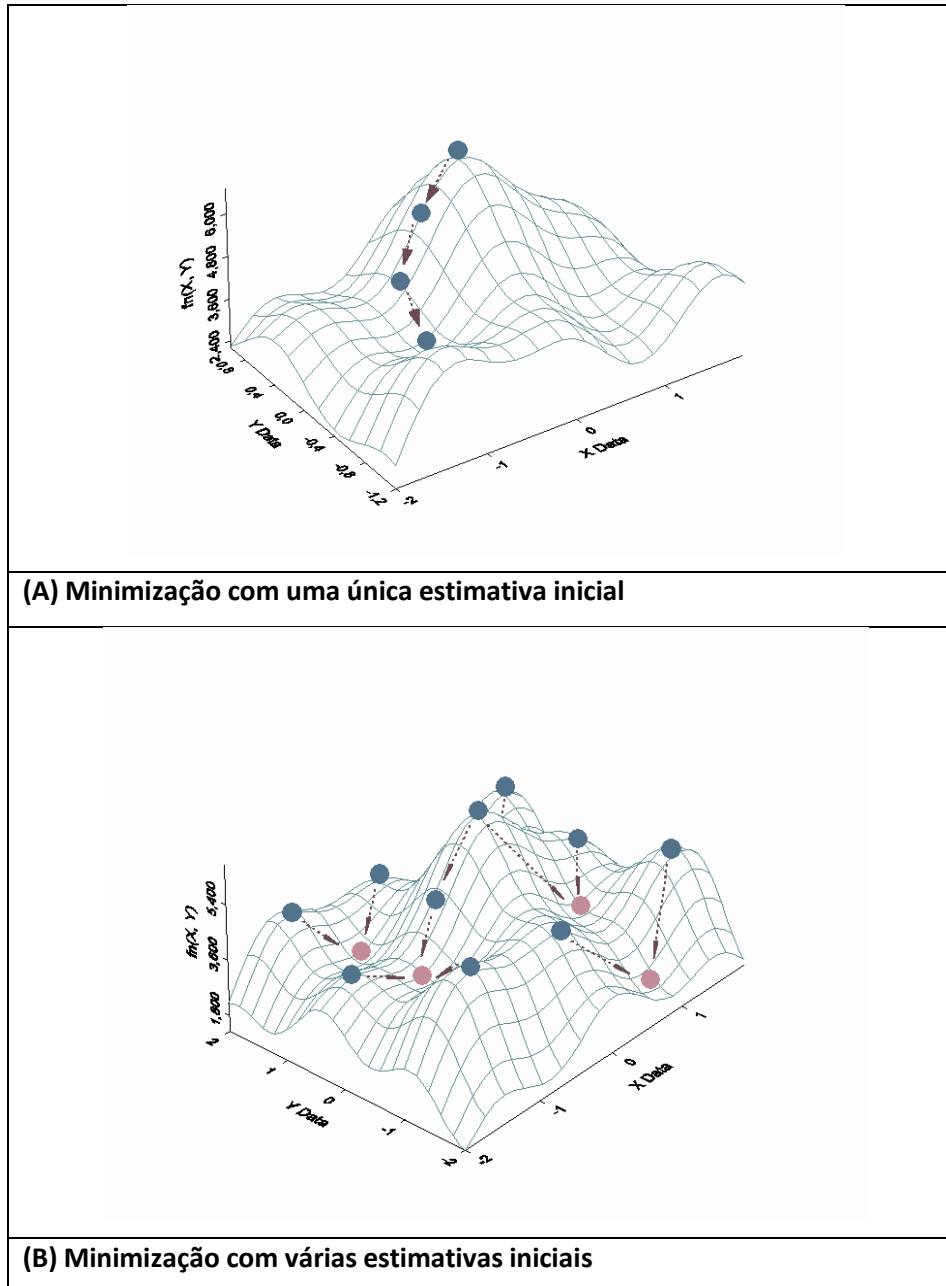


Figura 2.21 - Esquema que ilustra o Efeito da Convergência para mínimos locais. Em (A) parte-se apenas de uma estimativa inicial chegando a um mínimo que não corresponde ao menor valor possível no espaço paramétrico. Em (B), inicia-se a análise com várias estimativas iniciais chegando a vários mínimos. Desta forma, consegue-se atingir o valor mais baixo possível no espaço paramétrico e prevenir-se a convergência para mínimos locais.

b) Adequação do modelo aos dados experimentais

A análise da adequabilidade do modelo aos dados experimentais foi efectuada utilizando os valores dos coeficientes de determinação do modelo (R^2). A selecção do melhor modelo foi realizada através do cálculo do critério de informação de AKAIKE, para cada série de dados. O melhor modelo será aquele que tiver um menor valor de AKAIKE.

c) Cálculo dos resíduos padronizados

Esta estratégia permite-nos calcular resíduos não correlacionados, que normalmente apresentam uma *média=0* e um *desvio padrão=1*. Representando os resíduos contra o valor de x (tempo), deveremos obter uma distribuição aleatória em torno do valor zero, isto se o modelo estiver bem ajustado aos dados.

De forma a garantir a aleatoriedade dos resíduos, deve ser testada a normalidade da sua distribuição. Sabendo que a média destes resíduos é 0 e o seu desvio padrão é 1, utilizámos o teste de Kolmogorov-Smirnof para testar a série de resíduos contra uma distribuição normal. Considera-se que o modelo descreve correctamente os dados, caso não se observem diferenças significativas neste teste^[132].

8.3. Análise dos dados experimentais

a) Procedimento de ajustamento

O ajustamento foi realizado segundo o método anterior, tendo em conta o modelo e o protocolo de ajustamento definido após a validação experimental.

c) Cálculo dos resíduos padronizados

Para todos os dados experimentais obtidos foi verificada a distribuição dos resíduos padronizados.

Sobre estes dados foi, também, testada a normalidade da distribuição dos resíduos, através de um teste de Kolmogorov-Smirnof, por forma a avaliar a série de resíduos contra uma distribuição normal. O nível de significância adoptado foi de $p < 0,05$.

d) Análise comparativa dos dados.

A Estatística descritiva foi aplicada aos diferentes parâmetros obtidos nas várias condições experimentais.

A análise comparativa envolveu duas fases:

Fase I: Comparação dos diversos grupos de voluntários saudáveis.

Nesta fase compararam-se os dados médios, provenientes das fases II e III de avaliação, com a fase I (inicial), através de um teste de Wilcoxon para dados emparelhados (estatística não paramétrica), permitindo avaliar se as várias manobras utilizadas provocaram alterações nos dados experimentais absolutos, em relação ao início do procedimento. Repetiu-se este procedimento também para os dados separados por idades e por género, avaliando se alguma destas classes se destaca em relação à outra classe, ou se, pelo contrário, são homogéneas. Testou-se, também, a influência do género e da idade nos grupos I e II de cada procedimento experimental, através da realização de testes não paramétricos de Mann-Whithney, para comparar os dados provenientes dos vários voluntários, de forma independente.

Após a modelação matemática, com o modelo seleccionado, avaliou-se o desempenho deste e a sua adequabilidade aos dados experimentais, através da comparação dos parâmetros LDF1, 2 e 3 obtidos experimentalmente e obtidos pelo modelo matemático. Esta comparação foi baseada em estatística não paramétrica para dados emparelhados (teste de Wilcoxon). Realizou-se, também, um teste de normalidade para os resíduos obtidos em cada procedimento experimental, tal como realizado durante a fase de validação experimental. Avaliou-se a influência do género e da idade sobre o parâmetro cinético mais relevante, o tempo de semi-vida de eliminação do Oxigénio, através de estatística não paramétrica para dados independentes (teste de Mann Whithney). De modo a garantir que durante esta comparação o género ou a idade não têm interferência sobre o outro factor em teste, realizou-se, ainda, uma análise de variância através do módulo de Modelos Lineares Gerais do *software* SPSS, tendo como factores fixos o género e a idade. Não se realizou este procedimento para os dados não modelados (médias de 5 minutos), uma vez que estes dados não são tão representativos da evolução do Oxigénio como os dados provenientes da modelação matemática, que analisa a evolução completa e não médias obtidas em tempos pré-determinados.

Após esta análise, os valores médios e respectivos desvios-padrão podem ser utilizados como valores de referência dos parâmetros em causa, em experiências realizadas nas mesmas condições. O nível de significância adoptado nos diversos testes foi de $p < 0,05$. A utilização de estatística não paramétrica foi escolhida em detrimento da estatística paramétrica, uma vez que, na realidade, existem quatro grupos de voluntários (mulheres e homens, jovens e mais

velhos), sendo que tal situação é passível de violar os pressupostos da utilização dos testes paramétricos.

Fase II: Comparação dos doentes com os voluntários saudáveis

Os valores basais de cada fase foram comparados como anteriormente descrito para o grupo de voluntários saudáveis, através do teste de Wilcoxon. Compararam-se, ainda, os valores absolutos de tcpO_2 dos doentes, em cada fase, com os mesmos períodos obtidos nos grupos de voluntários saudáveis, através de estatística não paramétrica (teste independente de Mann-Whitney). Compararam-se, também, os dados provenientes da modelação matemática, nomeadamente o tempo de semi-vida de eliminação, do grupo de voluntários doentes com os grupos de voluntários saudáveis, também através de estatística não paramétrica (teste independente de Mann-Whitney). Nesta fase, interessou demonstrar que o método pode ser aplicado tanto aos voluntários saudáveis como aos voluntários doentes, mostrando eventuais diferenças entre si.

Finalmente, compararam-se, também, os valores da semi-vida de eliminação do Oxigénio com um parâmetro muito comum utilizado em clínica, designado por tempo para recuperar metade do Oxigénio (calculado como o tempo para obter metade da variação do Oxigénio durante as experiências de redução da perfusão), através de estatística não paramétrica emparelhada (teste de Wilcoxon). Esta estatística permite-nos ter uma ideia da sensibilidade do método agora desenvolvido.

Todos os procedimentos estatísticos comparativos foram realizados no *software* SPSS 16.0 ^[133], através do seu módulo de estatística não paramétrica. Todas as restantes análises foram realizadas utilizando o Microsoft Excel 2007. Em todos os procedimentos estatísticos, o nível de significância adoptado foi de $p < 0,05$.

3. Validação experimental

1. Validação experimental

1.1. Resultados gerais dos voluntários saudáveis jovens

1.1.1. Pressão arterial em repouso

A avaliação da pressão arterial é uma das formas de selecção dos voluntários a serem incluídos no grupo de indivíduos saudáveis.

Os valores obtidos neste grupo, que posteriormente será utilizado como grupo de validação, encontram-se resumidos na tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Resultados das pressões arteriais, sistólica e diastólica, obtidas em indivíduos saudáveis jovens (n=30).

	Pressão Sistólica (Braço)	Pressão Diastólica (Braço)
Média (mmHg)	116.1	72.5
DP (mmHg)	10.3	7.9
Mediana (mmHg)	113	70.5
Mínimo (mmHg)	101	59
Máximo (mmHg)	137	86

Os resultados obtidos são considerados normais em todos os voluntários, segundo os critérios da European Society of Hypertension^[134]. De acordo com este organismo, a pressão arterial é considerada normal se os valores de pressão sistólica forem inferiores a 139 mmHg e se os valores de pressão diastólica forem inferiores a 89 mmHg. Conforme se pode verificar na tabela 3.1, todos os valores são inferiores a 139/89 mmHg. Destaca-se, ainda, que dos 30 voluntários apenas 3 têm valores entre 130 e 139 mmHg de pressão sistólica e apenas 4 apresentam valores de pressão diastólica entre 80 e 89 mmHg.

1.1.2. Quociente Tornozelo/Braço (ABI)

O quociente ABI é uma informação importante na avaliação da DVP. Conforme descrito anteriormente, valores de ABI inferiores a 0.9 indicam a existência desta patologia^[25]. No indivíduo normal, a pressão sistólica ao nível do tornozelo é superior à pressão sistólica medida ao nível da artéria braquial. Em doentes com DVP, o valor da pressão sistólica no nível do tornozelo diminui, provavelmente devido às alterações provocadas pelo aumento da resistência periférica, e este índice passa a apresentar um valor inferior a 1^[135].

O grupo utilizado no processo de validação experimental – indivíduos saudáveis jovens – não deve apresentar DVP, sendo esse um dos critérios de exclusão deste grupo. Desta forma, a avaliação da pressão arterial medida nos membros superiores e inferiores, e o subsequente cálculo do valor de ABI, encontram-se resumidos na tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Resultados do quociente ABI utilizado no diagnóstico da DVP (n=30).

	Pressão Sistólica Braço (mmHg)	Pressão Sistólica Tornozelo (mmHg)	ABI
Média	116.1	152.1	1.3
DP	10.3	27.0	0.2
Mediana	113	152	1.2
Mínimo	101	106	1.0
Máximo	137	223	1.8

Os resultados demonstram que os valores de ABI são sempre superiores a 1, indicando que nenhum dos voluntários apresenta manifestações clínicas de DVP. Este valor é um importante critério de exclusão do grupo de indivíduos saudáveis, uma vez que a sua alteração indicia um grau de comprometimento elevado dos grandes vasos. Desta forma, todos os voluntários incluídos no grupo de validação experimental são indivíduos saudáveis, tal como se suponha pela reduzida idade deste grupo.

1.1.3. Evolução geral das curvas utilizadas na validação experimental

A validação experimental do modelo de tcpO_2 envolveu um conjunto de procedimentos, inicialmente de selecção do melhor modelo e, posteriormente, de detecção do melhor procedimento de análise, com os dados de todos os voluntários do grupo I (voluntários

saudáveis jovens, não separados por género) obtidos nos protocolos de alteração da perfusão (variação da postura e indução de hiperémia) e alteração da inalação do Oxigénio.

Os perfis médios obtidos em cada um destes protocolos encontram-se resumidos nas figuras 3.1, 3.2 e 3.3, seguintes:

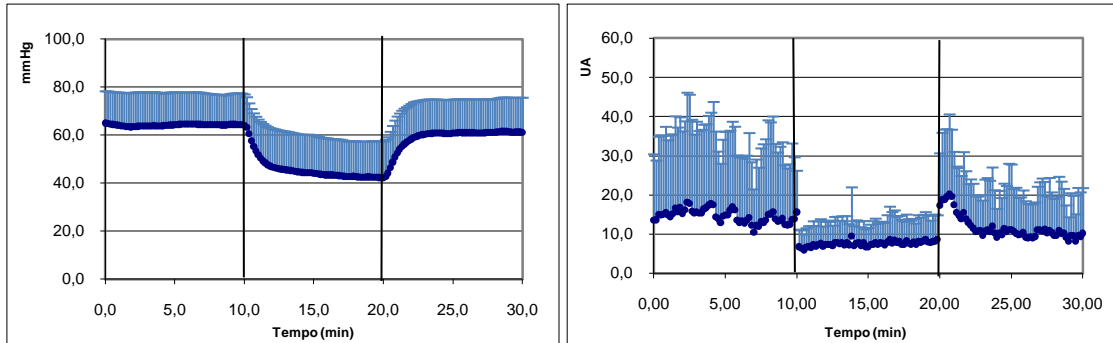


Figura 3.1 - Perfis de evolução média (+dp) durante as experiências de alteração da perfusão por modificação da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão. Esquerda: tcpO₂; Direita: LDF

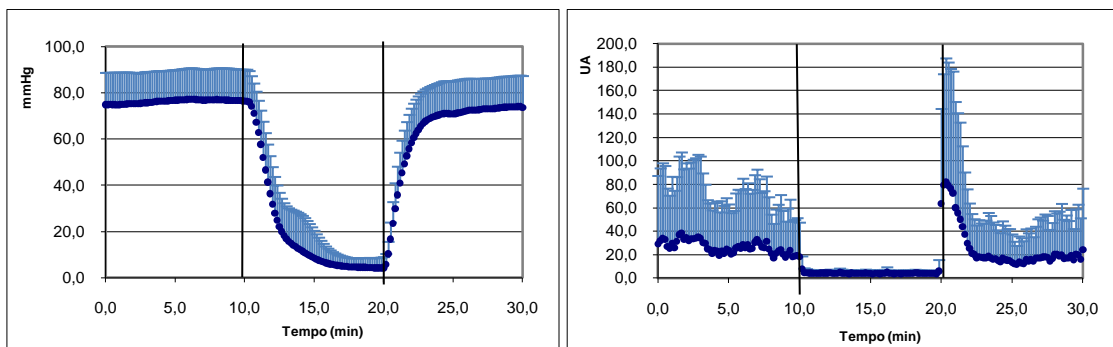


Figura 3.2 - Perfis de evolução média (+dp) durante as experiências de alteração da perfusão por oclusão suprasistólica. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da oclusão. Esquerda: tcpO₂; Direita: LDF

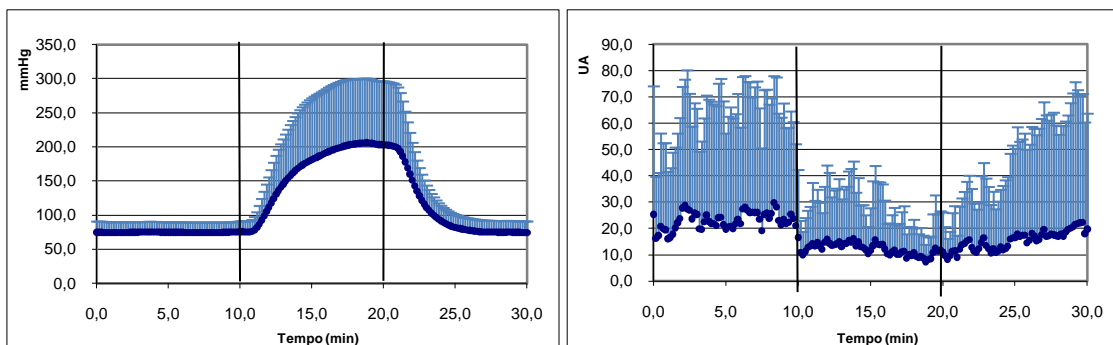


Figura 3.3 - Perfis de evolução média (+dp) durante as experiências de alteração da inalação de Oxigénio. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração de Oxigénio. Esquerda: tcpO₂; Direita: LDF

Pela descrição matemática dos modelos de tcpO_2 , que se encontra no capítulo 2, e pela análise dos perfis de evolução apresentados, verifica-se que os primeiros 10 minutos dos protocolos experimentais podem ser resumidos pelo último ponto, obtido imediatamente antes de se iniciar o protocolo. Este facto deve-se à observação de que, durante este tempo, os perfis de tcpO_2 e de LDF se encontram em estado estacionário e, por isso, se conseguir proceder à simplificação descrita nas equações 2.6 e 2.41.

Os sistemas de medição do tcpO_2 e LDF permitem uma monitorização, virtualmente contínua, destas variáveis. A amostragem do equipamento pode ir até aos 32Hz, pelo que o número dos pontos experimentais é suficiente para que, em termos macroscópicos, o perfil seja contínuo. Este facto introduz um problema de excesso de dados durante o processo iterativo de ajustamento. Desta forma, todos os dados foram expressos através da seguinte regra:

- Evolução das variáveis sem ajustamento matemático: Amostragem de 10 em 10 segundos;
- Evolução das variáveis para ajustamento matemático dos vários modelos:
 - Eliminação dos primeiros 10 minutos, sendo substituídos pelo valor da variável obtido ao tempo 10 minutos.
 - Amostragem de 20 em 20 segundo durante os primeiros 5 minutos da alteração.
 - Amostragem de minuto a minuto durante os 5 minutos seguintes.
 - Amostragem de 20 em 20 segundos durante os 5 minutos seguintes.
 - Finalmente, amostragem de minuto a minuto até ao final da experiência.

Desta forma, os tempos de amostragem são frequentes durante as fases de grande variação dos diversos protocolos e são reduzidos durante a fase de estabilização, onde um número elevado de pontos experimentais não aporta mais informação ao modelo.

De notar que este procedimento não implica uma redução na recolha de pontos experimentais, mas antes uma simplificação dos mesmos.

1.2. Selecção do melhor modelo para descrição do tcpO_2

Para as experiências de selecção do melhor modelo, utilizaram-se os modelos descritos pelas equações 2.13 (modelo de 1 compartimento) e 2.47 (modelo de 2 compartimentos), para os dados de tcpO_2 . De acordo com os modelos descritos, mostra-se necessário o cálculo dos valores de fluxo de sangue durante as várias perfusões (LDF_1 , LDF_2 e LDF_3). Assim, na tentativa de obter sempre o melhor modelo possível, introduziu-se, nesta fase, o ajuste simultâneo de um modelo simples aos dados de fluxo - LDF (t). Este modelo permitiu aumentar a capacidade

Capítulo 3

Validação experimental

de estimar os valores de LDF_1 , LDF_2 e LDF_3 de forma mais correcta, uma vez que estes parâmetros são comuns aos modelos de $tcpO_2$ e de LDF. O modelo utilizado para o LDF foi aquele descrito pela equação 2.51, com a seguinte aproximação decorrente da redução e simplificação dos pontos experimentais (equação 3.1).

$$LDF(t) = \begin{cases} m \cdot t + LDF_1, & \text{para } t = 0 \\ m \cdot t + LDF_2, & \text{para } 0 > t \leq 10 \\ m \cdot t + LDF_3, & \text{para } t > 10 \end{cases}$$

Equação 3.1

Os parâmetros obtidos, aplicando os modelos de 1 e 2 compartimentos (equação 2.13 e 2.47) aos dados de $tcpO_2$, com o ajuste simultâneo do LDF, durante o protocolo experimental que envolveu a redução da perfusão por alteração postural, encontram-se resumidos nas tabelas 3.3 e 3.4 e na figura 3.4:

Tabela 3.3 - Resultados do modelo de 1 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	8.68	7.07	5.26	28.2	1.93
LDF2 (UA)	5.72	4.86	3.59	19.2	0.0001
LDF3 (UA)	8.10	6.59	4.94	28.0	1.87
I (mmHg.min/l)	11.8	8.32	9.78	38.1	2.84
Ke (min⁻¹)	0.901	0.344	0.884	1.63	0.334

Tabela 3.4 - Resultados do modelo de 2 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	8.65	7.11	5.26	27.9	1.93
LDF2 (UA)	5.51	4.64	3.54	16.9	0.0001
LDF3 (UA)	8.24	6.84	4.94	30.4	1.86
A (mmHg.min/l)	7.76	7.12	5.81	29.4	0.162
α (min⁻¹)	1.86	2.90	1.16	16.8	0.489
B (mmHg.min/l)	4.43	6.05	2.55	32.8	0.157
β (min⁻¹)	0.466	0.467	0.335	1.50	0.0001

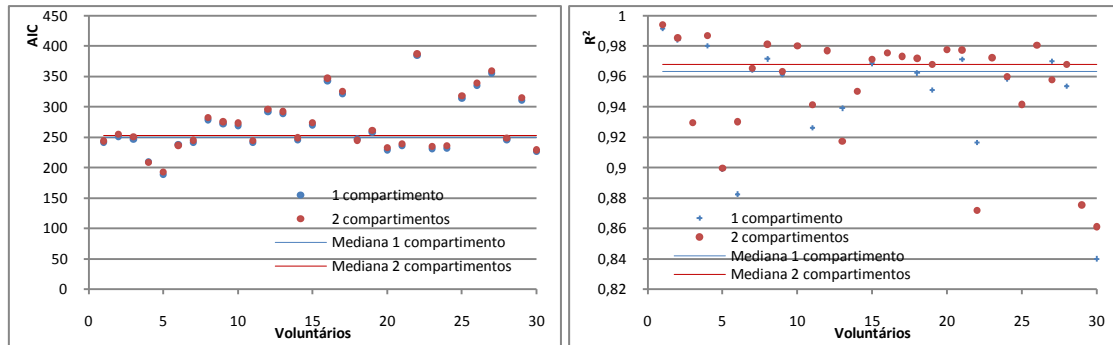


Figura 3.4 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais a partir dos dados de tcpO₂ obtidos durante a redução da perfusão por alteração da postura. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Seleção de Akaike. Direita: Resultados do r².

Os parâmetros obtidos, aplicando os modelos de 1 e 2 compartimentos (equação 2.13 e 2.47) aos dados de tcpO₂, com o ajuste simultâneo do LDF, durante o protocolo experimental que envolveu a redução da perfusão por oclusão suprasistólica, encontram-se resumidos nas tabelas 3.5 e 3.6 e na figura 3.5:

Tabela 3.5 - Resultados do modelo de 1 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	10.3	14.2	3.781	45.4	1.56
LDF2 (UA)	0.317	0.509	0.052	1.90	0.0001
LDF3 (UA)	11.4	18.0	3.693	77.7	1.46
I (mmHg.min/l)	19.4	13.4	18.561	50.0	1.44
Ke (min⁻¹)	0.733	0.200	0.740	1.13	0.215

Tabela 3.6 - Resultados do modelo de 2 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	10.1	13.9	3.57	45.3	1.56
LDF2 (UA)	0.230	0.424	0.0001	1.29	0.0001
LDF3 (UA)	11.4	18.1	3.70	78.5	1.46
A (mmHg.min/l)	15.4	11.5	12.6	42.4	0.0001
α (min⁻¹)	0.754	0.181	0.758	1.13	0.301
B (mmHg.min/l)	4.33	6.54	0.980	23.7	0.0001
β (min⁻¹)	0.397	0.391	0.392	1.13	0.0001

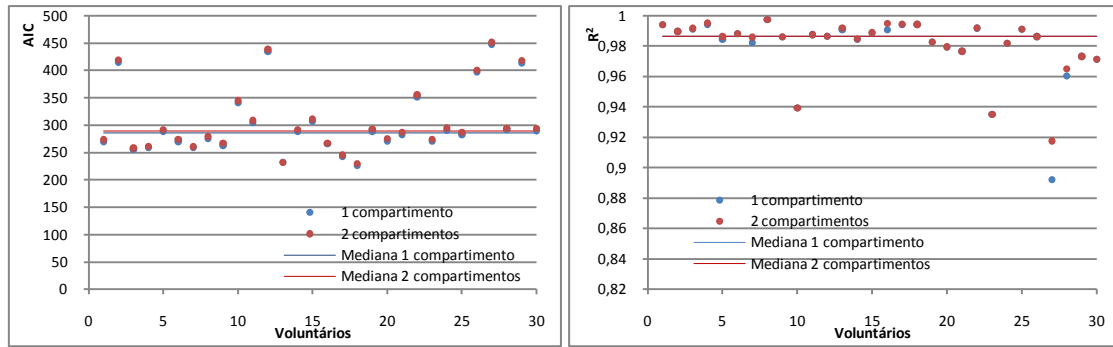


Figura 3.5 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais a partir dos dados de tcpO_2 obtidos durante a redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção de Akaike. Direita: Resultados do r^2 .

Os parâmetros obtidos, aplicando os modelos de 1 e 2 compartimentos (equação 2.13 e 2.47) aos dados de tcpO_2 , com o ajuste simultâneo do LDF, durante o protocolo experimental que envolveu a alteração da inalação de Oxigénio, encontram-se resumidos nas tabelas 3.7 e 3.8 e na figura 3.6:

Tabela 3.7 - Resultados do modelo de 1 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	5.25	6.76	2.60	26.1	0.395
LDF2 (UA)	14.5	19.1	5.69	75.3	1.45
LDF3 (UA)	4.83	7.33	2.52	37.3	0.0001
I (mmHg.min/l)	42.4	41.9	22.9	165	3.25
Ke (min⁻¹)	0.423	0.298	0.317	1.58	0.104

Tabela 3.8 - Resultados do modelo de 2 compartimento. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	5.30	6.68	2.54	24.8	0.425
LDF2 (UA)	16.1	18.7	6.98	76.2	1.86
LDF3 (UA)	8.69	21.7	2.82	119	0.0001
A (mmHg.min/l)	22.1	25.3	12.5	114	0.0001
α (min⁻¹)	2718	14623	0.345	78752	0.124
B (mmHg.min/l)	19.5	33.6	7.14	153	0.112
β (min⁻¹)	0.307	0.174	0.290	0.728	0.0001

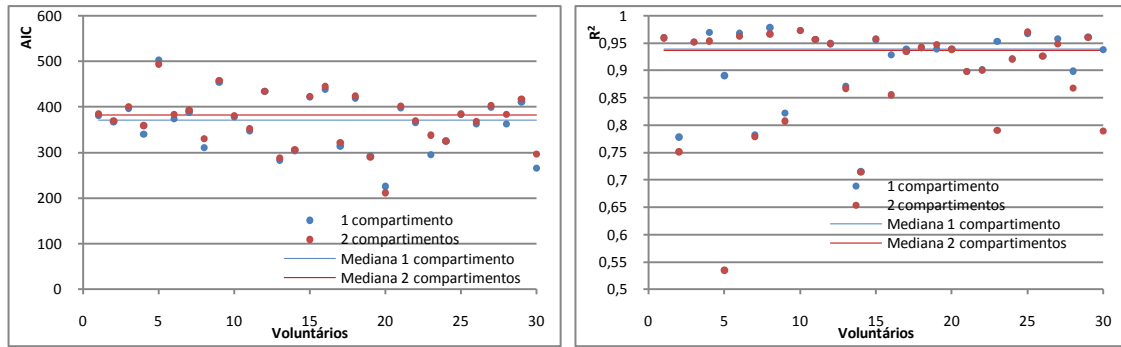


Figura 3.6 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais a partir dos dados de tcpO_2 obtidos durante a alteração da inalação de Oxigénio. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção de Akaike. Direita: Resultados do r^2 .

Os resultados obtidos com a aplicação dos modelos de 1 e 2 compartimentos aos protocolos de redução da perfusão, mostram que ambos os modelos descrevem os dados correctamente, como demonstram os resultados do r^2 , cujo valor mínimo obtido é de 0.84 na alteração da postura (Figura 3.4) e 0.86 na oclusão suprasistólica (Figura 3.5). Observa-se, também, que o modelo de um compartimento apresenta resultados de AIC significativamente inferiores ao modelo de 2 compartimentos, nestes dois procedimentos experimentais (tabela 3.9). A associação destes resultados permite afirmar que o modelo que melhor descreve os dados das experiências que envolvem a redução da perfusão é o modelo de um compartimento. De notar que os modelos mais simples devem ser sempre escolhidos, em caso de resultados similares ou próximos, de forma a evitar a sobre-parameterização da análise e, com isso, a introdução de um viés e o aumento da variabilidade aleatória.

Tabela 3.9 – Comparação estatística entre os vários resultados de AKAIKE obtidos durante a fase de comparação de modelos.

Procedimentos experimentais	Alteração da postura		Oclusão suprasistólica		Alteração da inalação de Oxigénio	
	1 Comp.	2 Comp.	1 Comp.	2 Comp.	1 Comp.	2 Comp.
AKAIKE médio	268,2	271,3	302,4	305,8	364,9	371,1
DP	45,87	46,39	60,54	60,92	61,08	58,74
Comparação	p=0.001		p=0.001		p=0.001	

Relativamente aos dados do protocolo 4, verifica-se que os dois modelos descrevem também satisfatoriamente os dados, não obstante os resultados do critério de informação AIC revelam-se favoráveis à selecção do modelo de 1 compartimento. Também os resultados do r^2 favorecem o modelo mais simples. Este parâmetro apresenta como resultado mínimo, para o modelo de 1 compartimento, um valor de 0.72 e, para o modelo de 2 compartimentos, o valor de 0.54 (Figura 3.6). Estes resultados mais baixos devem-se à maior complexidade na evolução do sistema de distribuição do Oxigénio e à existência de um tempo de latência significativo, que não existia ou era insignificante nos outros dois protocolos.

Um outro efeito verificado no modelo de 2 compartimentos prende-se com os valores das constantes α e β . Como resultado do processo de ajustamento, as constantes de velocidade podem adquirir valores semelhantes, se os dados não demonstrarem uma variação bifásica, ou seja, se os dados não suportarem a hipótese dos 2 compartimentos, ou convergirem com uma constante β igual a zero, se o processo de variação não for bifásico. Em ambas as situações, o significado é o mesmo, os dados experimentais não têm uma variação que possa ser explicada por um modelo de 2 compartimentos. A observação dos dados obtidos durante esta validação permite inferir que, entre 50 e 86.7% dos casos, este efeito acontece (Figura 3.7), sendo mais um dos factores desfavoráveis à selecção do modelo bi-compartimental.

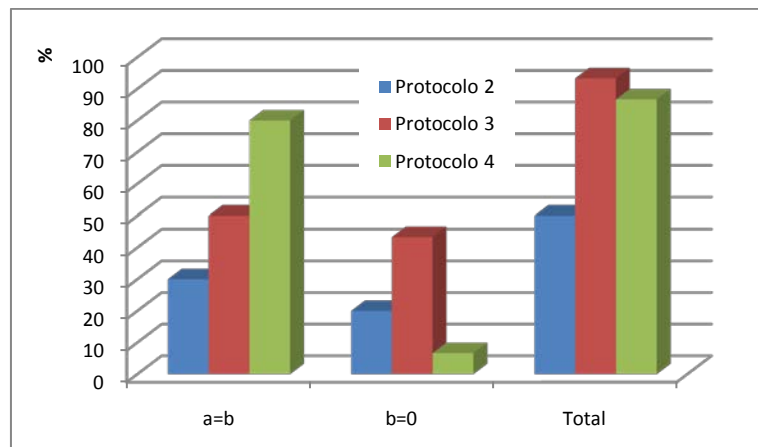


Figura 3.7 - Percentagem de voluntários em relação ao total que, no modelo de 2 compartimentos, apresentaram as constantes α e β iguais ($a=b$) e β igual a zero ($b=0$). A coluna total é o somatório das colunas anteriores.

Este processo de validação experimental permitiu seleccionar o modelo de 1 compartimento como aquele que melhor descreve os dados experimentais nos vários protocolos analisados. Desta forma, os procedimentos seguintes serão realizados exclusivamente com este tipo de modelo.

1.3. Validação das condições de ajustamento dos dados

1.3.1. Confirmação da igualdade das velocidades nas Fases II e III dos protocolos

O processo de validação experimental destinou-se, ainda, a verificar se a existência de várias perfusões implicaria, também, várias velocidades de eliminação, ou seja se as constantes de eliminação durante as fases de descida e de subida do $tcpO_2$ são semelhantes. Desta forma, realizaram-se ajustamentos, em que se procedeu à separação, a partir do modelo 2.13, da constante Ke em 3 constantes diferentes, Ke_1 , Ke_2 e Ke_3 , correspondentes a cada uma das perfusões que vão ocorrendo, segundo a equação 3.2.

$$tcpO_2(t) = \begin{cases} \text{Para } t < T \Rightarrow LDF_1 \cdot I \cdot e^{-k_{e1}t} + LDF_2 \cdot I (1 - e^{-k_{e2}t}) \\ \text{Para } t > T \Rightarrow [LDF_2 \cdot I (1 - e^{-k_{e1}T})] e^{-k_{e2}(t-T)} + LDF_3 \cdot I (1 - e^{-k_{e3}(t-T)}) \end{cases}$$

Equação 3.2

Os resultados da aplicação do modelo de $tcpO_2$ de 1 compartimento, descrito pela equação 3.2, aos dados do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura, encontram-se resumidos na tabela 3.10 e na figura 3.8.

Tabela 3.10 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. Voluntários saudáveis jovens (n=30).
Ajustamento com 3 constantes de velocidade separadas (Ke_1 , Ke_2 e Ke_3).

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	8.55	6.79	5.30	28.2	1.94
LDF2 (UA)	6.79	5.58	4.28	20.7	1.28
LDF3 (UA)	7.49	6.14	4.89	28.0	1.86
I (mmHg.min/l)	11.9	8.31	9.81	38.1	2.96
Ke1 (min⁻¹)	1.11	0.868	0.702	2.90	0.228
Ke2 (min⁻¹)	1.21	1.36	0.449	5.26	0.0001
Ke3 (min⁻¹)	0.924	0.698	0.603	2.54	0.23

Capítulo 3

Validação experimental

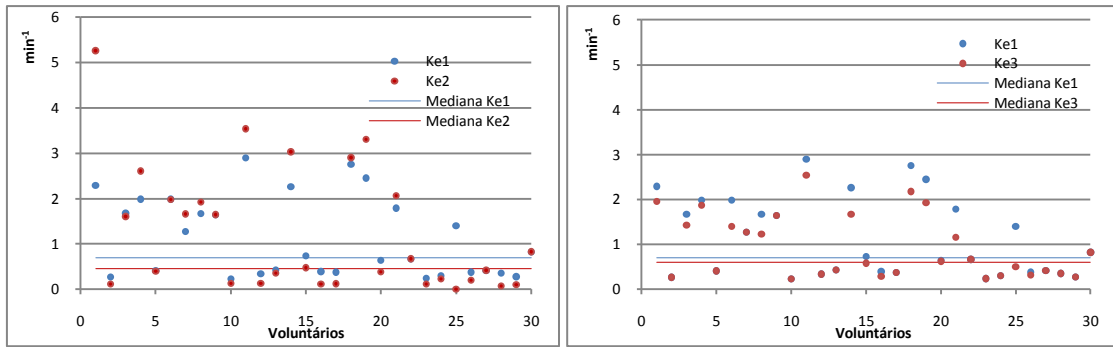


Figura 3.8 - Resumo dos resultados da comparação entre as várias constantes obtidas após o ajustamento. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Comparação entre as constantes Ke_1 e Ke_2 . Direita: Comparação entre as constantes Ke_1 e Ke_3 .

Os resultados da aplicação do modelo de $tcpO_2$ de 1 compartimento, descrito pela equação 3.2, aos dados do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica, encontram-se resumidos na tabela 3.11 e na figura 3.9.

Tabela 3.11 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Voluntários saudáveis jovens ($n=30$). Ajustamento com 3 constantes separadas (Ke_1 , Ke_2 e Ke_3).

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	9.42	12.7	3.81	45.1	1.56
LDF2 (UA)	3.86	2.52	4.26	9.27	0.0790
LDF3 (UA)	11.7	18.7	3.79	80.5	1.47
I (mmHg.min/l)	19.4	13.4	17.9	50.1	1.95
Ke_1 (min^{-1})	0.780	0.215	0.761	1.23	0.284
Ke_2 (min^{-1})	15.9	43.7	0.0001	191	0.0001
Ke_3 (min^{-1})	0.666	0.224	0.716	1.03	0.0200

Capítulo 3

Validação experimental

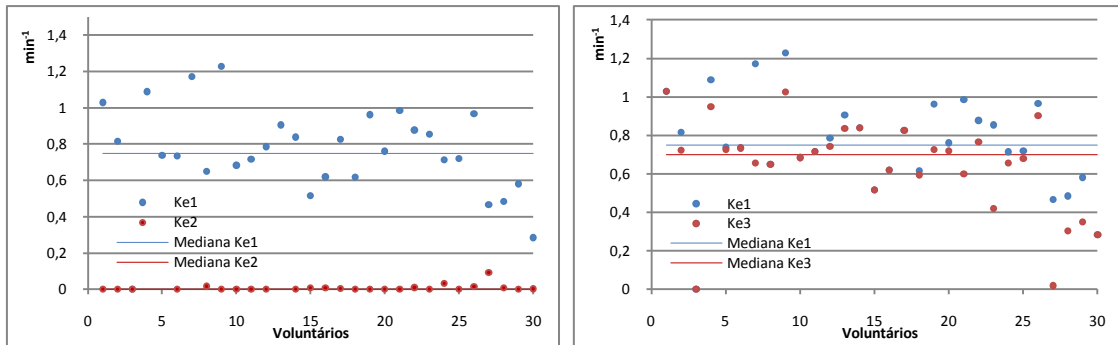


Figura 3.9 - Resumo dos resultados da comparação entre as várias constantes obtidas após o ajustamento. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Comparação entre as constantes Ke_1 e Ke_2 . Direita: Comparação entre as constantes Ke_1 e Ke_3 .

Os resultados da aplicação do modelo de $tcpO_2$ de 1 compartimento, descrito pela equação 3.2, aos dados do procedimento experimental de alteração da inalação do Oxigénio, encontram-se resumidos na tabela 3.12 e na figura 3.10.

Tabela 3.12 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de alteração da inalação de Oxigénio. Voluntários saudáveis jovens ($n=30$). Ajustamento com 3 constantes separadas (Ke_1 , Ke_2 e Ke_3).

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	4.847	5.273	2.501	21.850	0.556
LDF2 (UA)	12.950	14.897	6.101	65.563	1.578
LDF3 (UA)	10.256	21.232	2.918	112.449	0.362
I (mmHg.min/l)	38.178	36.377	22.152	148.851	4.078
Ke1 (min⁻¹)	2.048	1.779	1.381	8.367	0.081
Ke2 (min⁻¹)	0.552	0.403	0.448	1.859	0.119
Ke3 (min⁻¹)	1.662	1.330	1.321	5.012	0.001

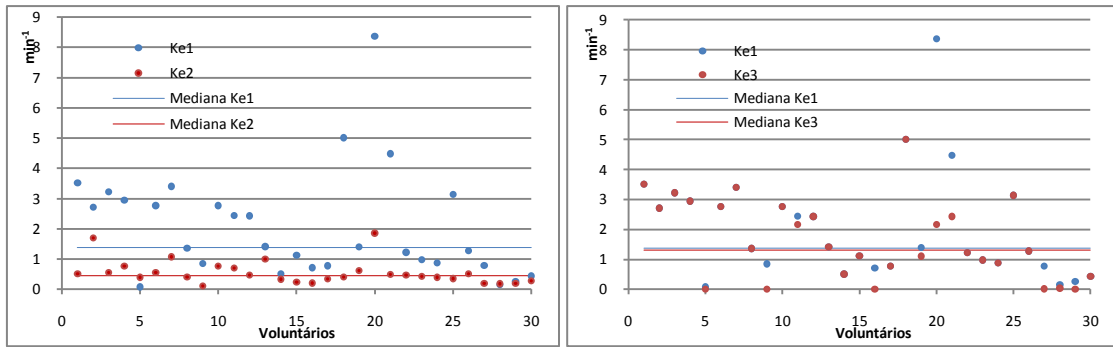


Figura 3.10 - Resumo dos resultados da comparação entre as várias constantes obtidas após o ajustamento. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Comparação entre as constantes Ke_1 e Ke_2 . Direita: Comparação entre as constantes Ke_1 e Ke_3 .

Os resultados anteriores sugerem que as constantes que regulam as perfusões 1 e 3 são exactamente iguais, em pelo menos 70% dos casos analisados. Em alguns casos, como nos procedimentos de alteração da postura e de alteração da inalação de Oxigénio, essa similaridade ocorre em 73.3% dos casos, sugerindo que não existe a necessidade de modelar as constantes de forma separada. Se transformarmos os valores das constantes nos respectivos tempos de semi-vida, e se calcularmos a diferença de tempos de semi-vida que resultam da mediana de cada um dos protocolos, verifica-se que, nos três procedimentos experimentais, a diferença se situa em não mais de 10 segundos, representando diferenças irrelevantes neste tipo de análise. As diferenças maiores registam-se para a constante que rege a perfusão 2, aquela que impede a chegada dos valores de $tcpO_2$ ao zero absoluto. Especialmente em procedimentos que envolvam a redução significativa do fluxo de sangue, esta constante pode adquirir valores muito próximos de zero, como ocorre nos procedimentos de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Neste caso, os valores de $tcpO_2$ observados, durante a oclusão, são praticamente zero e, por conseguinte, o sistema passa a comportar-se como se existissem apenas 2 perfusões (uma de descida e outra de subida), não sofrendo a interferência desta constante de velocidade.

A conclusão deste processo de validação indica que o modelo poderá ser ajustado, sem a separação das constantes resultantes de cada uma das perfusões, ou seja os processos que regem a subida e a descida do Oxigénio na pele são similares.

1.3.2. Influência da introdução do ajuste simultâneo dos dados de LDF

Em termos teóricos, a modelação simultânea do $tcpO_2$ e do LDF pretende aumentar a capacidade discriminatória do modelo. As deduções a partir dos modelos compartimentais

pressupõem a existência de dados de fluxo de sangue que permitem justificar, ainda que de forma rudimentar, o aporte de Oxigénio, sendo certo que o Oxigénio medido não é exclusivamente igual ao que circula nos capilares cutâneos, uma vez que sofre os efeitos da vasodilatação necessária à técnica de medição e do consumo do gás que ocorre na pele. No entanto, os dados de fluxo permitem, pelo menos teoricamente, uma explicação fisiológica mais coerente. Inicialmente, aquando da selecção do melhor modelo compartimental, introduziu-se uma estratégia de ajuste que envolveu a modelação simultânea do fluxo de sangue, na tentativa de reduzir a variabilidade dos dados de tcpO₂, colocando os modelos compartimentais na melhor condição possível para se obterem bons ajustamentos. No entanto, uma vez que nessa fase, o objectivo era a selecção do modelo compartimental e não a melhor estratégia de ajuste, só posteriormente se compararam essas condições. Desta forma, comparou-se o ajuste dos dados observados nos 3 procedimentos experimentais, obtido com um modelo de tcpO₂ de 1 compartimento, incorporando um único parâmetro, com um modelo semelhante de 1 compartimento com o fluxo modelado, segundo as equações 2.13 e 3.1. O modelo incorporando um único parâmetro toma a forma constante na equação 3.3.

$$tcpO_2(t) = \begin{cases} \text{Para } t < T \Rightarrow I_1 \cdot e^{-k_e t} + I_2 (1 - e^{-k_e t}) \\ \text{Para } t > T \Rightarrow [I_2 (1 - e^{-k_e T})] e^{-k_e (t-T)} + I_3 \cdot (1 - e^{-k_e (t-T)}) \end{cases}$$

Equação 3.3

Os resultados obtidos aplicando os modelos de 1 compartimento aos dados da evolução do tcpO₂, provenientes do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura, encontram-se resumidos nas tabelas 3.13 e 3.14 e na figura 3.11:

Tabela 3.13 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. Modelo mais simples. Voluntários saudáveis jovens (n=30).

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
I1(mmHg.min/l)	63.4	13.1	65.9	91.2	40.2
I2(mmHg.min/l)	42.8	15.7	43.0	65.3	0.0001
I3(mmHg.min/l)	61.7	14.0	63.7	84.2	27.5
Ke (min ⁻¹)	0.847	0.321	0.788	1.48	0.313

Capítulo 3

Validação experimental

Tabela 3.14 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por alteração da postura. Modelo com separação do LDF. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	8.68	7.07	5.26	28.2	1.93
LDF2 (UA)	5.72	4.86	3.59	19.2	0.0001
LDF3 (UA)	8.10	6.59	4.94	28.0	1.87
I (mmHg.min/l)	11.8	8.32	9.78	38.1	2.84
Ke (min⁻¹)	0.901	0.344	0.884	1.63	0.334

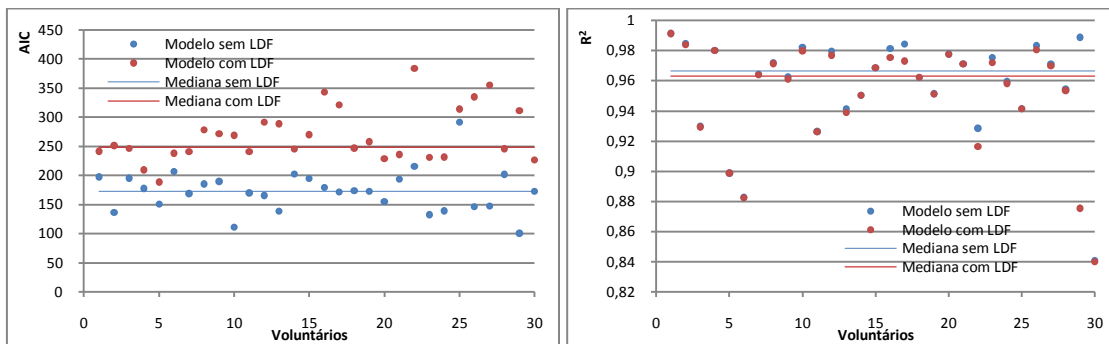


Figura 3.11 - Resumo dos resultados da comparação entre os modelos compartimentais com e sem modelação simultânea do fluxo, a partir dos dados de tcpO₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção Akaike. Direita: Resultados do r².

Os resultados obtidos aplicando os modelos de 1 compartimento aos dados da evolução do tcpO₂, provenientes do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica, encontram-se resumidos nas tabelas 3.15 e 3.16 e na figura 3.12:

Tabela 3.15 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
I1(mmHg.min/l)	75.8	14.8	77.9	100	34.7
I2(mmHg.min/l)	1.35	2.40	0.136	11.3	0.0001
I3(mmHg.min/l)	74.8	13.5	75.9	95.2	35.7
Ke (min⁻¹)	0.732	0.188	0.740	1.13	0.287

Capítulo 3

Validação experimental

Tabela 3.16 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Modelo com separação do LDF. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	10.3	14.2	3.78	45.4	1.56
LDF2 (UA)	0.317	0.509	0.0520	1.90	0.0001
LDF3 (UA)	11.4	18.0	3.69	77.7	1.46
I (mmHg.min/l)	19.4	13.4	18.6	50.0	1.44
Ke (min⁻¹)	0.733	0.200	0.740	1.13	0.215

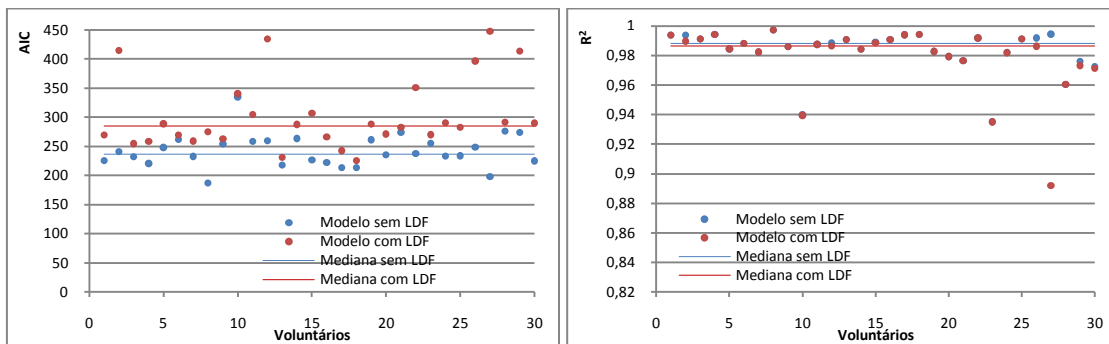


Figura 3.12 - Resumo dos resultados da comparação entre os modelos compartimentais com e sem modelação simultânea do fluxo, a partir dos dados de $tcpO_2$ do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção Akaike. Direita: Resultados do r^2 .

Os resultados obtidos aplicando os modelos de 1 compartimento aos dados da evolução do $tcpO_2$, provenientes do procedimento experimental de alteração da inalação do Oxigénio, encontram-se resumidos nas tabelas 3.17 e 3.18 e na figura 3.13:

Tabela 3.17 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de alteração da inalação de Oxigénio. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
I1(mmHg.min/l)	71.8	19.5	74.7	110	25.8
I2(mmHg.min/l)	241	105	249	451	48.8
I3(mmHg.min/l)	52.4	24.2	52.7	97.3	0.0001
Ke (min⁻¹)	0.383	0.285	0.295	1.60	0.104

Tabela 3.18 - Resultados do modelo de 1 compartimento aplicado ao procedimento de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Modelo com separação do LDF. Voluntários saudáveis jovens (n=30)

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	5.25	6.76	2.60	26.1	0.395
LDF2 (UA)	14.5	19.1	5.69	75.3	1.45
LDF3 (UA)	4.83	7.33	2.52	37.3	0.0001
I (mmHg.min/l)	42.4	41.9	22.9	166	3.25
Ke (min ⁻¹)	0.423	0.298	0.317	1.58	0.104

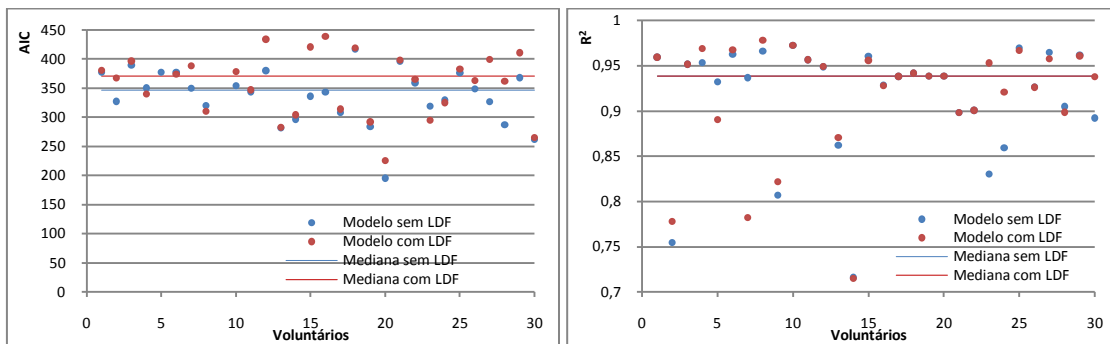


Figura 3.13 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois modelos compartimentais com e sem modelação simultânea do fluxo, a partir dos dados de tcpO₂ do procedimento experimental de alteração da inalação de Oxigénio. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção Akaike. Direita: Resultados do r².

Os resultados mostram que ambas as metodologias de ajuste, representadas pelos dois modelos analisados, permitem descrever bem os dados experimentais, tendo uma elevada capacidade de explicação dos dados de tcpO₂. Nos procedimentos de redução da perfusão, os valores mínimos de r² foram de 0.84 e 0.94, (com o modelo mais simples) e de 0.84 e 0.89 (com o modelo de separação do LDF). No caso dos ajustamentos aos dados de tcpO₂, provenientes do procedimento de alteração da inalação de Oxigénio, os valores mínimos de r² foram de 0.72 para os dois modelos, reflectindo a maior complexidade deste sistema. No entanto, os valores medianos de r², obtidos neste procedimento experimental, foram de 0.94 com ambos os modelos, significando também que o ajuste é bem conseguido. Em termos do critério de informação de Akaike, os resultados são sempre favoráveis ao modelo mais simples. Este facto deve-se à maior simplicidade do modelo, que permite ajustamentos equivalentes

aos que se obtêm quando se modela o LDF, mas com menos 1 parâmetro. Desta forma, o modelo mais simples será o que apresenta melhores resultados.

Se analisarmos os valores médios e medianos do parâmetro K_e (o parâmetro central neste tipo de análise), constata-se que este valor é muito semelhante para os dois processos de ajustamento. Assim, é importante que o modelo apresentado tenha uma explicação fisiológica coerente. Isto significa que o modelo deve descrever, de forma mais completa possível, os processos fisiológicos que ocorrem durante a movimentação do Oxigénio, nos diferentes procedimentos experimentais. Sabendo que o transporte de Oxigénio depende, em grande parte, do fluxo de sangue, e tendo uma forma de estimar esse fluxo, poderemos obter uma maior capacidade explicativa do modelo, caso introduzamos a separação do LDF no modelo de $tcpO_2$. Este facto faz pender a selecção da melhor metodologia de ajuste para aquela em que existe separação do LDF, no entanto também se pode utilizar o modelo mais simples no caso desta coerência fisiológica não ser relevante, ou no caso de existir uma necessidade de resultados mais rápidos.

1.3.3. Utilização do modelo de hiperémia em experiências de redução da perfusão

Dos resultados anteriores, surge a necessidade de modelar o fluxo de forma mais próxima da realidade, especialmente quando os dados são obtidos em protocolos em que se altera a perfusão e se induz a hiperémia, seja por alteração da postura, seja por oclusão suprasistólica. A avaliação experimental seguinte comparou o modelo simples de ajustamento com modelação do LDF (segundo as equações 2.13 e 3.1), com um modelo mais complexo em que se realiza a modelação do fluxo de sangue de forma bi-compartimental, durante a fase de hiperémia (segundo as equações 2.13 e a equação 3.4).

$$LDF(t) = \begin{cases} m \cdot t + LDF_1, & \text{para } t = 0 \\ m \cdot t + LDF_2, & \text{para } 0 > t \leq 10 \\ LDF_3 \cdot I \cdot (e^{-\beta \cdot t} - e^{-\alpha \cdot t}), & \text{para } t > 10 \end{cases}$$

Equação 3.4

Os resultados da aplicação do modelo de $tcpO_2$ (equação 2.13), com ajuste simultâneo do LDF, segundo um modelo mais complexo, descrito pela equação 3.4, encontram-se resumidos na tabela 3.19 e na figura 3.14, para o procedimento experimental de redução da perfusão por

Capítulo 3

Validação experimental

alteração da postura. Na tabela 3.20 e na figura 3.15 encontram-se resumidos os obtidos para o procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Os resultados da aplicação do modelo de tcpO₂ com ajuste simultâneo do LDF, segundo um modelo mais simples (equação 3.1), encontram-se já anteriormente resumidos nas tabelas 3.3, para o procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura, e na tabela 3.5, para o procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica.

Tabela 3.19 - Resultados da aplicação do modelo de tcpO₂ de 1 compartimento com modelação simultânea do LDF, segundo um modelo mais complexo, aos dados provenientes do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura. Voluntários saudáveis jovens (n=30).

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	12.3	9.26	9.42	33.8	1.93
LDF2 (UA)	7.90	6.20	5.69	24.2	0.0001
LDF3 (UA)	11.8	9.04	8.52	34.5	1.90
I (mmHg.min/l)	8.61	7.63	6.17	37.3	1.84
Ke (min⁻¹)	0.901	0.351	0.872	1.81	0.313

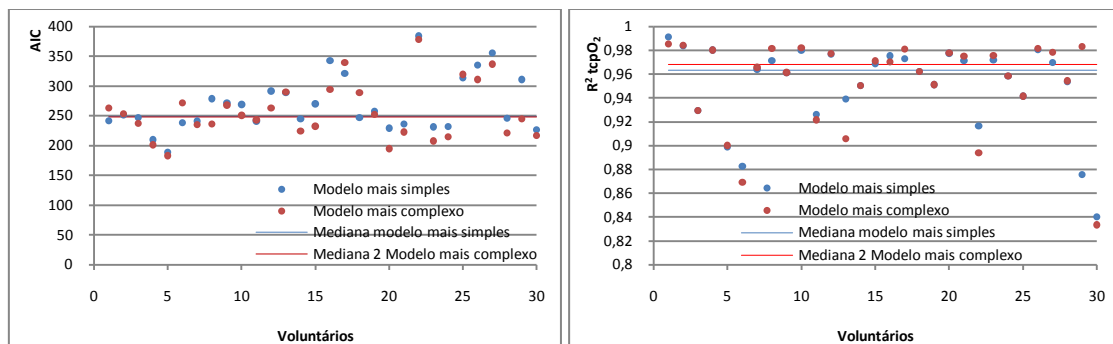


Figura 3.14 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois processos de modelação da hiperémia. Modelos aplicados aos dados de tcpO₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção Akaike. Direita: Resultados do r².

Capítulo 3

Validação experimental

Tabela 3.20 - Resultados da aplicação do modelo de tcpO_2 de 1 compartimento com modelação simultânea do LDF, segundo um modelo mais complexo, aos dados provenientes do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Voluntários saudáveis jovens ($n=30$).

	Média	DP	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	15.0	26.7	3.14	113	0.0002
LDF2 (UA)	1.78	3.43	0.0790	10.2	0.0001
LDF3 (UA)	19.2	50.3	2.76	267	0.0001
I (mmHg.min/l)	2829	10256	24.7	52307	0.398
Ke (min^{-1})	0.742	0.350	0.718	2.22	0.283

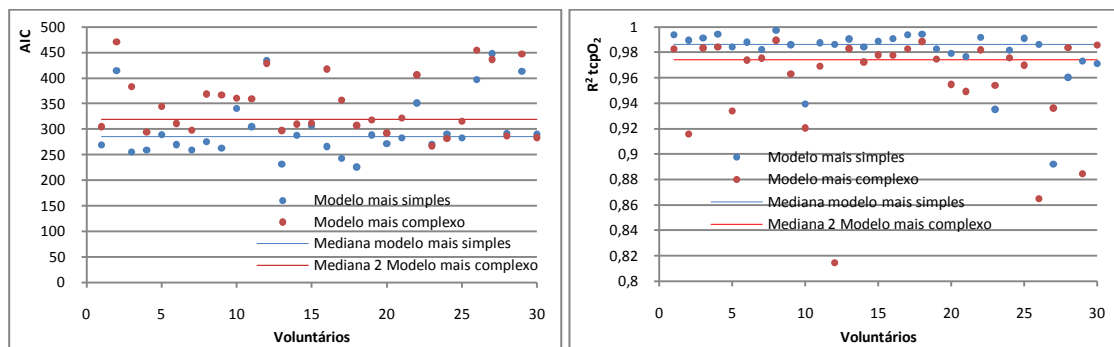


Figura 3.15 - Resumo dos resultados da comparação entre os dois processos de modelação da hiperémia. Modelos aplicados aos dados de tcpO_2 do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de cada voluntário individual. Esquerda: Resultados do Critério de Selecção Akaike. Direita: Resultados do r^2 .

Os resultados anteriores demonstram que, para o procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura, o ajustamento simultâneo do LDF, segundo o modelo mais complexo, produz melhores resultados nos valores de tcpO_2 , no entanto o mesmo não se verifica quando se aplica a mesma estratégia aos dados do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Este facto, apesar de contraditório, significa apenas que o modelo mais simples de LDF passou, também, a explicar de forma mais consistente os valores de LDF, aproximando-se do desempenho do modelo mais complexo.

Em termos fisiológicos, o modelo mais complexo é mais coerente, no entanto apresenta a grande desvantagem de demorar cerca de 100x mais tempo a produzir os mesmos resultados, passando a ser um passo limitante no processo de análise descrito. Desta forma, o modelo mais simples deverá ser o escolhido e, assim, a análise dos dados será realizada com o modelo de 1 compartimento com a modelação mais simples do LDF.

1.3.4. Análise de resíduos

A análise de resíduos permite avaliar a qualidade do ajustamento e se o modelo consegue adequar-se correctamente aos dados.

Os resultados da análise de resíduos, para cada um dos procedimentos experimentais, encontram-se resumidos nas figuras 3.16 a 3.18.

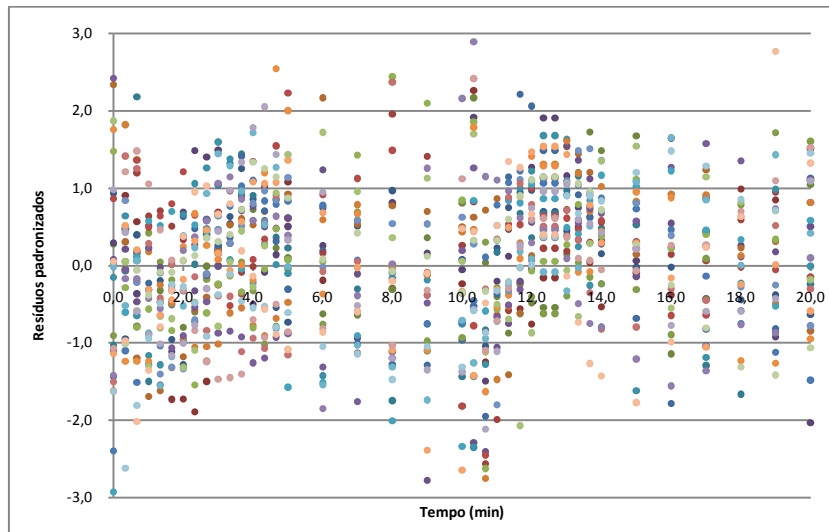


Figura 3.16 - Resíduos padronizados obtidos após o ajustamento do modelo monocompartimental aos dados de tcpO₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por alteração da postura

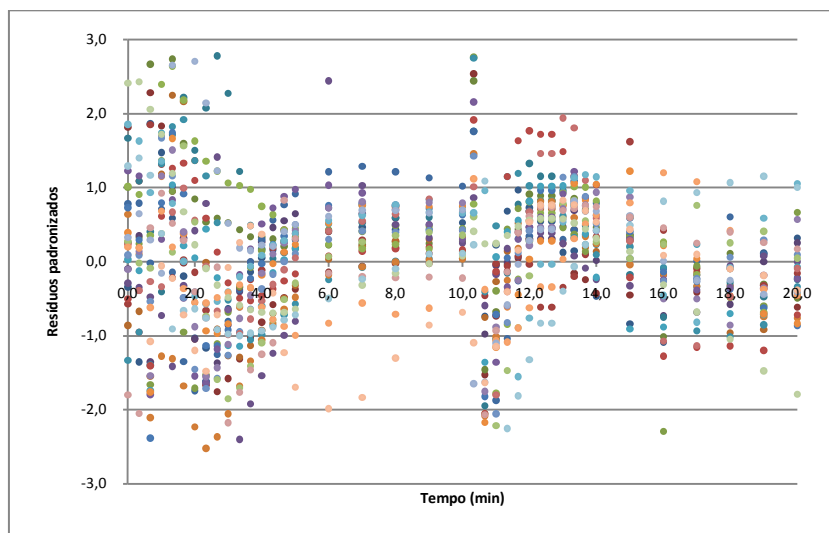


Figura 3.17 - Resíduos padronizados obtidos após o ajustamento do modelo monocompartimental aos dados de tcpO₂ do procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprastólica

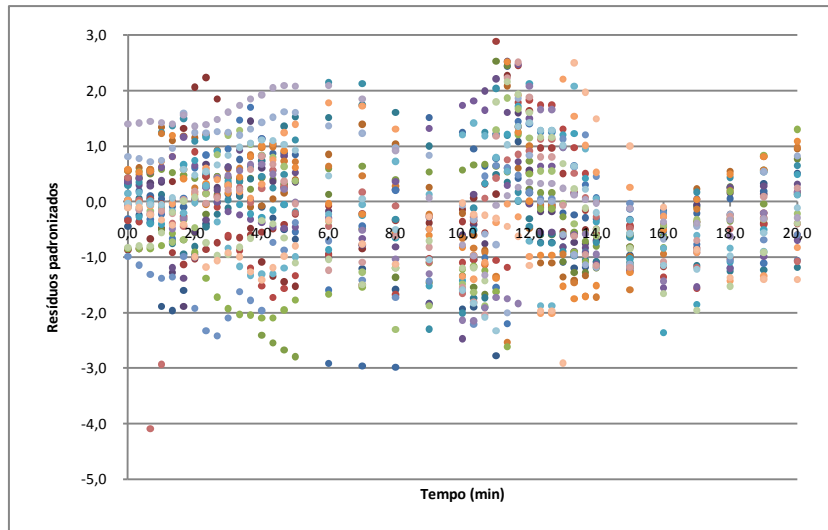


Figura 3.18 - Resíduos padronizados obtidos após o ajustamento do modelo monocompartimental aos dados de tcpO_2 do procedimento experimental de alteração da inalação de Oxigénio

Verifica-se que, nos locais de grande variação, nomeadamente próximo do tempo 10min, existe uma maior dificuldade de ajustamento do modelo, este factor é mais visível no procedimento experimental de redução da perfusão por oclusão suprasistólica, onde existe uma maior e mais rápida variação do tcpO_2 , fruto da hiperémia provocada ser superior. De igual forma, o facto de os valores anteriores e posteriores a este tempo terem resíduos muito baixos, indicando um bom ajustamento do modelo, amplifica este efeito. Assim, para garantir que o ajustamento é correcto, avaliou-se a normalidade da distribuição dos resíduos. Os resultados encontram-se resumidos na figura 3.19.

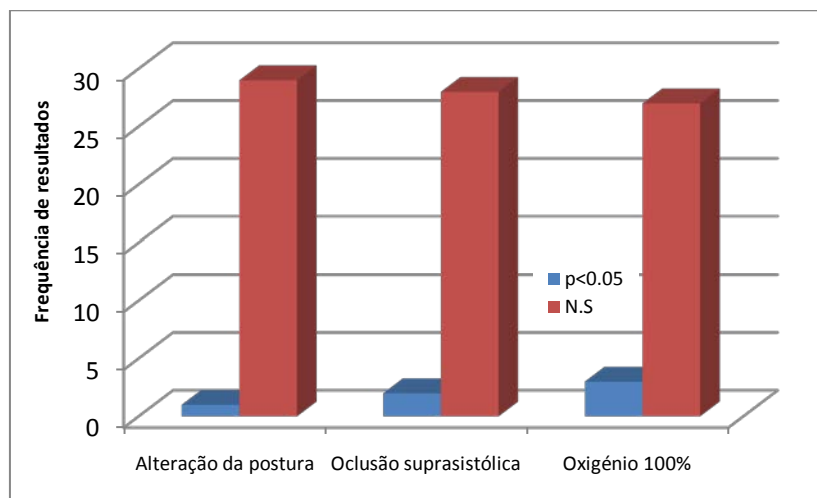


Figura 3.19 - Resultados dos testes de normalidade aplicados aos resíduos padronizados de cada protocolo.

Verifica-se que apenas um valor muito residual de séries de dados apresentam uma distribuição dos resíduos que não é normal, isto acontece em séries de dados que apresentam uma variabilidade muito dispare e onde o ajustamento é inferior. No entanto, os modelos utilizados conseguem descrever esses dados com um r^2 não inferior a 0.82.

1.4. Conclusão da validação experimental

A corrente análise dos dados anteriores permitiu concluir que o melhor modelo que descreve os dados de tcpO_2 , nos vários procedimentos experimentais, será um modelo monocompartimental, com dados de fluxo de sangue a serem modelados simultaneamente, segundo um modelo de LDF sem modelação da hiperémia.

No caso de existir necessidade de modelar o fluxo de sangue durante as experiências que induzem hiperémia, poderá utilizar-se um modelo bicompartimental. No entanto, não é útil aplicar este modelo ao ajustamento simultâneo do tcpO_2 , uma vez que é muito mais moroso.

4. Resultados e Discussão

1. Manobras de alteração da postura

A manobra dinâmica descrita no protocolo de alteração da postura tem por objectivo avaliar a influência hemodinâmica sobre a microcirculação, colocando em evidência qualquer dependência existente.

1.1. Resultados experimentais e discussão

Os dados gerais das variáveis PTEA, Fluxo de sangue (LDF), tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica encontram-se resumidos na figura 4.1 e 4.2 seguintes:

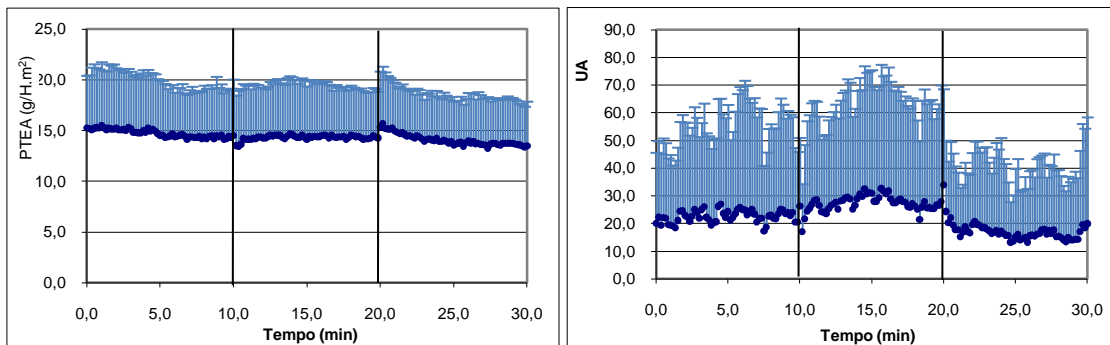


Figura 4.1 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

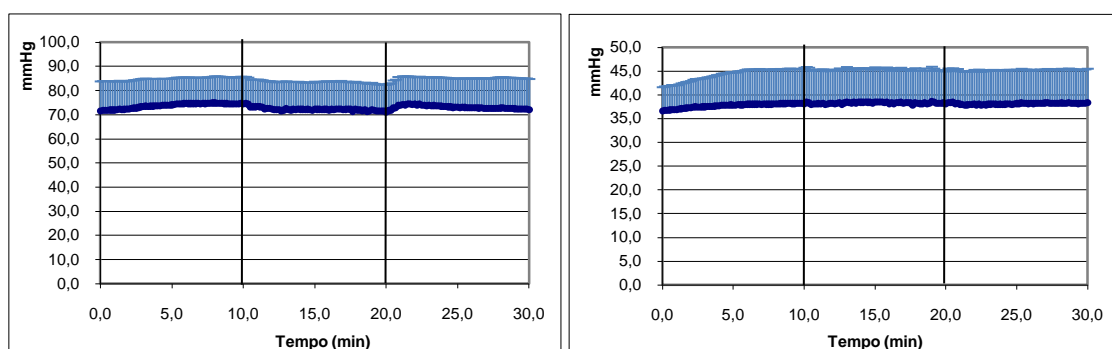


Figura 4.2 - Resultados médios (+ d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

Durante esta manobra dinâmica, o membro inferior passa de uma posição de dependência (quando o indivíduo está sentado com a perna a 90° em relação à posição horizontal), para uma posição horizontal. Esta manobra induz uma alteração hemodinâmica que provoca a elevação dos valores do fluxo (Figura 4.1), ao mesmo tempo que induz uma diminuição da PTEA. Esta relação inversa não tinha sido ainda completamente confirmada, embora em experiências anteriores já tivéssemos dado conta da sua existência^[96]. Em termos gerais, o Oxigénio transcutâneo sofre uma diminuição durante a manobra dinâmica, não existindo indícios da variação simultânea do tcpCO₂ (Figura 4.2).

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase encontra-se resumida na tabela 4.1

Tabela 4.1 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=54)

	PTEA (g/h.m ²)			LDF (UA)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	14,4	14,4	13,7	23,0	27,8	15,8
DP	4,69	4,83	4,32	32,11	36,1	21,3
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,766	0,032	-	0,001	0,001
	tcpO ₂ (mmHg)			tcpCO ₂ (mmHg)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	74,6	71,9	72,7	38,1	38,3	38,2
DP	10,8	11,0	12,4	7,17	6,92	7,03
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,001	0,005	-	0,010	0,188

As alterações observadas são concordantes com a fisiologia microcirculatória anteriormente discutida^[72, 73]. Durante as fases I e III do procedimento experimental, verifica-se uma dependência do reflexo veno-arterial, consistindo num aumento da pressão venosa, que induz uma vasoconstrição capilar, evitando o aparecimento de edema. Durante a manobra dinâmica, o membro inferior é elevado e colocado numa posição não dependente, com a consequente redução da pressão venosa e o aumento do fluxo microcirculatório (Figura 4.1 e tabela 4.1).

O Oxigénio transcutâneo também sofre alterações dependentes, provavelmente, dos movimentos do fluxo de sangue. O Oxigénio disponível no tecido cutâneo depende, por um lado, do conteúdo arterial de Oxigénio e por outro do fluxo de sangue. Quando se coloca o membro inferior numa posição dependente (Fases I e III), desencadeia-se uma vasoconstrição local que deveria reduzir também o valor de $tcpO_2$, no entanto, uma vez que a técnica de medição provoca, ao mesmo tempo, uma vasodilatação dependente do eléctrodo, verifica-se uma redistribuição microcirculatória do sangue a favor do local de medição, desencadeando o aumento do $tcpO_2$ ^[81]. Quando o membro deixa a posição de dependência, este efeito desaparece e o $tcpO_2$ é reduzido significativamente, tal como se observa na fase II (Figura 4.2 e tabela 4.1).

Em termos de PTEA, ocorre um efeito semelhante, no entanto, não havendo qualquer força vasodilatadora exterior, a explicação poderá apenas ter que ver com uma redistribuição das forças de Starling a favor da passagem de água para o tecido^[136].

O $tcpCO_2$ também aumenta, ligeiramente, durante a fase II do protocolo, como consequência da redução do valor do Oxigénio, no entanto este factor parece estar mais dependente da existência de variabilidade, uma vez que os valores não têm expressão fisiológica, ainda que tenha significância estatística (tabela 4.1).

1.2. Comparação por idades

A análise dos valores médios estratificados por idades encontra-se resumida nas figuras 4.3 e 4.4 seguintes.

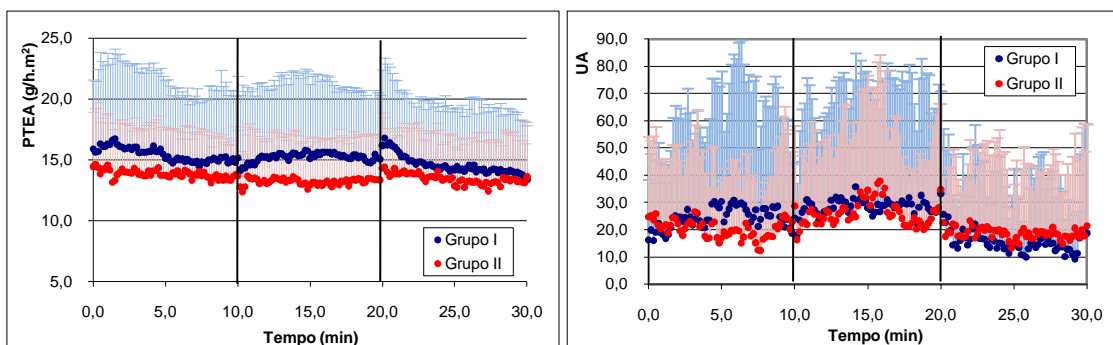


Figura 4.3 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

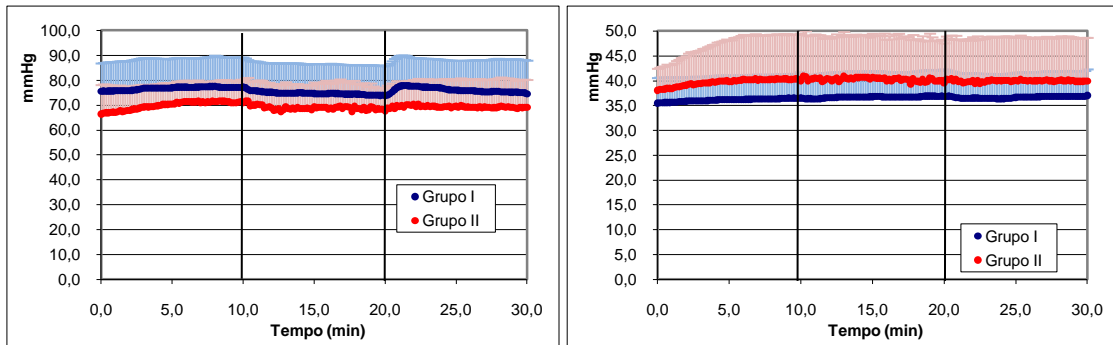


Figura 4.4 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase em função da idade encontra-se resumida nas figuras 4.5 e 4.6.

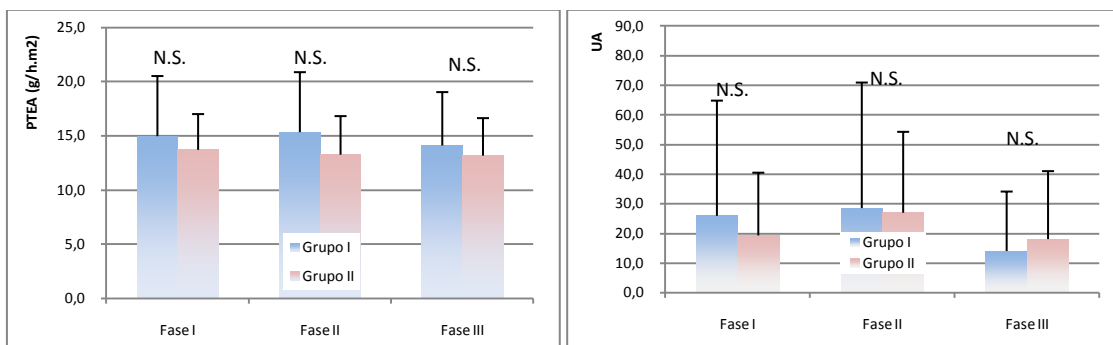


Figura 4.5 – Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

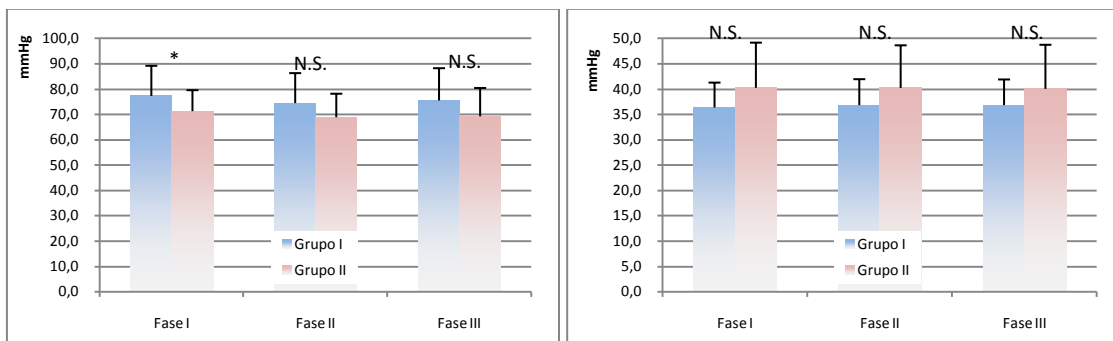


Figura 4.6 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Tabela 4.2 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo) (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Grupo I	N.S.	N.S.	p=0.006	p=0.005	p=0.001	p=0.043	p=0.009	p=0.021
Grupo II	N.S.	N.S.	p=0.002	p=0.031	p=0.016	N.S.	N.S.	N.S.

Verifica-se que a evolução de todas as variáveis, durante as manobras de alteração da postura, é semelhante à variação geral, não existindo diferenças significativas na população analisada (figuras 4.5 e 4.6). Isto significa que, apesar de alguns relatórios indicarem a existência de diferenças na resposta a este tipo de manobras dependentes da idade^[72], especialmente no fluxo de sangue, os voluntários analisados não apresentam um grau de alteração suficientemente elevado para verificar estatisticamente essas diferenças. Observa-se, no entanto, uma redução aparente nos valores de PTEA e fluxo de sangue no grupo II (mais velhos) (Figuras 4.3 e 4.5 e tabela 4.2), que poderão ser indicativos de algum grau de comprometimento do reflexo veno-arterial. Este resultado é ainda mais evidente na fase I da variável tcpO₂, que apresenta já uma redução estatisticamente significativa (Figura 4.6).

1.3. Comparação por género

A análise dos valores médios estratificados por género encontra-se resumida nas figuras 4.7 e 4.8 seguintes.

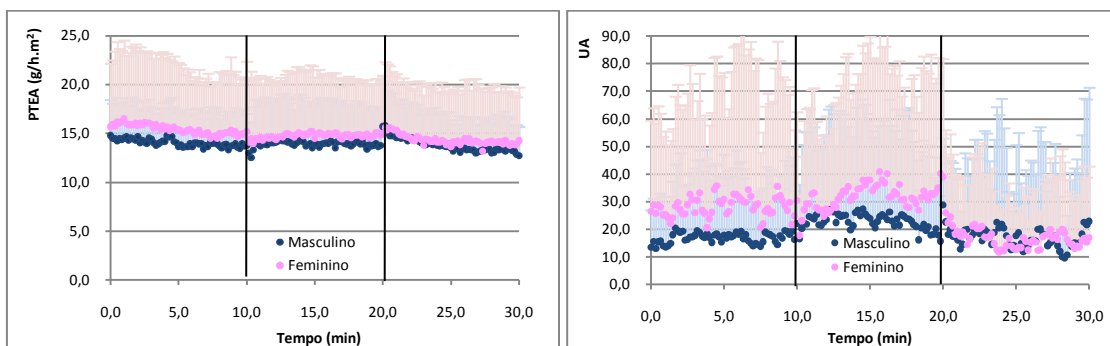


Figura 4.7 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

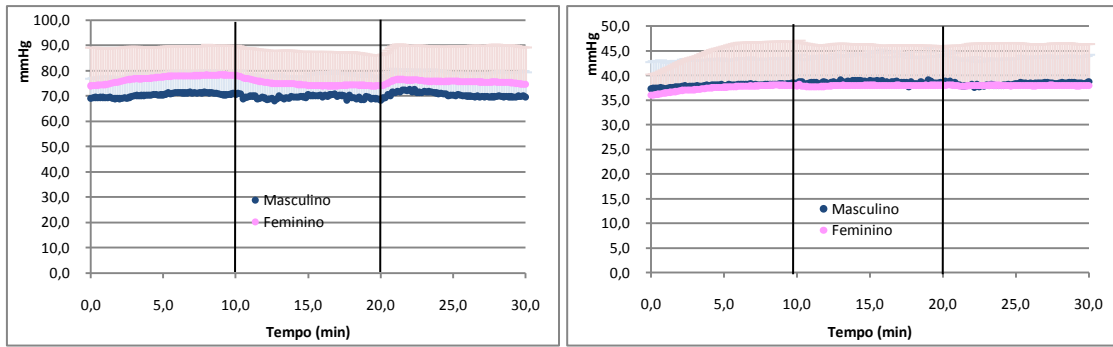


Figura 4.8 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO2 (esquerda) e tcpCO2 (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase em função do género encontra-se resumida nas figuras 4.9 e 4.10.

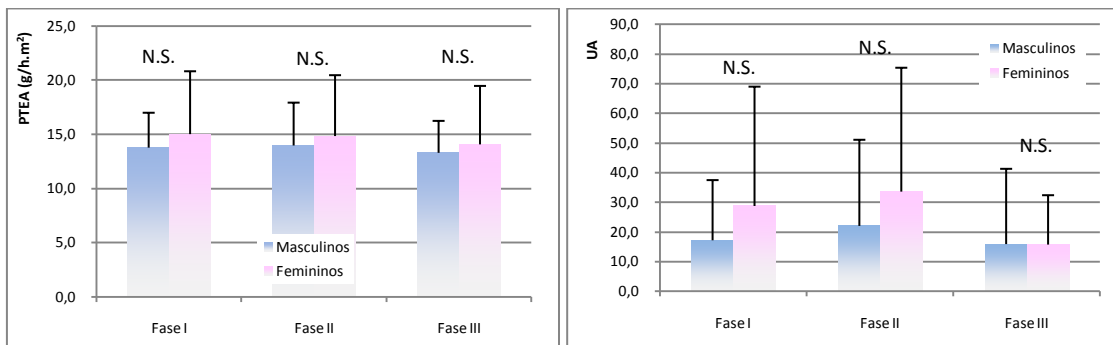


Figura 4.9 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

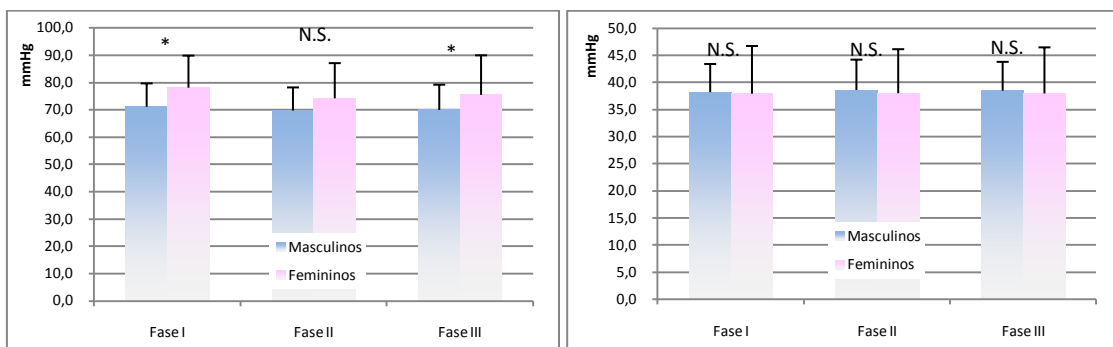


Figura 4.10 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO2 (esquerda) e tcpCO2 (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Tabela 4.3 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração da postura. Comparação estratificada por género. (N.S. – Não significativo). (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Masculinos	N.S.	N.S.	p=0.027	p=0.003	N.S.	N.S.	p=0.045	N.S.
Femininos	N.S.	N.S.	p=0.001	p=0.013	p=0.001	p=0.016	N.S.	N.S.

A análise dos dados estratificados por género sugere, também, que não existem diferenças significativas entre os indivíduos masculinos e femininos nas variáveis PTEA, fluxo de sangue e tcpCO₂. Relativamente à variável tcpO₂, existem diferenças nos valores basais que reflectem as diferenças histológicas da pele feminina em relação à pele masculina. Alguns autores sugerem algumas explicações para este efeito, nomeadamente as diferenças de espessura na epiderme dos homens e das mulheres, com a consequente diferença na capacidade de difusão do Oxigénio pelo tecido e diferença entre o consumo de Oxigénio pelo tecido, que será menor nas mulheres, permitindo uma maior saída do mesmo e, consequentemente, valores de repouso superiores e, finalmente, uma maior estabilidade térmica nas mulheres, dependente dos factores anteriores, que determina um menor consumo de Oxigénio por parte do eléctrodo de medição e, consequentemente, um aumento dos valores de repouso^[137-140]. Estes factores não se manifestam tanto durante o período de tempo em que o membro não está em dependência (durante a Fase II) e, portanto, não existem diferenças significativas entre os géneros nesta fase.

1.4. Relação Fluxo de sangue - PTEA

Um dos aspectos menos esclarecidos, relacionado com as variáveis estudadas e que sobressai da sua análise imediata, é a existência de uma relação entre a PTEA e o fluxo de sangue. Esta relação parece (fisiologicamente) lógica, apesar de pouco explorada^[96]. A realização de uma manobra dinâmica mais duradoura permitiu colocar em evidência esta relação, nomeadamente quando se relaciona a variação do fluxo de sangue (manobra-basal) com a variação da PTEA (manobra-basal). Os resultados encontram-se resumidos na figura 4.11 e nas tabelas 4.4 e 4.5.

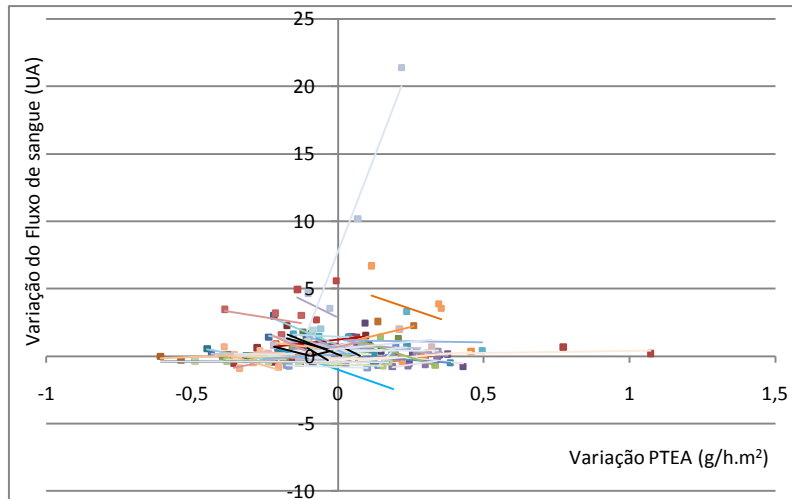


Figura 4.11 - Relação PTEA vs Fluxo de sangue estabelecida durante a manobra de alteração da postura. Dados individuais de cada voluntário.

Tabela 4.4 - Resultados médios dos declives obtidos com os valores individuais durante as manobras de alteração da postura (n=54).

	Média	Desv. Padrão	Mediana	Máximo	Mínimo
Declive (Adimensional)	-0,759	9,667	-1,008	56,47	-12,48

Tabela 4.5 - Correlação entre a PTEA e o Fluxo de Sangue. Valores dos coeficientes de correlação de Spearman e de Pearson obtidos nos resultados de todos os voluntários agrupados (n=54).

	Pearson	Spearman (Rho)
Coefficiente de Correlação	-0,137	-0,139
Estatística (valor de p)	0,030	0,028

Em concordância com todos os resultados anteriores, expressos na figura 4.1 e tabela 4.1, existe uma correlação inversa entre a PTEA e o fluxo de sangue (tabela 4.4). Esta correlação é significativa (tabela 4.5) e indicia que, durante a fase de dependência, poderá ocorrer uma redistribuição das forças de Starling a favor da menor passagem de sangue pelo tecido. Durante a elevação do membro inferior, e com o conseqüente aumento do fluxo, induz-se um efeito de “wash out” que poderá provocar um aumento da pressão hidrostática intersticial ou uma redução da pressão hidrostática capilar, com a redução da saída de água para o tecido cutâneo e, conseqüentemente, para o exterior. Teoricamente, este efeito só poderá acontecer porque o fluxo de sangue, em qualquer dos casos, é muito reduzido, e, por conseguinte, a alteração das pressões hidrostáticas será sempre marginal, ainda que capaz de induzir esta relação inversa.

2. Manobras de redução da perfusão

2.1. Por alteração da postura

Este tipo de manobra dinâmica pretende provocar uma alteração mais significativa nas relações hemodinâmicas, através de uma alteração da postura, que provoca uma redução da perfusão por meio de uma manobra fisiológica normal. O resultado desta manobra é o desenvolvimento de uma hiperémia reactiva, ainda que reduzida, sendo útil para demonstrar a resposta do sistema vascular em condições de stresse fisiológico.

2.1.1. Resultados experimentais e discussão

Os dados gerais das variáveis PTEA, Fluxo de sangue (LDF), tcpO₂ e tcpCO₂, durante a manobra dinâmica, encontram-se resumidos na figura 4.12 e 4.13 seguintes:

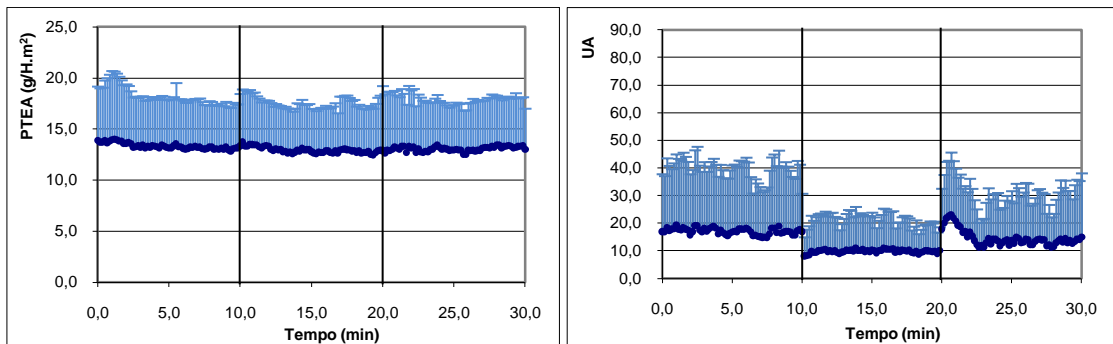


Figura 4.12 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

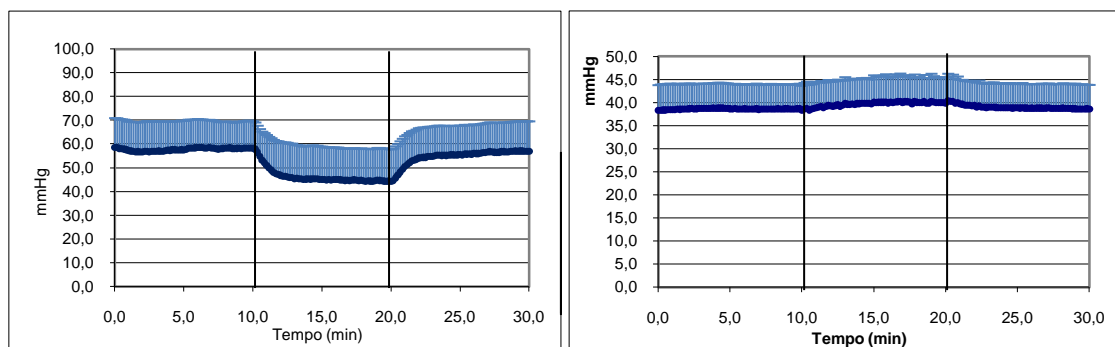


Figura 4.13 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase encontra-se resumida na tabela 4.5.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Tabela 4.6 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=54)

	PTEA (g/h.m ²)			LDF (UA)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	13,2	12,8	13,1	16,7	10,2	13,4
DP	4,53	4,75	4,86	20,7	10,3	16,4
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,105	0,657	-	0,001	0,001
	tcpO ₂ (mmHg)			tcpCO ₂ (mmHg)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	61,9	44,4	59,3	38,6	40,0	38,7
DP	11,8	14,3	12,6	5,33	5,56	5,28
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,001	0,001	-	0,001	0,230

Durante este procedimento experimental (elevação da perna a 45° em relação ao inicial), o membro inferior passa de uma posição de decúbito para uma posição de dependência. Este efeito provoca uma diminuição do fluxo de sangue local, por efeito da gravidade, e a consequente redistribuição do aporte de sangue ao local, que provoca uma alteração da distensibilidade dos vasos na tentativa de compensar este efeito. Quando o membro retoma a posição inicial, deixando a posição de dependência, a vasodilatação anterior, provocada pela redução do fluxo, absorve a onda de sangue inicial, desencadeando-se uma hiperémia reactiva. Esta explicação é consistente com os dados observados. O fluxo de sangue é reduzido durante a manobra de elevação do membro (Figura 4.12). A comparação dos últimos 5 minutos de cada fase mostra que esta redução é estatisticamente significativa (tabela 4.6). Os valores de tcpO₂ são, também, reduzidos durante a manobra dinâmica, de acordo com a redução inicial do fluxo de sangue (Figura 4.13), também produzindo diferenças estatisticamente significativas relativamente aos valores iniciais (tabela 4.6). Os valores de PTEA são reduzidos, embora não de forma estatisticamente significativa, devido à diminuição do aporte de sangue ao local, que, nesta manobra, é substancialmente mais drástica do que na manobra anterior, sobrepondo-se este efeito a qualquer outra adaptação provocada pelas forças de Starling (tabela 4.6). Finalmente, os valores de tcpCO₂ aumentam significativamente

durante a fase de elevação do membro inferior, como resultado da redução da eliminação dos metabolitos de excreção pela microcirculação durante a fase de redução do fluxo de sangue. No momento em que o membro inferior é colocado na posição inicial, o fluxo é normalizado e os valores basais são restabelecidos (figura 4.13 e tabela 4.6).

2.1.2. Comparação por idades

A análise dos valores médios estratificados por idades encontra-se resumida nas figuras 4.14 e 4.15 seguintes.

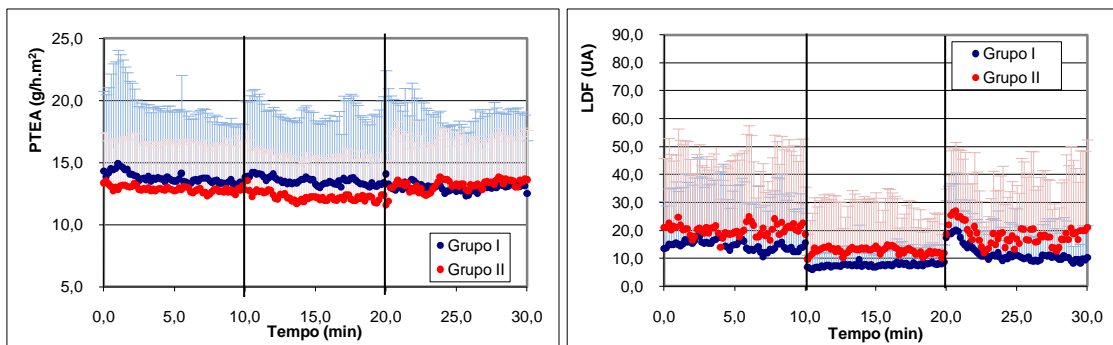


Figura 4.14 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

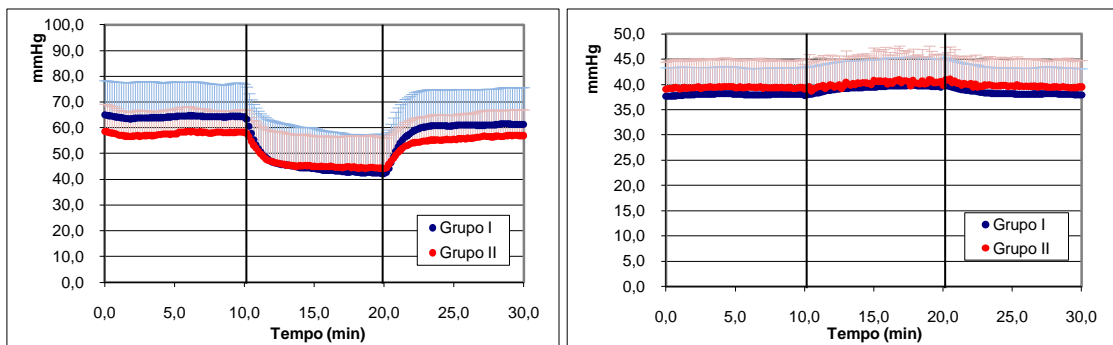


Figura 4.15 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase em função da idade encontra-se resumida nas figuras 4.16 e 4.17.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

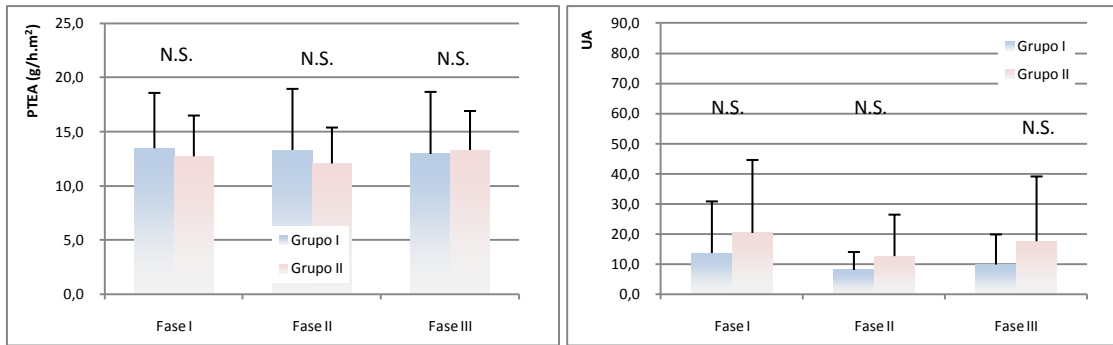


Figura 4.16 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

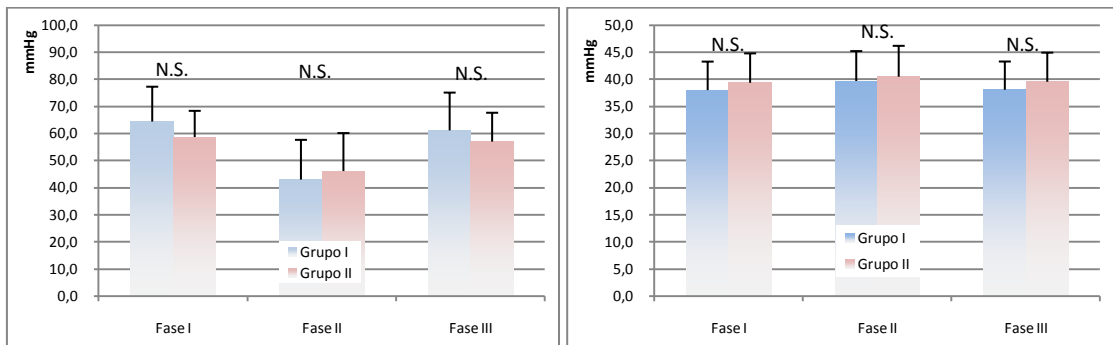


Figura 4.17 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Tabela 4.7 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo). (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Grupo I	N.S.	N.S.	$p=0,001$	$p=0,001$	$p=0,001$	$p=0,001$	$p=0,001$	N.S.
Grupo II	N.S.	N.S.	$p=0,002$	N.S.	$p=0,001$	N.S.	$p=0,001$	N.S.

Os resultados das figuras 4.14 a 4.17 demonstram que, relativamente a este tipo de análise, não existem diferenças significativas na evolução de qualquer uma das variáveis, quando estratificadas por idades. Uma vez mais, apesar de existirem indicadores que demonstram que o fluxo de sangue se altera neste tipo de manobras em função da existência de patologia

vascular periférica^[78], não foi possível observar essas diferenças nos indivíduos mais velhos, que à partida teriam maior susceptibilidade a essas alterações. Também a comparação estratificada das várias fases apresenta resultados semelhantes, quando se comparam as fases mais relevantes (Fase II com a Fase I), entre os dois grupos (tabela 4.7), o que demonstra que este tipo de análise não permitiu distinguir qualquer tipo de anomalia nestes voluntários.

2.1.3. Comparação por género

A análise dos valores médios estratificados por género encontra-se resumida nas figuras 4.18 e 4.19 seguintes.

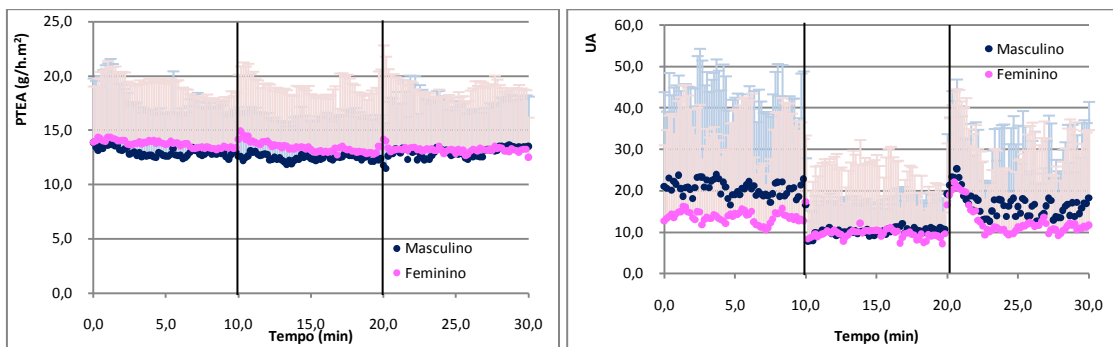


Figura 4.18 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

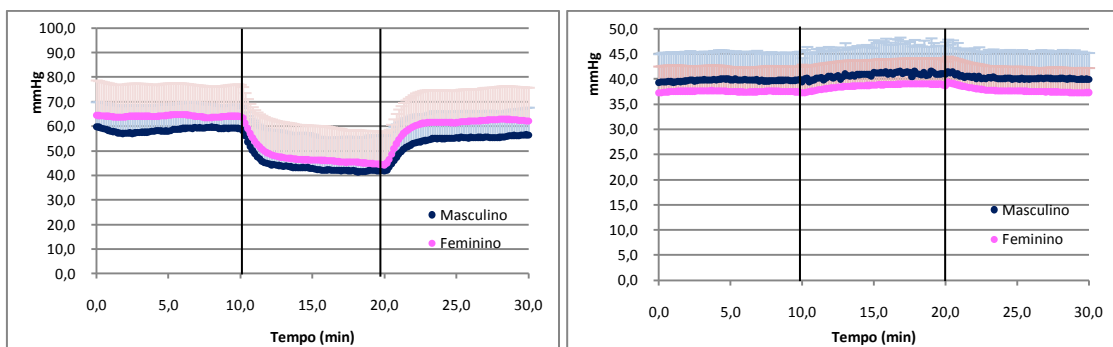


Figura 4.19 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração postural.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase em função do género encontra-se resumida nas figuras 4.20 e 4.21.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

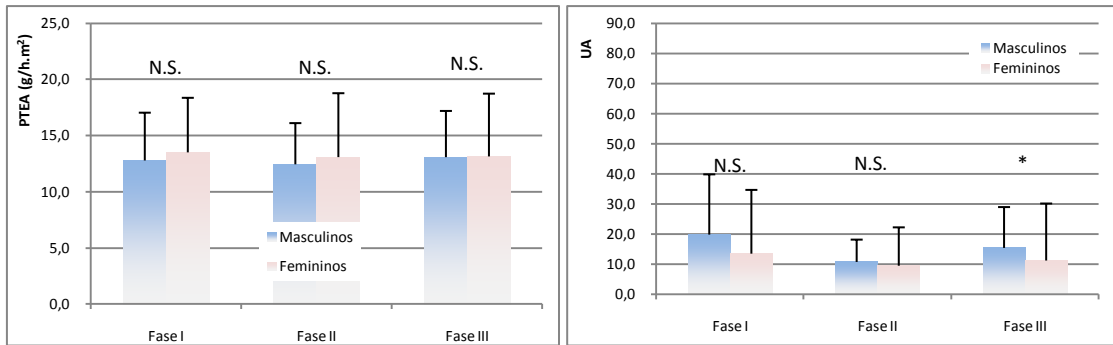


Figura 4.20 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

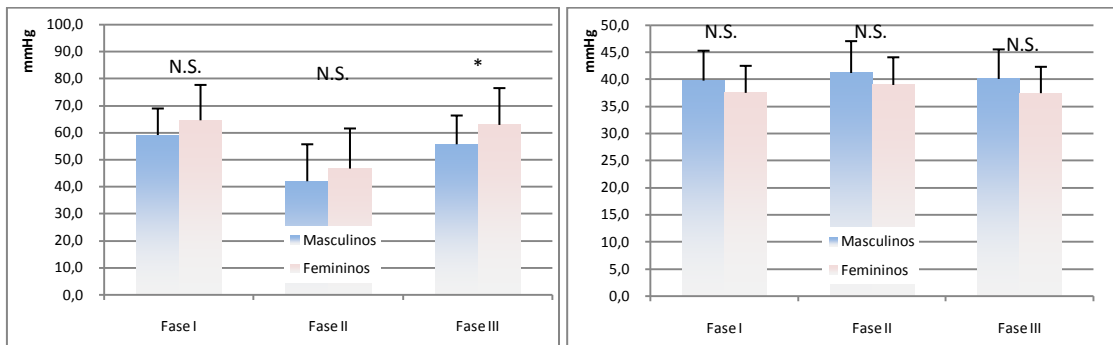


Figura 4.21 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Tabela 4.8 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estratificada por género. (N.S. – Não significativo). (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Masculinos	N.S.	N.S.	$p=0.001$	$p=0.001$	$p=0.032$	$p=0.001$	$p=0.001$	N.S.
Femininos	N.S.	N.S.	$p=0.001$	$p=0.001$	$p=0.001$	N.S.	$p=0.001$	N.S.

Os resultados apresentados nas figuras 4.18 a 4.21 demonstram que não existem diferenças significativas na resposta à redução da perfusão, por alteração da postura, em qualquer uma das variáveis. Mais uma vez, também se observa que os valores de tcpO₂ são ligeiramente superiores nas mulheres em relação aos homens, confirmando os resultados anteriores. No

entanto estes resultados não são estatisticamente significativos, provavelmente como resultado da variabilidade interindividual existente. Os resultados da comparação das várias fases estratificados por género (Fase II com FaseI) são também equivalentes, indicando que o género não influencia os resultados basais e a análise mais simples das variáveis (tabela 4.8).

2.1.4. Modelação matemática

2.1.4.1. Resultados gerais do ajustamento

Os resultados individuais dos ajustamentos do modelo monocompartimental de tcpO_2 aos dados experimentais, durante este procedimento experimental, encontram-se resumidos nas figuras 4.22 e 4.23. Por uma questão de melhor visualização dos ajustamentos, optou-se por separar os voluntários saudáveis em quatro grupos (voluntários jovens masculinos e femininos e voluntários mais velhos masculinos e femininos).

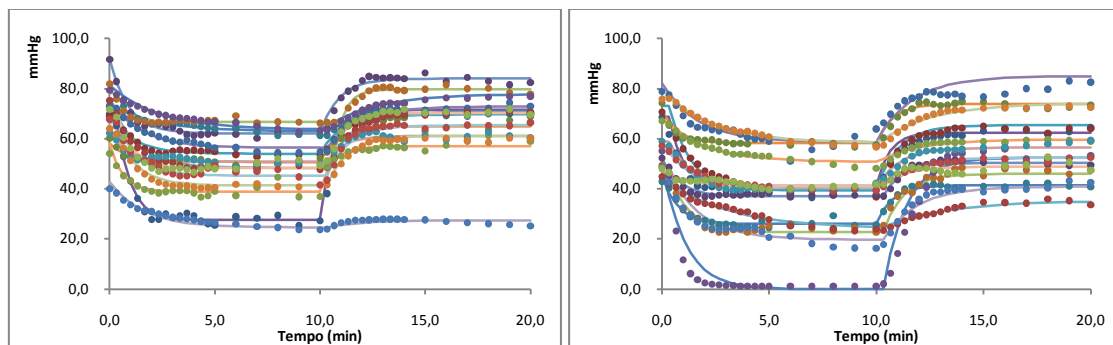


Figura 4.22 – Representação gráfica da evolução do tcpO_2 de todos os voluntários com e sem modelação matemática. *Esquerda*: Voluntários jovens femininos. *Direita*: Voluntários jovens masculinos. *Pontos*: Dados experimentais observados. *Linhas*: Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

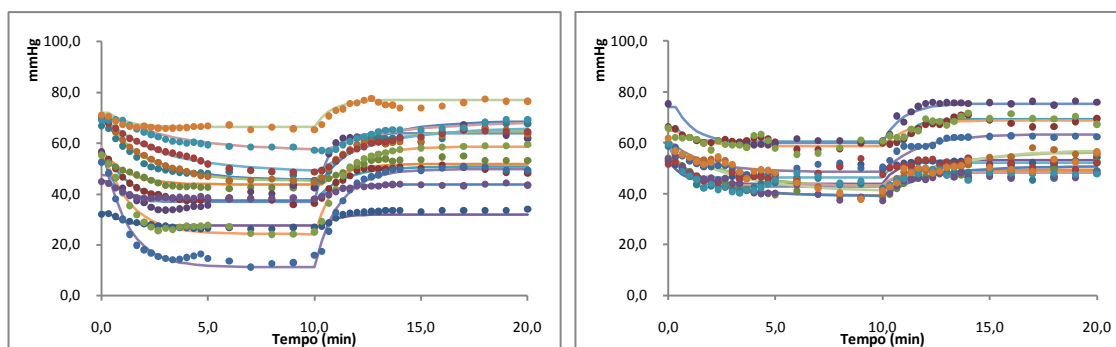


Figura 4.23 – Representação gráfica da evolução do tcpO_2 de todos os voluntários com e sem modelação matemática. *Esquerda*: Voluntários idosos femininos. *Direita*: Voluntários idosos masculinos. *Pontos*: Dados experimentais observados. *Linhas*: Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

A análise dos dados de tcpO_2 e de Fluxo de sangue permitiu verificar a existência de uma variabilidade interindividual elevada. Esta variabilidade reflecte-se, especialmente, nos dados de fluxo de sangue (Figura 4.12 e tabela 4.6), dificultando a correcta visualização dos dados médios provenientes do ajustamento do modelo aos dados experimentais. Procedeu-se, assim, à normalização em função do valor do fluxo inicial experimental, calculado nos últimos 5 minutos antes do início do procedimento experimental. Esta normalização permitiu confirmar que, quer os dados experimentais médios quer os dados médios gerados pelo modelo são coincidentes, sendo uma informação adicional como medida da qualidade de ajustamento do modelo. A representação normalizada encontra-se resumida na figura 4.24.

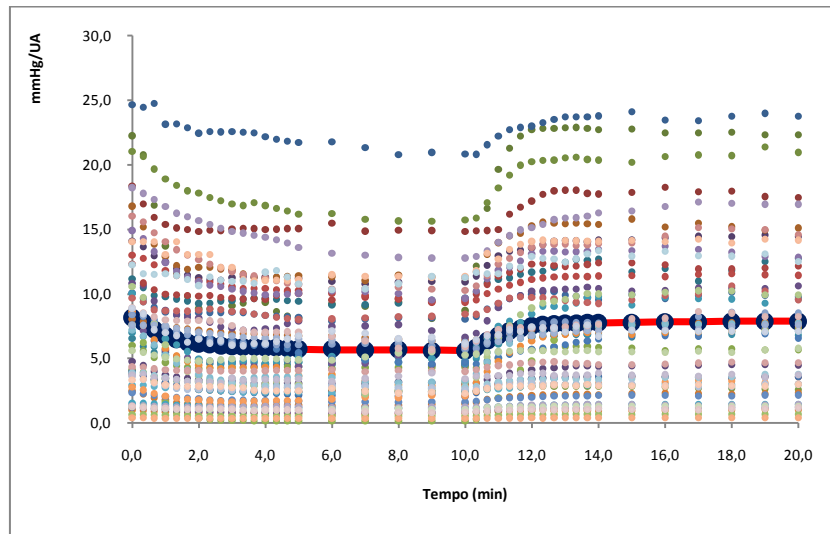


Figura 4.24 – Representação gráfica dos valores de tcpO_2 normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.

A tabela 4.9 resume a estatística descritiva de todos os parâmetros gerados pelo modelo monocompartimental de tcpO_2 .

Tabela 4.9 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO_2 durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de todos os voluntários. (n=54).

	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	15,6	20,0	7,19	108	1,93
LDF2 (UA)	11,5	16,0	5,42	90,02	0,001
LDF3 (UA)	15,2	20,0	6,72	105	1,86
I (mmHg.min/l)	9,24	7,27	7,82	38,2	0,417
Ke (min⁻¹)	0,999	0,489	0,940	2,55	0,334
T_{1/2e} (min)	0,893	0,480	0,738	2,08	0,272

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de $T_{1/2e}$ e vice-versa.

Os parâmetros de fluxo (LDF1, LDF2 e LDF3), que entram na definição do modelo de tcpO_2 , são calculados com base na evolução da variável LDF durante o procedimento experimental. Como medida da qualidade de ajustamento do modelo aos dados experimentais, compararam-se os fluxos gerados pelo modelo com os fluxos experimentais obtidos individualmente. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 4.10.

Tabela 4.10 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração da postura.

Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo)

	Experimental		Calculado		Comparações
	Média	DP	Média	DP	Valor de p
LDF1	16,75	20,65	15,63	19,99	0,236 (N.S.)
LDF2	10,20	10,35	11,46	16,00	0,092 (N.S.)
LDF3	13,40	16,44	15,24	19,96	0,299 (N.S.)

Os resultados mostram que o modelo compartimental descreve correctamente os valores observados (figuras 4.22 a 4.24). Também os fluxos gerados pelo modelo não são estatisticamente diferentes dos fluxos experimentais, contribuindo para garantir que a evolução experimental dos dados é correctamente representada pelo modelo matemático criado. É de salientar que, durante a fase de análise compartimental, o número de pontos experimentais utilizados foi reduzido. Os primeiros 9,83 minutos são eliminados, uma vez que, neste período de tempo, os valores são estáveis, admitindo-se que o sistema se encontra em estado estacionário. Desta forma, durante todas as fases de modelação matemática, o tempo zero corresponde, na realidade, ao tempo 10 min das experiências. Também se revela importante referir que a análise do tempo de semi-vida, e todas as suas comparações, são realizadas com os dados medianos e não com os dados médios, uma vez que estes valores são mais representativos da evolução das variáveis, ao serem menos influenciados por valores extremos. Verifica-se, assim, que os dados totais apresentam um tempo de semi-vida mediano de 0,738 minutos (tabela 4,9).

2.1.4.2. Análise de resíduos

A análise de resíduos obtida com todos os resultados encontra-se resumida na figura 4.25.

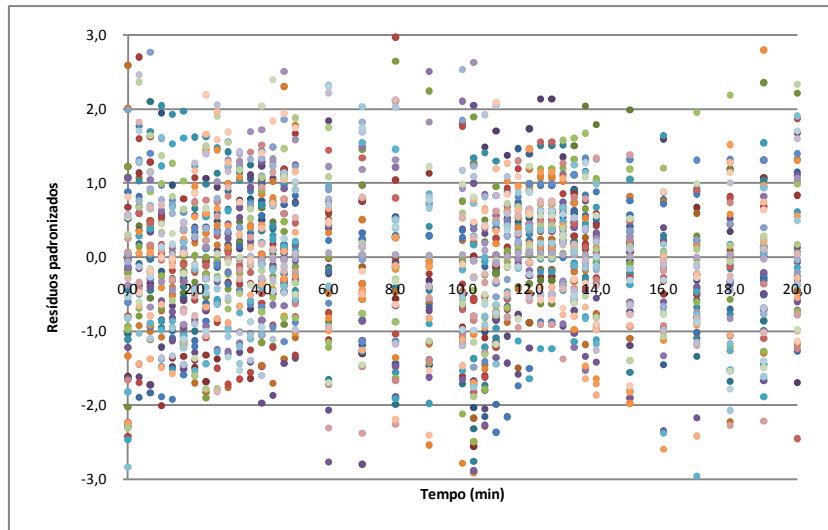


Figura 4.25 - Resíduos padronizados obtidos após modelação matemática de todos os voluntários saudáveis.

Durante a fase de modelação matemática, foi sempre realizado um teste à normalidade dos resíduos, por forma a determinar se os mesmos seguiam uma distribuição normal, sendo esta também uma forma de averiguar a qualidade geral do ajustamento. Esses resultados, para a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura, encontram-se resumidos na figura 4.26

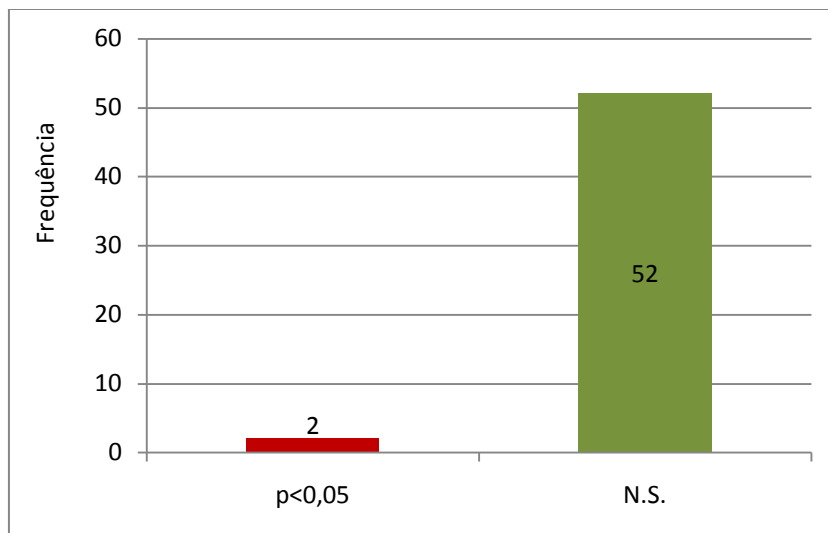


Figura 4.26 - Histograma de frequências dos resultados do teste de normalidade realizado a cada uma das séries de resíduos.

A análise dos resíduos padronizados permitiu demonstrar que os mesmos se encontravam dentro dos limites normalmente aceites (-3 e 3) como normais, sendo que a maioria das séries apresentou uma distribuição normal. No entanto, verifica-se que perto do tempo 10 min existe um aumento nos resíduos padronizados, que posteriormente se reduzem. Quando o sistema

estabiliza após uma alteração, produzindo valores constantes (por vezes variando apenas na 2ª casa decimal), tal proporciona resíduos muito baixos. Quando existem variações no sistema (seja por elevação ou retoma do membro às posições iniciais), a resposta compartimental produz resíduos que são sempre superiores aos da fase de estabilização. Produzem-se, assim, gráficos semelhantes aos da figura 4.25, que não invalidam a análise compartimental, nem significam uma menor qualidade do ajustamento, apenas fases de estabilização constantes.

2.1.4.3. Comparação por idades

A análise dos dados através de modelação matemática estratificada por idades encontra-se resumida nas tabelas 4.11 e 4.12.

Tabela 4.11 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo I (n=30).

Grupo I	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	13,2	16,7	5,74	82,7	1,93
LDF2 (UA)	8,78	11,7	3,65	58,9	0,001
LDF3 (UA)	12,56	16,7	5,04	85,2	1,86
I (mmHg.min/l)	10,6	8,13	8,92	38,2	0,997
Ke (min ⁻¹)	0,995	0,411	0,963	2,07	0,339
T _{1/2e} (min)	0,843	0,415	0,720	2,04	0,335

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Tabela 4.12 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo II (n=24)

Grupo II	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	18,7	23,5	8,19	108	3,55
LDF2 (UA)	14,8	19,9	5,84	90,0	1,46
LDF3 (UA)	18,6	23,3	7,36	105,1	3,10
I (mmHg.min/l)	7,57	5,76	7,37	18,9	0,417
Ke (min ⁻¹)	1,00	0,581	0,865	2,55	0,334
T _{1/2e} (min)	0,955	0,552	0,803	2,08	0,272

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

A comparação estatística do tempo de semi-vida em função da idade encontra-se resumida na figura 4.27.

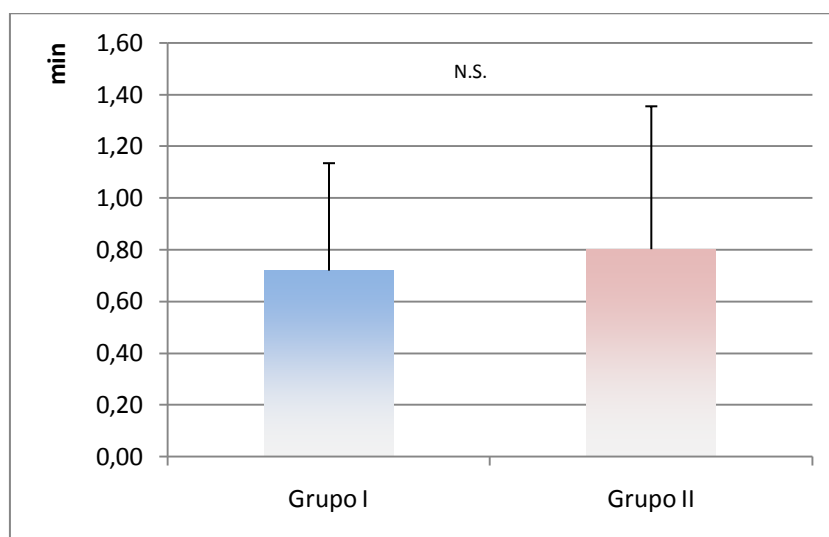


Figura 4.27 - Resultados medianos (+ dp) dos dados do tempo de semi-vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por idades. Comparação estatística baseada na idade (N.S. – não significativo)

Os resultados da modelação matemática do $tcpO_2$, estratificados por idades, demonstram que não existem diferenças significativas entre os dois grupos, quer nos parâmetros médios (tabelas 4.11 e 4.12) quer na análise do parâmetro mais significativo da modelação (o tempo de semi-vida de eliminação) (Figura 4.27). Isto confirma que estes voluntários são semelhantes em termos de evolução, face a esta manobra dinâmica, quer aplicando uma análise baseada nos resultados imediatos, quer aplicando a modelação matemática. Este resultado pode indicar que os voluntários mais velhos não apresentam alterações vasculares significativas, especialmente porque, clinicamente, também não apresentam qualquer manifestação, ou que este procedimento experimental não consegue colocar em evidência possíveis alterações existentes devido ao processo de envelhecimento.

2.1.4.4. Comparação por género

A análise dos dados através de modelação matemática do $tcpO_2$, estratificados por género, encontra-se resumida nas tabelas 4.13 e 4.14.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Tabela 4.13 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários masculinos (n=27).

Masculinos	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	17,9	19,5	7,53	82,7	3,48
LDF2 (UA)	12,8	14,8	5,57	58,9	0,001
LDF3 (UA)	17,4	19,9	6,87	85,2	3,59
I (mmHg.min/l)	7,28	5,28	7,35	20,6	0,997
Ke (min ⁻¹)	1,01	0,540	0,940	2,55	0,339
T _{1/2e} (min)	0,905	0,504	0,738	2,04	0,272

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Tabela 4.14 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados dos voluntários femininos (n=27).

Femininos	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	13,4	20,6	6,43	108	1,93
LDF2 (UA)	10,1	17,3	4,43	90,0	1,25
LDF3 (UA)	13,1	20,1	6,48	105	1,86
I (mmHg.min/l)	11,2	8,47	8,83	38,2	0,417
Ke (min ⁻¹)	0,985	0,442	0,926	2,07	0,334
T _{1/2e} (min)	0,880	0,463	0,749	2,08	0,335

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

A comparação estatística do tempo de semi-vida em função da idade encontra-se resumida na figura 4.28.

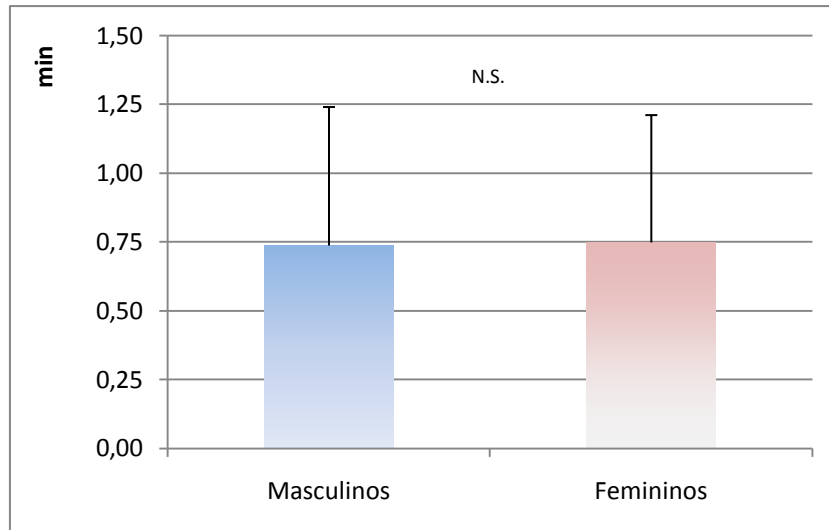


Figura 4.28 - Resultados medianos (+ DP) dos dados do tempo de semi-vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por género. Comparação estatística baseada no género (N.S. – não significativo)

Os resultados estratificados por género também não demonstram diferenças significativas nos perfis de evolução média dos dois géneros (tabela 4.13 e 4.14 e figura 4.28). A conclusão desta análise é que, em termos fisiológicos, a resposta do sistema vascular é semelhante nos homens e nas mulheres, o que permite inferir que esta análise não é influenciada pelo género, tornando-se, assim, mais robusta em relação ao método simples de análise, baseado nos valores instantâneos.

Por forma a garantir que a idade e o género não interferem na análise do tempo de semi-vida, realizou-se também uma ANOVA de dupla entrada com o género e a idade como factores. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 4.15.

Tabela 4.15 – Influência do género e da idade sobre os dados de tempo de semi-vida de eliminação de tcpO₂. Resultados da ANOVA. (n=54)

Factores	Valor de p
Género	0,928
Idade	0,406

Confirmou-se que, nas experiências de redução da perfusão por alteração da postura, o tempo de semi-vida não é influenciado nem pela idade, nem pelo género.

2.2. Por oclusão suprasistólica

Esta manobra dinâmica pretende provocar uma alteração mais significativa nas relações hemodinâmicas, através de uma oclusão suprasistólica das artérias que irrigam o membro inferior. O resultado desta manobra é o desenvolvimento de uma hiperémia reactiva, motivada por uma manobra não fisiológica mais intensa. O período de isquémia, que é desencadeado, permite colocar em evidência os mecanismos de eliminação do Oxigénio e a sua comparação com a manobra dinâmica anterior.

2.2.1. Resultados experimentais e discussão

As evoluções das variáveis PTEA, Fluxo de sangue (LDF), tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica encontram-se resumidos na figura 4.29 e 4.30 seguintes:

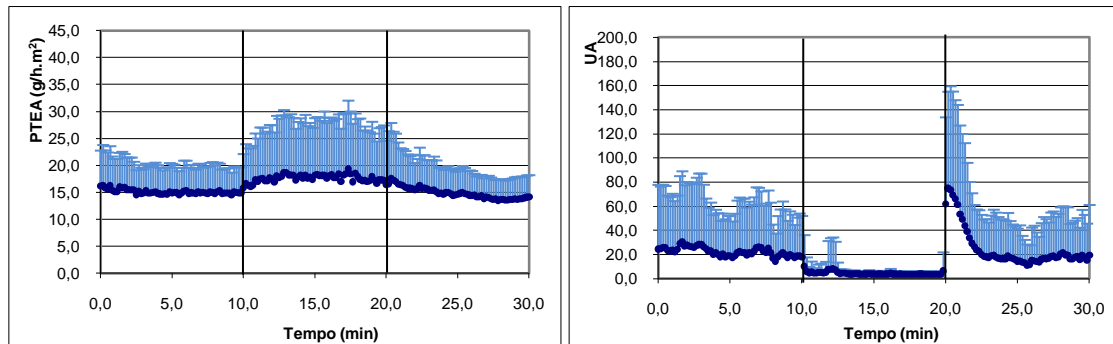


Figura 4.29 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

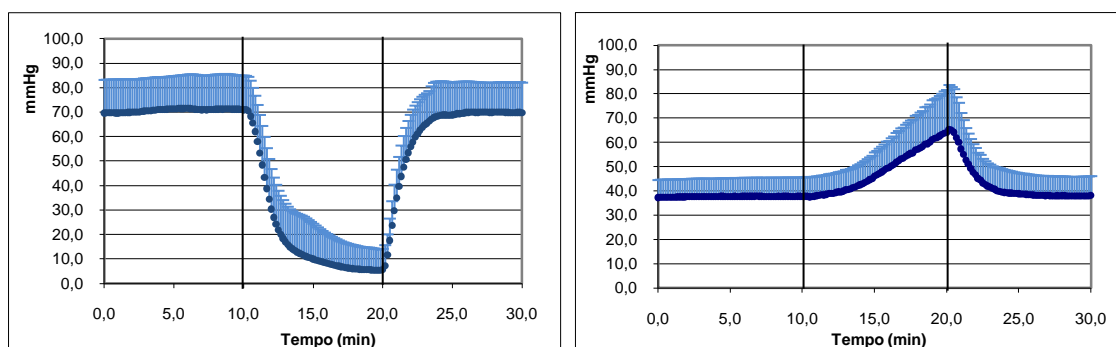


Figura 4.30 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase encontra-se resumida na tabela 4.16.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Tabela 4.16 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=54)

	PTEA (g/h.m ²)			LDF (UA)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	15,0	17,7	14,1	20,5	5,72	16,6
DP	5,03	10,8	3,86	35,7	3,53	27,4
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,013	0,007	-	0,001	0,020
	tcpO ₂ (mmHg)			tcpCO ₂ (mmHg)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	71,2	6,86	69,8	37,8	55,3	38,2
DP	14,0	10,1	12,3	7,67	13,4	8,03
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,001	0,034	-	0,001	0,116

Com este procedimento experimental, pretende-se avaliar a resposta auto-regulatória através da indução de um breve período de isquemia. Durante a manobra dinâmica, o membro inferior mantém-se numa posição de dependência, mas existe a oclusão suprasistólica que bloqueia a passagem de sangue durante 10 minutos. Este efeito provoca uma diminuição do aporte de sangue ao local, o que desencadeia uma intensa resposta regulatória no território vascular. Quando o membro é reperfundido, a vasodilatação provoca um fenómeno de hiperémia reactiva que demora alguns segundos a retomar os valores iniciais de fluxo. Os dados observados são consistentes com esta explicação. O fluxo de sangue é reduzido durante a manobra de oclusão (figura 4.29). A comparação dos últimos 5 minutos de cada fase mostra que esta redução é estatisticamente significativa (tabela 4.16) e que demora bastante tempo a regularizar, uma vez que as diferenças se mantêm durante a fase III. Os valores de tcpO₂ são também reduzidos, até praticamente zero, durante a manobra dinâmica, de acordo com a redução inicial do fluxo de sangue (figura 4.30), produzindo também diferenças estatisticamente significativas em relação aos valores iniciais nas duas fases (tabela 4.16). Os valores de PTEA são estatisticamente elevados em relação ao repouso, permitindo também confirmar que o fluxo de sangue, ao reduzir-se drasticamente, produz uma alteração no efeito de “wash out”, já descrito, que conduz ao aumento da saída de água (figura 4.29 e tabela

4.16). Finalmente, os valores de tcpCO_2 aumentam significativamente durante a fase de oclusão do membro inferior, como resultado da redução da eliminação dos metabolitos de excreção e, conseqüentemente do CO_2 , pela microcirculação. No momento em que se retomam as condições iniciais de circulação, o fluxo da microcirculação é normalizado e os valores basais são restabelecidos (figura 4.30 e tabela 4.16).

2.2.2. Comparação por idades

A análise dos valores médios estratificados por idades encontra-se resumida nas figuras 4.31 e 4.32 seguintes.

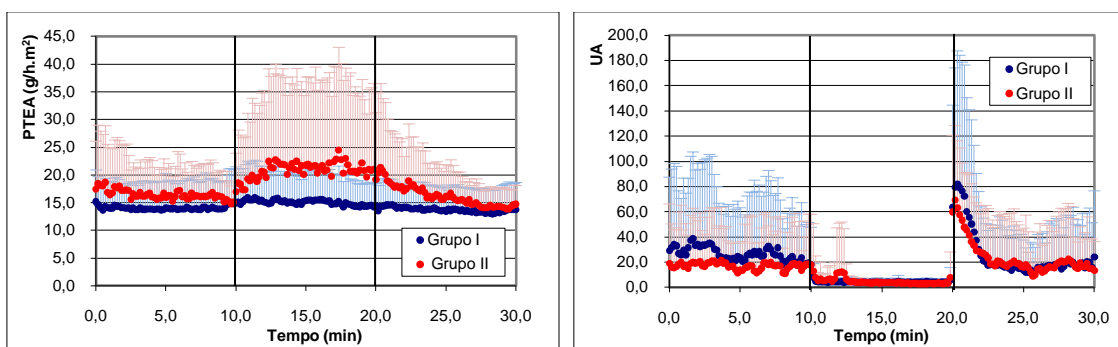


Figura 4.31 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

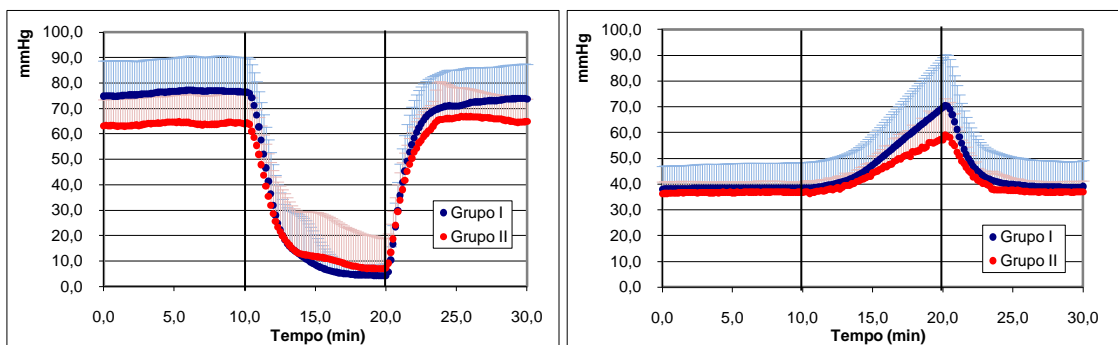


Figura 4.32 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO_2 (esquerda) e tcpCO_2 (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase, em função da idade, encontra-se resumida nas figuras 4.33 e 4.34.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

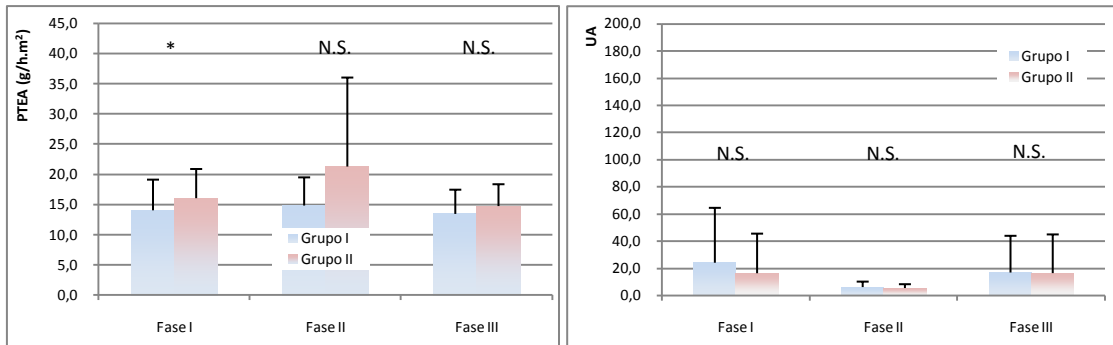


Figura 4.33 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

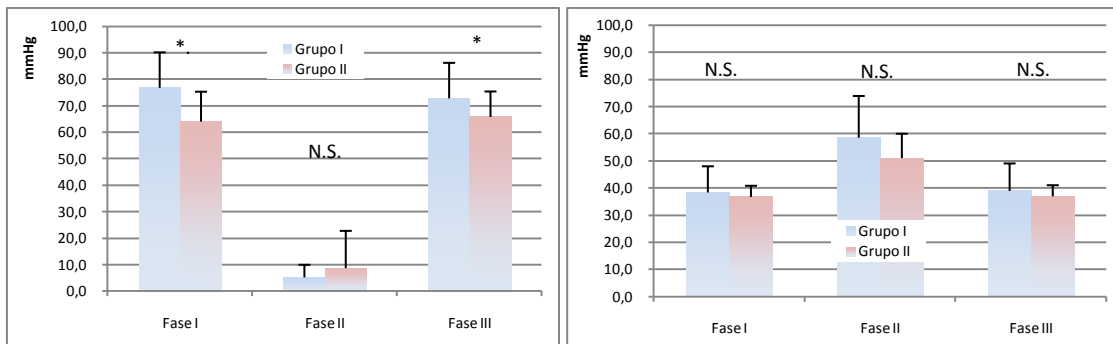


Figura 4.34 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Tabela 4.17 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo) (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Grupo I	N.S.	N.S.	$p=0,006$	$p=0,037$	$p=0,001$	$p=0,034$	$p=0,001$	$p=0,047$
Grupo II	N.S.	$p=0,007$	$p=0,001$	N.S.	$p=0,001$	N.S.	$p=0,001$	N.S.

Os resultados das figuras 4.31 a 4.34 mostram que, durante a manobra dinâmica, não existem diferenças significativas na evolução de qualquer uma destas variáveis, quando estratificadas

por idades. Mais uma vez, apesar de existirem indicadores que demonstram que o fluxo de sangue se altera neste tipo de manobras em função da existência de patologia vascular periférica^[78], não foi possível observar essas diferenças nos indivíduos mais idosos, que à partida, teriam maior susceptibilidade a essas alterações. Também a comparação estratificada das várias fases apresenta resultados semelhantes entre os dois grupos (na comparação entre a Fase II com a Fase I) (tabela 4.17), o que demonstra que este tipo de análise não permitiu distinguir qualquer tipo de alteração nestes voluntários.

Não obstante, verifica-se que os valores basais de PTEA e de $tcpO_2$ revelam diferenças estatisticamente significativas relacionadas com a idade. No entanto, uma vez que estas diferenças não foram verificadas noutros protocolos cujos valores basais foram obtidos nas mesmas condições experimentais, apenas podemos inferir que estas alterações são, provavelmente, devidas a um efeito de variabilidade inter e intra individual. Este facto reduz, como já foi anteriormente descrito, a capacidade discriminativa deste tipo de análises baseadas em pontos experimentais únicos e não na evolução completa das curvas, sendo um dos principais problemas encontrados para a utilização regular destas técnicas.

2.2.3. Comparação por género

A análise dos valores médios estratificados por género encontra-se resumida nas figuras 4.35 e 4.36 seguintes.

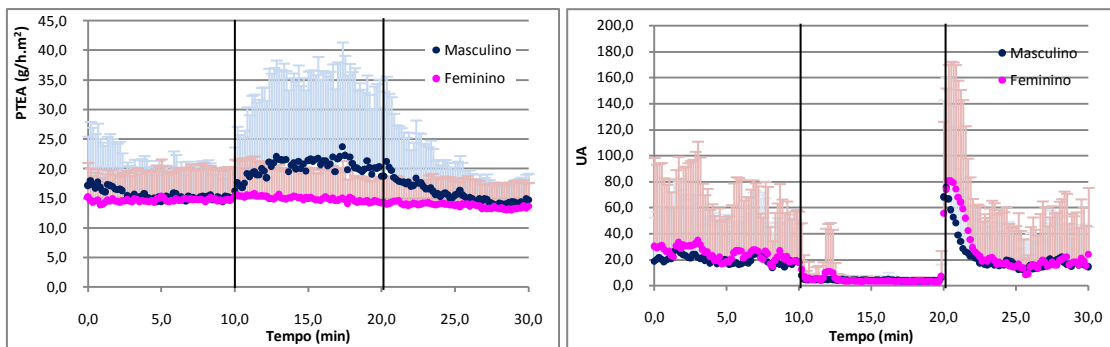


Figura 4.35 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

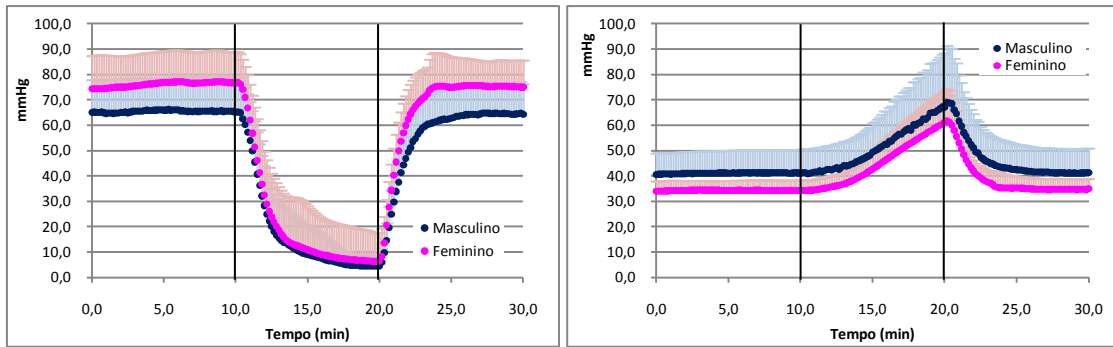


Figura 4.36 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase em função do género encontra-se resumida nas figuras 4.37 e 4.38.

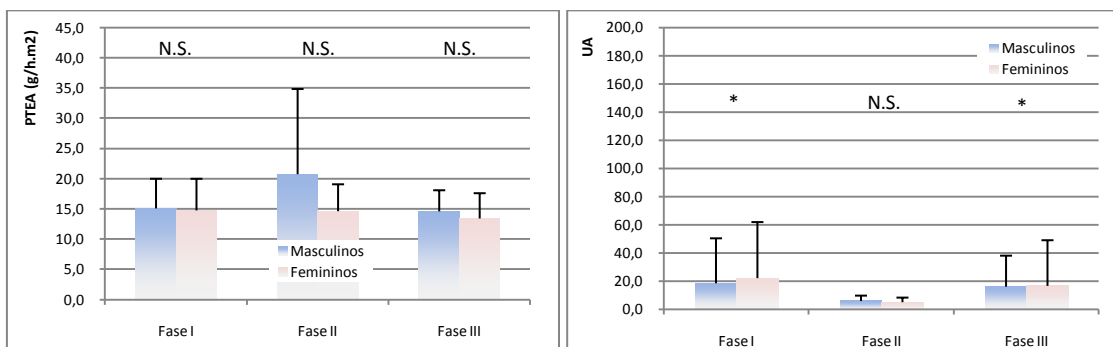


Figura 4.37 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)

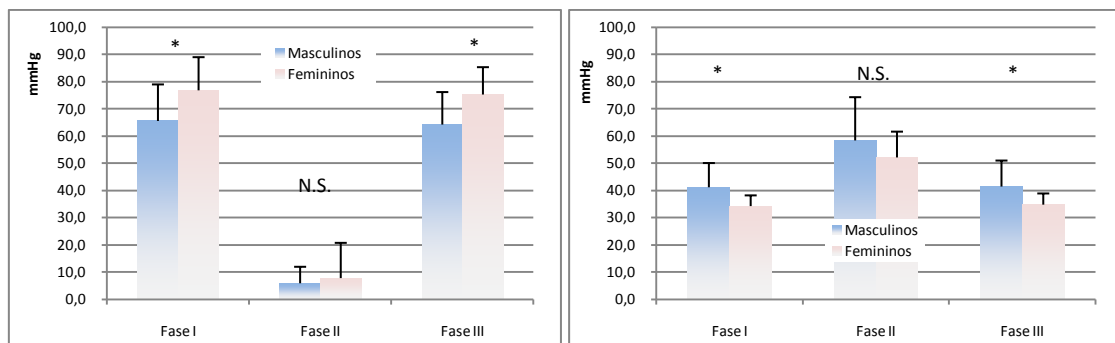


Figura 4.38 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)

Tabela 4.18 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estratificada por género. (N.S. – Não significativo) (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Masculinos	p=0.001	N.S.	p=0.007	N.S.	p=0.001	N.S.	p=0.001	N.S.
Femininos	N.S.	p=0.023	p=0.003	p=0.001	p=0.001	N.S.	p=0.001	N.S.

Os resultados apresentados nas figuras 4.35 a 4.38 demonstram que não existem diferenças significativas na resposta à redução da perfusão por oclusão suprasistólica (Fase II), em qualquer uma das variáveis. Verifica-se que os valores de tcpO₂ são superiores nas mulheres em relação aos homens, conforme também já anteriormente confirmado. Os resultados da comparação das várias fases estratificados por género são, também, equivalentes para o fluxo de sangue, tcpO₂ e tcpCO₂, indicando que o género não influencia os resultados basais e a análise mais simples das variáveis (tabela 4.18).

2.2.4. Modelação matemática

Os resultados individuais dos ajustamentos do modelo monocompartimental de tcpO₂ aos dados experimentais, separados pelos diversos grupos de voluntários, encontram-se resumidos nas figuras 4.39 e 4.40.

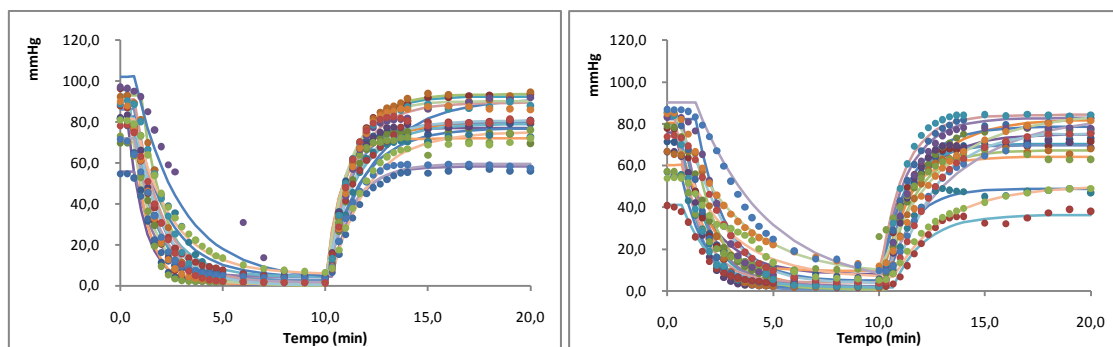


Figura 4.39 – Representação gráfica da evolução do tcpO₂ de todos os voluntários com e sem modelação matemática. *Esquerda*: Voluntários jovens femininos. *Direita*: Voluntários jovens masculinos. *Pontos*: Dados experimentais observados. *Linhas*: Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

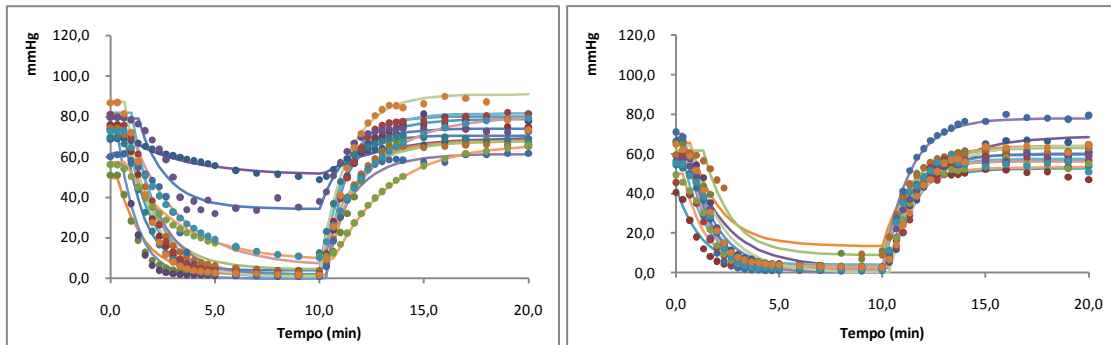


Figura 4.40 – Representação gráfica da evolução do tcpO_2 de todos os voluntários com e sem modelação matemática. *Esquerda*: Voluntários idosos femininos. *Direita*: Voluntários idosos masculinos. *Pontos*: Dados experimentais observados. *Linhas*: Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

Também neste procedimento experimental se verifica a existência de uma variabilidade interindividual elevada dos dados de tcpO_2 , denotada pela grande dispersão dos dados. Desta forma, procedeu-se à normalização para os fluxos de sangue experimentais obtidos no início do procedimento. Os resultados encontram-se resumidos na figura 4.41.

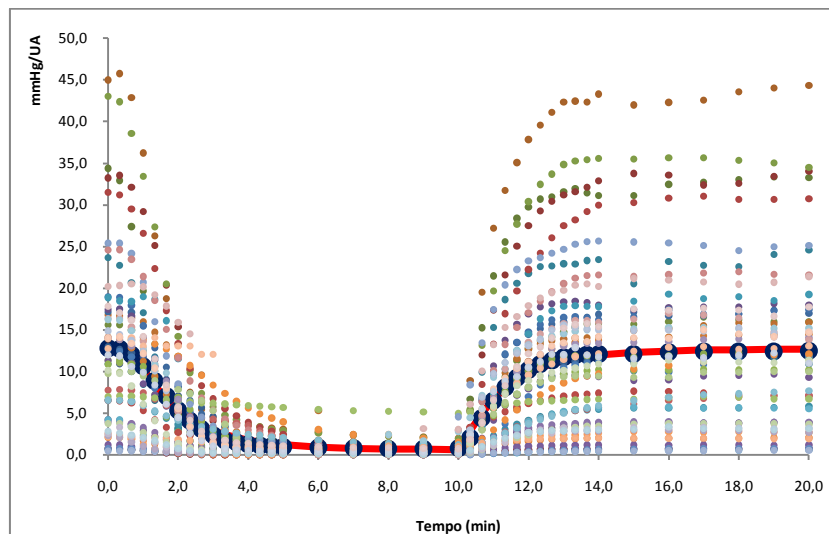


Figura 4.41 – Representação gráfica dos valores de tcpO_2 normalizados para o Fluxo de sangue inicial. *Pontos*: Dados observados individuais. *—*: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. *●*: Média dos dados observados e normalizados.

A tabela 4.19 resume a estatística descritiva de todos os parâmetros gerados pelo modelo monocompartimental de tcpO_2 .

Tabela 4.19 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO2 durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de todos os voluntários (n=54).

	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	22,3	33,5	4,20	118	1,68
LDF2 (UA)	1,52	3,34	0,114	16,5	0,001
LDF3 (UA)	22,4	34,1	4,28	130	1,39
I (mmHg.min/l)	14,7	11,9	15,4	51,8	0,501
Ke (min ⁻¹)	0,749	0,212	0,779	1,36	0,293
T_{1/2e} (min)	1,02	0,373	0,889	2,37	0,510

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Para garantir a adequabilidade do modelo aos dados experimentais de fluxo, realizaram-se comparações entre os valores obtidos experimentalmente e os gerados pelo modelo. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 4.20.

Tabela 4.20 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de todos os voluntários. (n=54) (* - p<0,05; N.S. – não significativo)

	Experimental		Calculado		Comparações
	Média	DP	Média	DP	Valor de p
LDF1	20,5	35,8	22,3	33,5	0,058 (N.S.)
LDF2	5,72	3,53	1,52	3,34	0,001 (*)
LDF3	16,6	27,4	22,4	34,1	0,341 (N.S.)

Os resultados demonstram que o modelo compartimental descreve correctamente os valores observados (figuras 4.39 a 4.41). Relativamente aos fluxos de sangue, verifica-se que os fluxos gerados para as fases I e III do procedimento experimental, e que correspondem aos parâmetros LDF1 e LDF3, não apresentam diferenças estatisticamente significativas com os fluxos experimentais. Relativamente ao fluxo gerado para a fase II, existe uma diferença estatisticamente significativa em relação ao fluxo experimental. Esta diferença parece dever-se a uma variabilidade elevada dos dados experimentais, associada a um valor absoluto próximo de zero, que reduz a capacidade explicativa do modelo nesta zona, especialmente porque os

fluxos durante as restantes fases de análise são elevados. Apesar deste efeito, o modelo descreve correctamente os dados experimentais, não interferindo este resultado na análise posterior realizada com os tempos de semi-vida.

Verifica-se que os dados totais apresentam um tempo de semi-vida mediano de 0,89 minutos (tabela 4.19), próximo do encontrado para a experiência de redução da perfusão por alteração postural, que foi de 0,74 min.

As manobras dinâmicas por oclusão suprasistólica são manobras que provocam uma alteração drástica no sistema vascular, obrigando a uma resposta que, em termos absolutos, tem uma magnitude maior que as manobras obtidas por alteração da postura. Estes procedimentos causam algum desconforto, por força das pressões necessárias, podendo mesmo inviabilizar a realização das manobras nos pacientes com patologia mais avançada e que, por esse motivo, têm um limiar de dor mais reduzido. A semelhança entre os tempos de semi-vida de eliminação do Oxigénio, apesar da diferença no procedimento experimental, deve-se à constância da hemodinâmica vascular, permitindo conclusões semelhantes com procedimentos experimentais mais simples de realizar e com menor desconforto, como acontece com as alterações posturais. Por outro lado, permitem a análise de territórios vasculares mais amplos, uma vez que a indução de hiperémia não se realiza apenas em áreas em que anatomicamente seja possível a realização de uma oclusão.

2.2.4.1. Análise de resíduos

A análise de resíduos obtida com todos os resultados encontra-se resumida na figura 4.42.

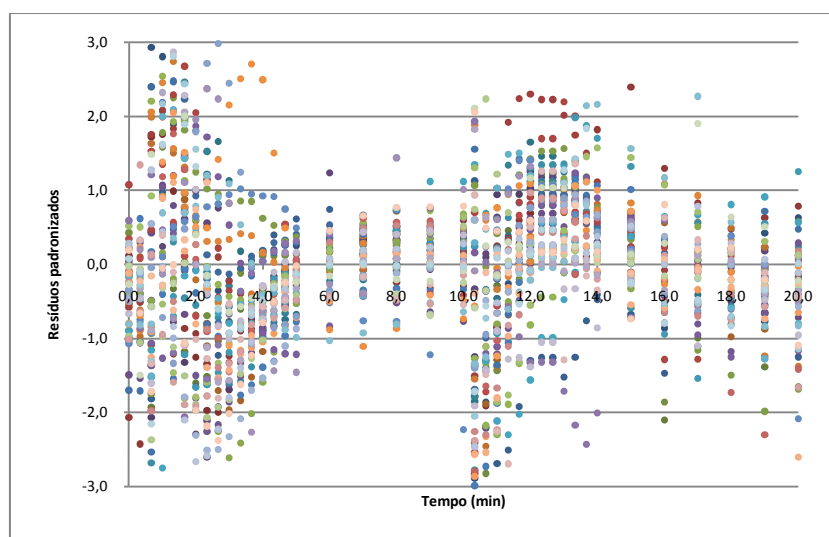


Figura 4.42 - Resíduos padronizados obtidos após modelação matemática de todos os voluntários saudáveis

A análise dos testes de normalidade aplicados a cada um dos ajustamentos individuais encontra-se resumida na figura 4.43.

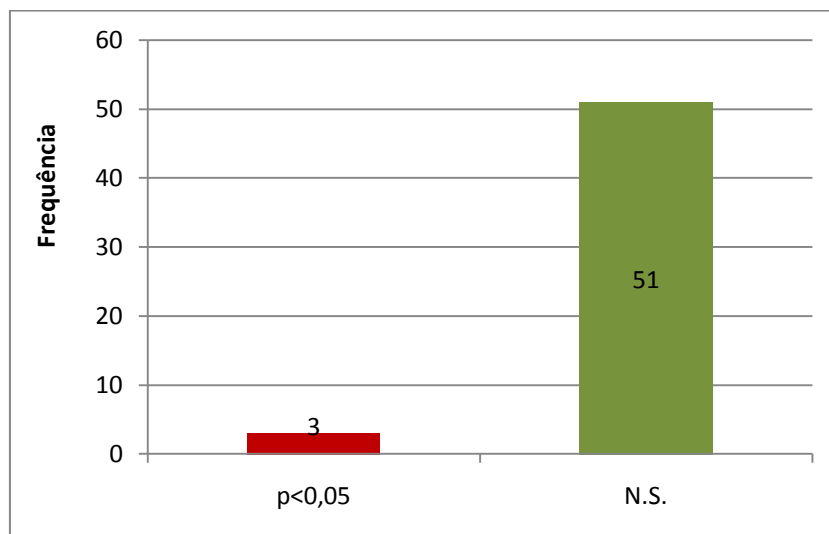


Figura 4.43 - Histograma de frequências dos resultados do teste de normalidade realizado a cada uma das séries de resíduos.

Também aqui, a análise dos resíduos padronizados permitiu demonstrar que os mesmos se encontravam dentro dos limites normalmente aceites (-3 e 3) como normais, sendo que a maioria das séries apresentou uma distribuição normal (Figura 4.43), demonstrando desta forma a qualidade do ajustamento.

2.2.4.2. Comparação por idades

A análise dos dados através de modelação matemática estratificada por idades encontra-se resumida nas tabelas 4.21 e 4.22.

Tabela 4.21 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO2 durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo I (n=30)

Grupo I	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	22,5	34,9	4,29	115	1,68
LDF2 (UA)	0,832	1,88	0,100	9,94	0,001
LDF3 (UA)	21,7	33,6	4,28	108	1,39
I (mmHg.min/l)	15,9	13,1	15,4	51,8	0,769
Ke (min ⁻¹)	0,747	0,236	0,768	1,36	0,293
T _{1/2e} (min)	1,04	0,406	0,903	2,37	0,510

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Tabela 4.22 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo II (n=24).

Grupo II	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	21,9	32,5	4,06	118	2,21
LDF2 (UA)	2,38	4,45	0,256	16,5	0,001
LDF3 (UA)	23,3	35,5	4,77	130	2,26
I (mmHg.min/l)	13,2	10,4	14,2	35,0	0,501
Ke (min ⁻¹)	0,752	0,183	0,779	1,06	0,371
T _{1/2e} (min)	0,996	0,334	0,889	1,87	0,657

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

A comparação estatística do tempo de semi-vida, em função da idade, encontra-se resumida na figura 4.44.

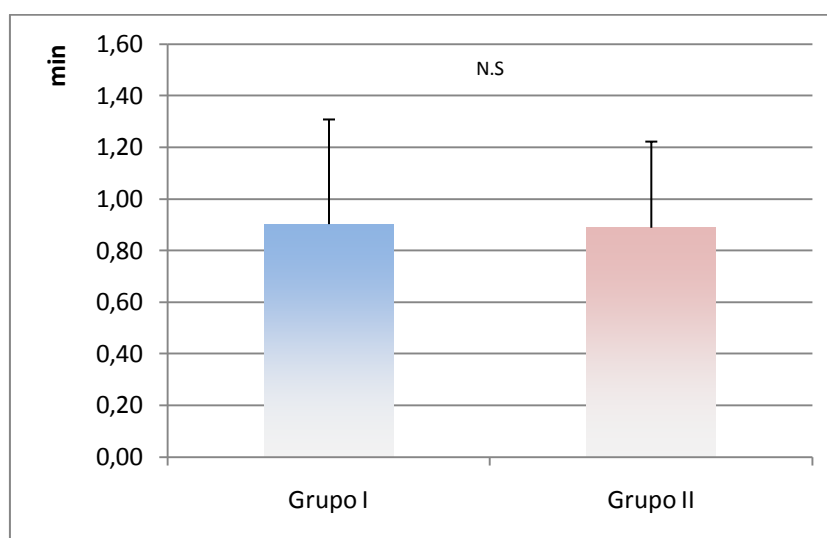


Figura 4.44 - Resultados medianos (+ d.p.) dos dados do tempo de semi vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por idades. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo)

Os resultados da modelação matemática através do modelo monocompartimental de tcpO₂, estratificados por idades, demonstram que não existem diferenças significativas entre os dois grupos, quer nos parâmetros médios (tabela 4.21 e 4.22) quer na análise do parâmetro mais significativo da modelação matemática (o tempo de semi-vida de eliminação) (figura 4.44). Também nesta manobra dinâmica se confirma que os voluntários mais velhos não apresentam

alterações vasculares significativas, corroborando que o seu sistema vascular se comporta, nestas condições, de forma semelhante aos voluntários mais jovens.

2.2.4.3. Comparação por género

A análise dos dados através de modelação matemática estratificada por género encontra-se resumida nas tabelas 4.23 e 4.24.

Tabela 4.23 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários masculinos (n=27).

Masculinos	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	22,7	33,5	4,15	109	2,21
LDF2 (UA)	1,23	2,30	0,100	9,94	0,001
LDF3 (UA)	23,3	34,7	4,09	108	2,18
I (mmHg.min/l)	13,2	9,14	15,8	27,9	0,501
Ke (min ⁻¹)	0,738	0,197	0,795	1,09	0,293
T _{1/2e} (min)	1,04	0,400	0,872	2,37	0,635

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Tabela 4.24 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados dos voluntários femininos (n=27).

Femininos	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	21,8	34,2	4,34	119	1,68
LDF2 (UA)	1,82	4,15	0,123	16,5	0,001
LDF3 (UA)	21,5	34,2	5,44	131	1,39
I (mmHg.min/l)	16,3	14,1	12,5	51,8	0,616
Ke (min ⁻¹)	0,761	0,229	0,758	1,36	0,371
T _{1/2e} (min)	1,00	0,350	0,915	1,87	0,510

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

A comparação estatística do tempo de semi-vida em função da idade encontra-se resumida na figura 4.45.

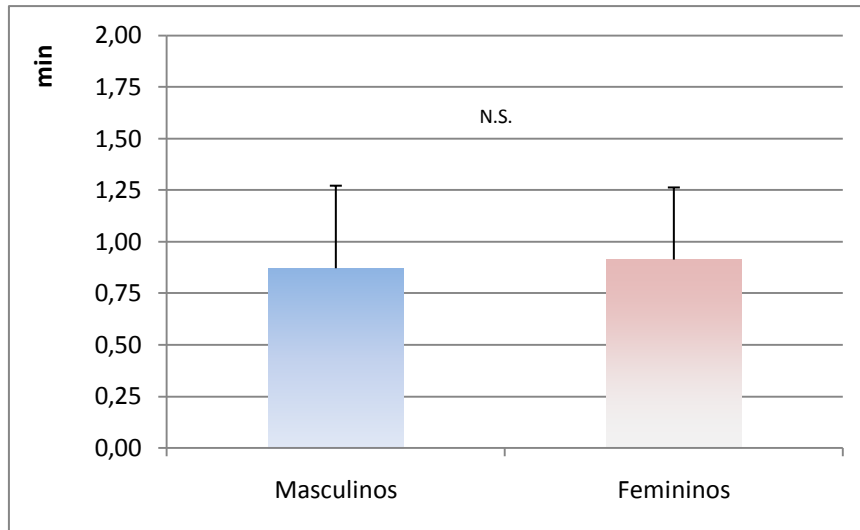


Figura 4.45 - Resultados medianos (+ d.p.) dos dados do tempo de semi vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por género. Comparação estatística baseada no género. (N.S. – Não significativo)

Os resultados estratificados por género também não demonstram diferenças significativas nos perfis de evolução média dos dois géneros. Também nesta manobra dinâmica se confirma que a resposta do sistema vascular à isquémia é semelhante nos homens e nas mulheres, apesar dos resultados basais serem diferentes, confirmando que o género não influencia a análise compartimental.

Tabela 4.25 – Influência do género e da idade sobre os dados de tempo de semi-vida de eliminação de $tcpO_2$. Resultados da ANOVA. (n=54)

Factores	Valor de p
Género	0,958
Idade	0,673

Também os resultados da ANOVA (tabela 4.25) confirmam os dados anteriores, ao mostrarem que nem o género nem a idade interferem no tempo de semi-vida de eliminação do Oxigénio.

3. Manobras de alteração do Oxigênio

As manobras de alteração do Oxigênio pretendem inferir sobre a capacidade que o tecido possui em captar este gás e, desta forma, assegurar adequadamente as suas funções metabólicas. Esta resposta, que não resultará exclusivamente do fenômeno auto-regulador local, embora seja por ele influenciado, poderá ser utilizada como um indicador do que podemos designar por a “capacidade vital” da pele, ou seja um indicador da vitalidade metabólica do tecido que se deverá alterar como consequência do comprometimento funcional daquele território.

3.1. Resultados experimentais e discussão

Os dados gerais das variáveis PTEA, Fluxo de sangue (LDF), tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica encontram-se resumidos na figura 4.46 e 4.47 seguintes:

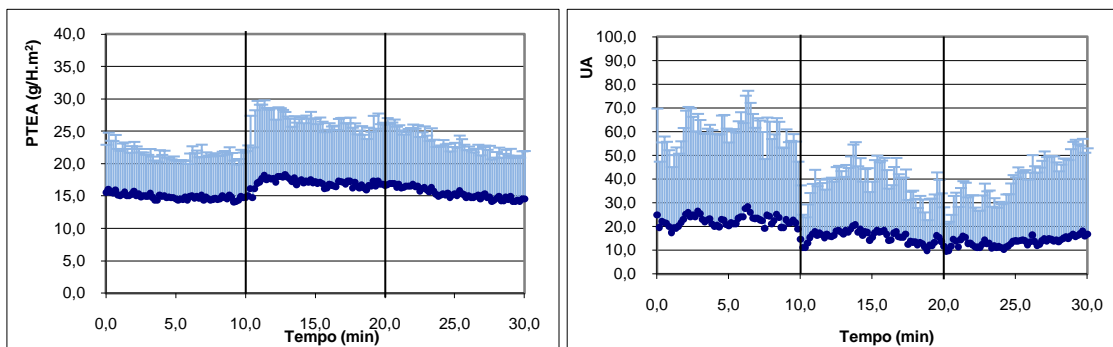


Figura 4.46 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigênio inspirado. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.

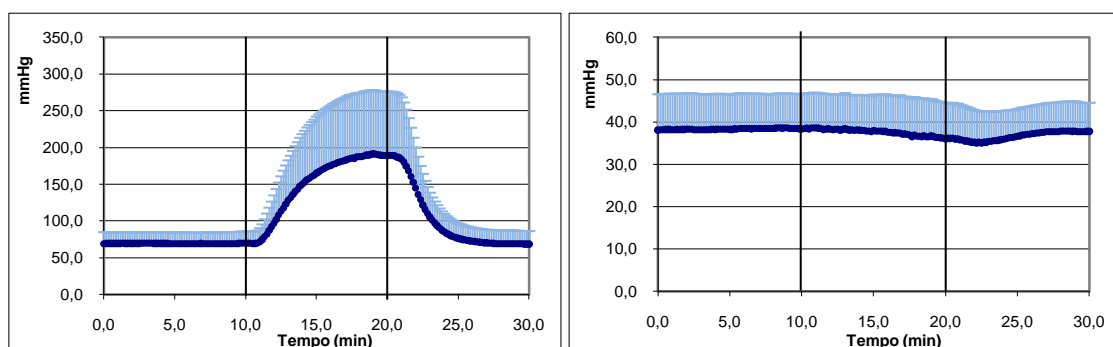


Figura 4.47 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigênio inspirado. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase encontra-se resumida na tabela 4.26.

Tabela 4.26 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração de Oxigênio. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05).
Dados de todos os voluntários (n=54)

	PTEA (g/h.m ²)			LDF (UA)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	14,6	16,8	14,8	22,5	14,7	14,7
DP	6,89	9,40	7,58	34,9	21,1	32,2
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,001	0,470	-	0,036	0,001
	tcpO ₂ (mmHg)			tcpCO ₂ (mmHg)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	69,1	182	70,6	38,4	37,0	37,5
DP	15,7	84,2	18,4	8,24	8,69	6,77
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,001	0,160	-	0,416	0,004

Durante esta manobra, o aumento do Oxigênio inspirado, permite avaliar como este gás chega ao tecido e qual a capacidade do tecido em o absorver. A administração de 100% de Oxigênio induz a saturação da hemoglobina, pelo que o excedente é dissolvido no plasma, provocando um aumento muito significativo do tcpO₂ (figura 4.47 e tabela 4.26). Este efeito induz uma vasoconstrição local por inibição da libertação de prostaglandinas pelo endotélio do vaso, aumentando assim a resistência vascular^[141, 142].

Os resultados observados na figura 4.46 ilustram bem este mecanismo, verificando-se também uma redução estatisticamente significativa no fluxo de sangue, durante a fase em que os voluntários estão a inspirar uma atmosfera saturada em Oxigênio (tabela 4.26). Tal como nos resultados anteriores, ocorre um aumento significativo da PTEA durante esta fase, provavelmente como resultado da readaptação das forças de Starling durante a fase de vasoconstrição (figura 4.46), confirmando que o fluxo de sangue varia inversamente com a PTEA.

O tcpCO₂ varia inversamente com o aumento do Oxigênio, especialmente devido à diminuição da ligação do CO₂ à hemoglobina provocado pelo aumento da ligação do Oxigênio à proteína

transportadora (efeito de Haldane)^[143]. Os resultados observados vão também neste sentido, especialmente se considerarmos a fase final da inspiração de Oxigénio, quando a sua presença no organismo é maior e o valor de CO₂ detectado é menor. Este efeito manifesta-se especialmente na fase III (pós inspiração), uma vez que existe algum tempo de latência entre o início da inspiração do Oxigénio e as alterações dos gases transcutâneos, provavelmente devido à chegada do Oxigénio à pele e à conseqüente alteração metabólica não ser instantânea (tabela 4.26).

3.2. Comparação por idades

A análise dos valores médios estratificados por idades encontra-se resumida nas figuras 4.48 e 4.49 seguintes.

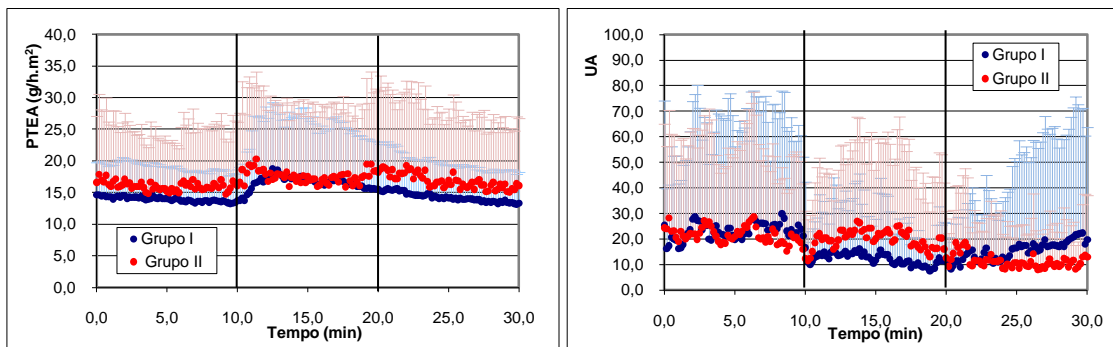


Figura 4.48 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.

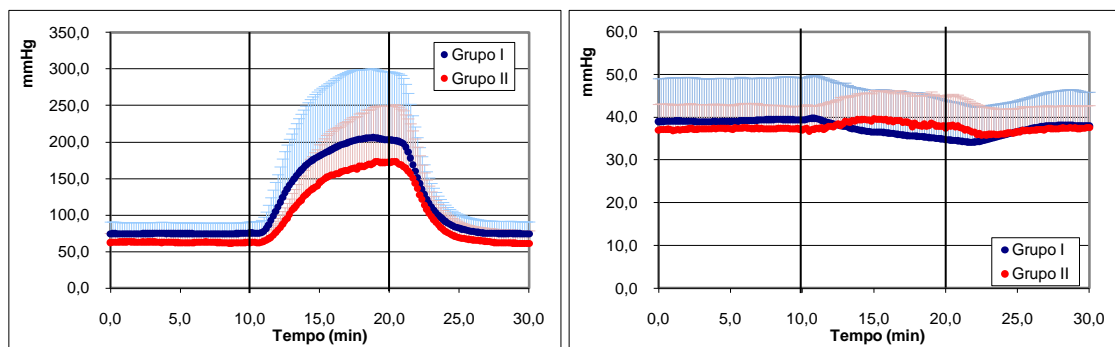


Figura 4.49 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada na idade. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase em função da idade encontra-se resumida nas figuras 4.50 e 4.51.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

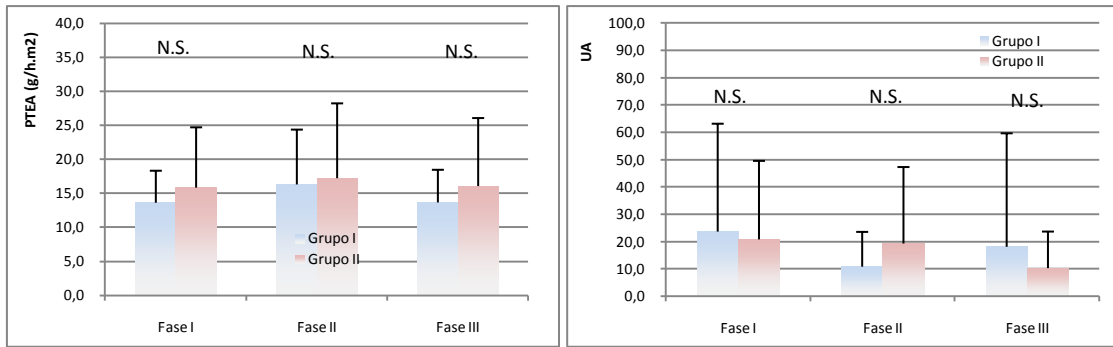


Figura 4.50 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

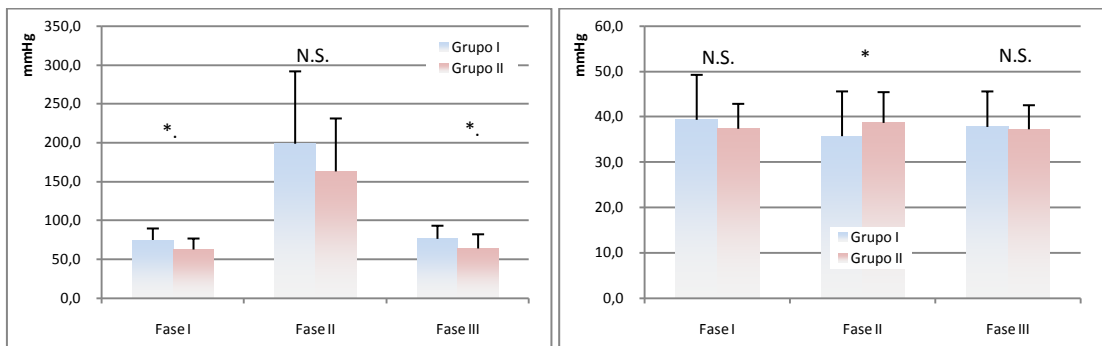


Figura 4.51 - Resultados médios (+ d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estatística baseada na idade. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Tabela 4.27 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação estratificada por idades (Grupo I: Jovens; Grupo II: Idosos). (N.S. – Não significativo) (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Grupo I	N.S.	N.S.	$p=0,026$	$p=0,050$	$p=0,001$	N.S.	$p=0,001$	$p=0,004$
Grupo II	$p=0,005$	N.S.	N.S.	$p=0,001$	$p=0,001$	N.S.	$p=0,006$	N.S.

Em termos gerais, verifica-se que para as variáveis PTEA e Fluxo de sangue não existem diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos de idades (figura 4.48 e 4.50). No entanto, relativamente ao tcpO₂, verifica-se uma redução significativa dos valores basais nos indivíduos mais velhos, o que poderá estar relacionado com a idade. Alguns autores sugerem uma situação semelhante em doentes com DVP, o que poderia significar que os

indivíduos mais velhos teriam já algum grau de comprometimento vascular, embora subclínico e não detectável nas outras manobras realizadas. No entanto, é também reconhecido que os valores basais não são, só por si, suficientes para caracterizar esta condição, podendo representar a variabilidade interindividual implicitamente envolvida [91-94].

Subsistem diferenças entre os grupos para as variáveis PTEA e LDF, embora estas diferenças apenas pareçam reflectir variabilidade interindividual, dado que não foram detectadas nas outras variáveis, nem nos outros procedimentos experimentais (tabela 4.27).

3.3. Comparação por género

A análise dos valores médios estratificados por género encontra-se resumida nas figuras 4.52 e 4.53 seguintes.

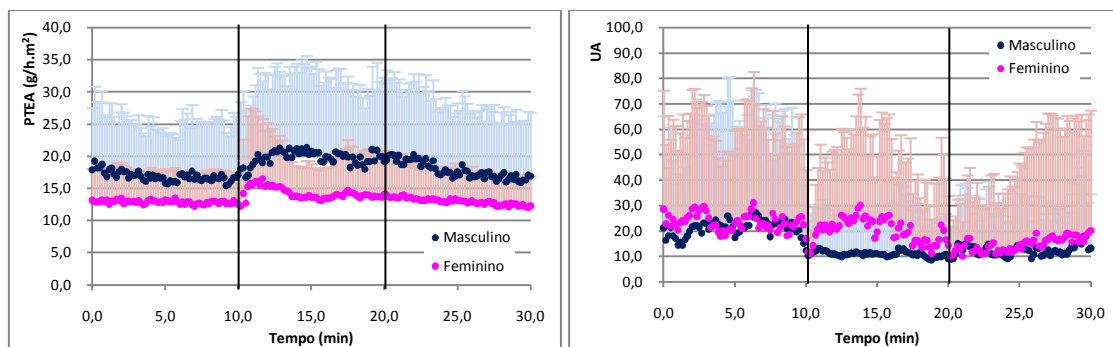


Figura 4.52 - Resultados médios (+d.p) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.

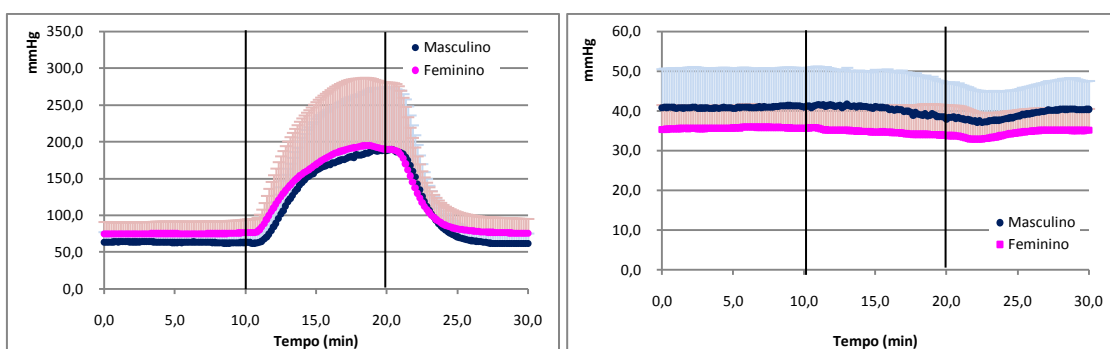


Figura 4.53 - Resultados médios (+d.p) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigénio inspirado. Comparação baseada no género. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da alteração.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase em função do género encontra-se resumida nas figuras 4.54 e 4.55.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

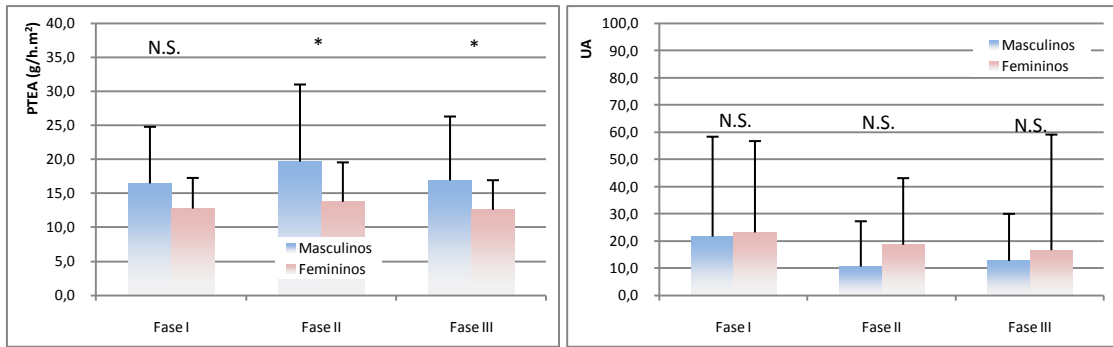


Figura 4.54 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigênio inspirado. Comparação estatística baseada no gênero. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

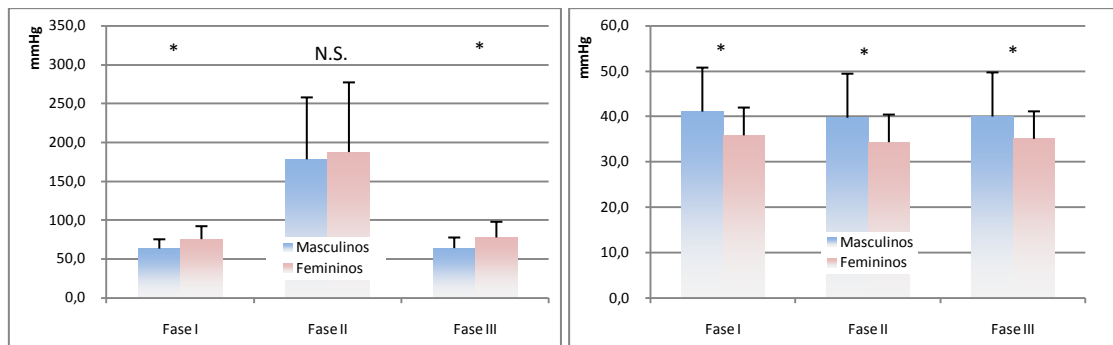


Figura 4.55 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração do Oxigênio inspirado. Comparação estatística baseada no gênero. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Tabela 4.28 - Resultados comparativos entre as várias fases da manobra dinâmica de alteração do Oxigênio inspirado. Comparação estratificada por gênero. (N.S. – Não significativo) (n=54).

	PTEA		LDF		tcpO ₂		tcpCO ₂	
	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III	Fase I vs Fase II	Fase I vs Fase III
Masculinos	p=0.004	N.S.	p=0.002	p=0.003	p=0.001	N.S.	N.S.	N.S.
Femininos	N.S.	N.S.	N.S.	p=0.004	p=0.001	N.S.	N.S.	p=0.004

Os resultados apresentados nas figuras 4.52 e 4.54 demonstram que não existem diferenças significativas relativamente ao gênero, para a variável fluxo de sangue. No entanto, verifica-se que os valores relativos às mulheres são superiores aos valores dos homens. A variável PTEA apresenta uma redução estatisticamente significativa das mulheres em relação aos homens, durante as fases II e III do procedimento experimental, o que está de acordo com a elevação

do fluxo de sangue. Verifica-se que os valores de tcpO_2 são, também, superiores nas mulheres em relação aos homens (figuras 4.53 e 4.55), conforme também já anteriormente confirmado. Neste caso, os resultados são estatisticamente significativos nas fases I e III do protocolo, o que confirma a hipótese da existência de uma diferença entre a capacidade de difusão do Oxigénio nos homens em relação às mulheres. Os resultados da comparação das várias fases estratificados por género são também equivalentes, indicando que o género não influencia os resultados basais e a análise mais simples das variáveis (tabela 4.28), para além das evoluções já discutidas anteriormente relativas aos valores de repouso.

3.4. Modelação matemática

3.4.1. Resultados gerais do ajustamento

Os resultados gerais da aplicação do modelo monocompartimental de tcpO_2 aos dados deste procedimento experimental encontram-se resumidos nas figuras 4.56 e 4.57.

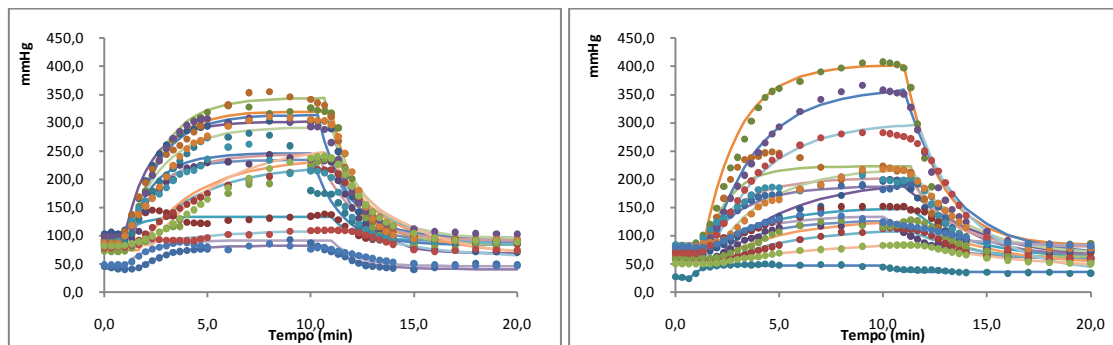


Figura 4.56 – Representação gráfica da evolução do tcpO_2 de todos os voluntários com e sem modelação matemática. *Esquerda*: Voluntários jovens femininos. *Direita*: Voluntários jovens masculinos. *Pontos*: Dados experimentais observados. *Linhas*: Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

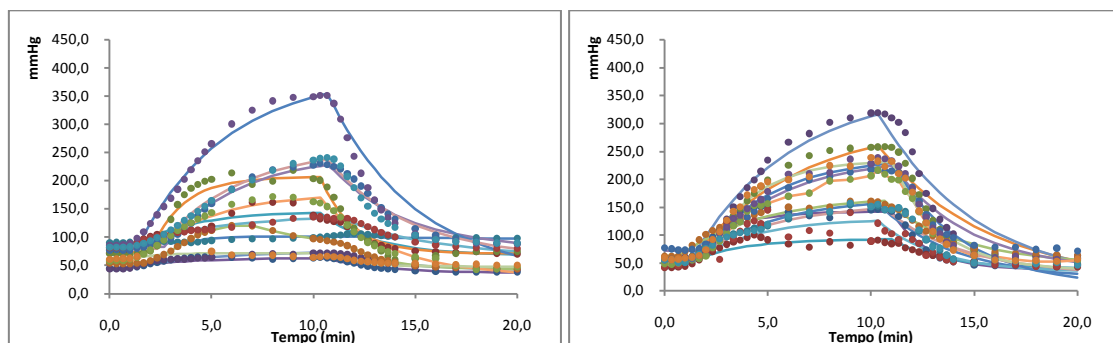


Figura 4.57 – Representação gráfica da evolução do tcpO_2 de todos os voluntários com e sem modelação matemática. *Esquerda*: Voluntários idosos femininos. *Direita*: Voluntários idosos masculinos. *Pontos*: Dados experimentais observados. *Linhas*: Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

Os resultados, obtidos após normalização em relação ao fluxo inicial de sangue, e que permitem confirmar a qualidade do ajustamento, encontram-se resumidos na figura 4.58.

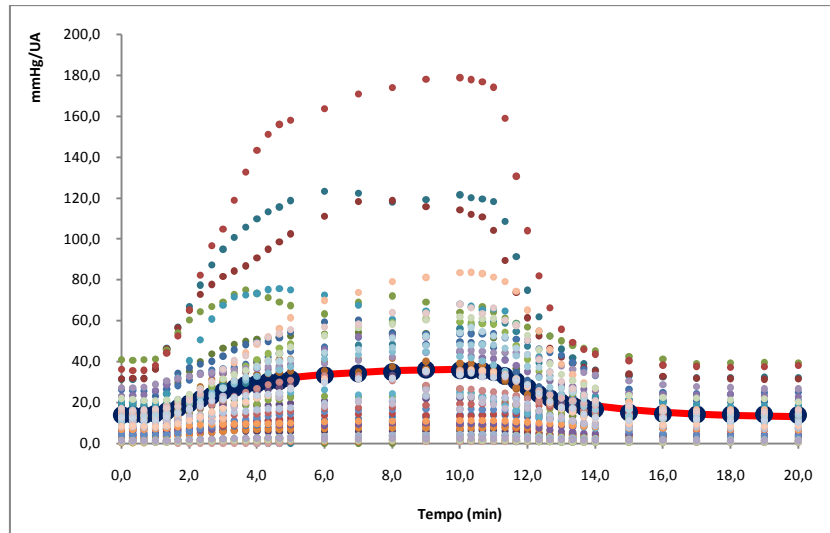


Figura 4.58 – Representação gráfica dos valores de tcpO₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.

A tabela 4.29 resume a estatística descritiva de todos os parâmetros gerados pelo modelo monocompartimental de tcpO₂

Tabela 4.29 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54).

	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	15,0	22,3	6,34	98,6	0,465
LDF2 (UA)	40,2	57,3	13,6	270	1,09
LDF3 (UA)	12,1	19,2	4,99	92,6	0,100
I (mmHg.min/l)	26,9	34,6	9,90	168	0,549
Ke (min⁻¹)	0,492	0,309	0,385	1,88	0,179
T_{1/2e} (min)	1,84	0,864	1,80	3,87	0,369

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Os resultados da comparação dos fluxos de sangue experimentais, com os resultados gerados pelo modelo, encontram-se resumidos na tabela 4.30.

Tabela 4.30 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo)

	Experimental		Calculado		Comparações
	Média	DP	Média	DP	Valor de p
LDF1	22,5	34,9	15,0	22,3	0,129 (N.S.)
LDF2	15,1	21,7	40,2	57,3	0,120 (N.S.)
LDF3	14,7	32,2	12,1	19,2	0,2714 (N.S.)

Os resultados mostram que o modelo compartimental descreve correctamente os valores observados. Verifica-se que os dados totais apresentam um tempo de semi-vida mediano de 1,80 minutos (tabela 3.40), diferente dos tempos encontrados para as experiências de redução da perfusão, que se situavam entre os 0,74 e os 0,90 minutos. Este facto indicia que o mecanismo responsável pelo movimento de Oxigénio nos tecidos é diferente do que regula as experiências de redução da perfusão. Nesta manobra dinâmica, o Oxigénio movimenta-se de acordo com a capacidade que o tecido tem em captar, podendo por isso ser considerado como um reflexo da capacidade vital cutânea e, portanto, um potencial índice da actividade metabólica do tecido.

3.4.2. Análise de resíduos

A análise de resíduos obtida com todos os resultados encontra-se resumida na figura 4.59.

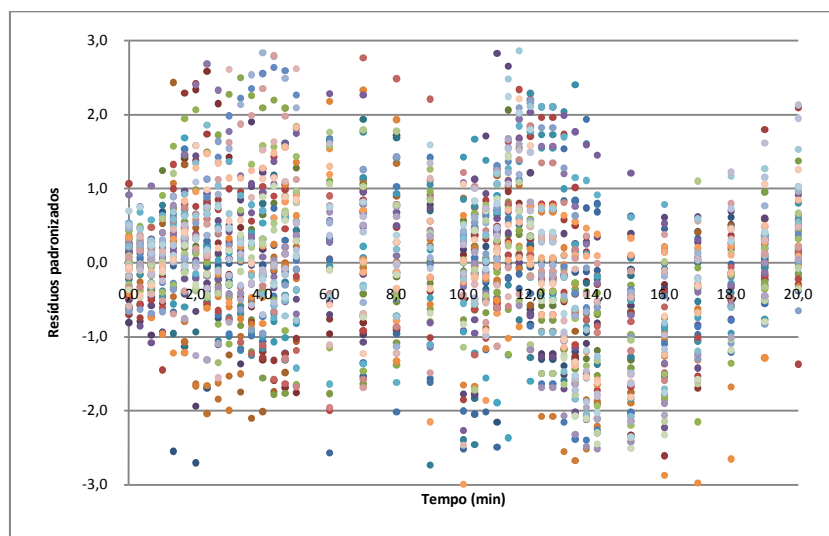


Figura 4.59 - Resíduos padronizados obtidos após modelação matemática de todos os voluntários saudáveis

A análise dos testes de normalidade aplicados a cada um dos ajustamentos individuais encontra-se resumida na figura 4.60.

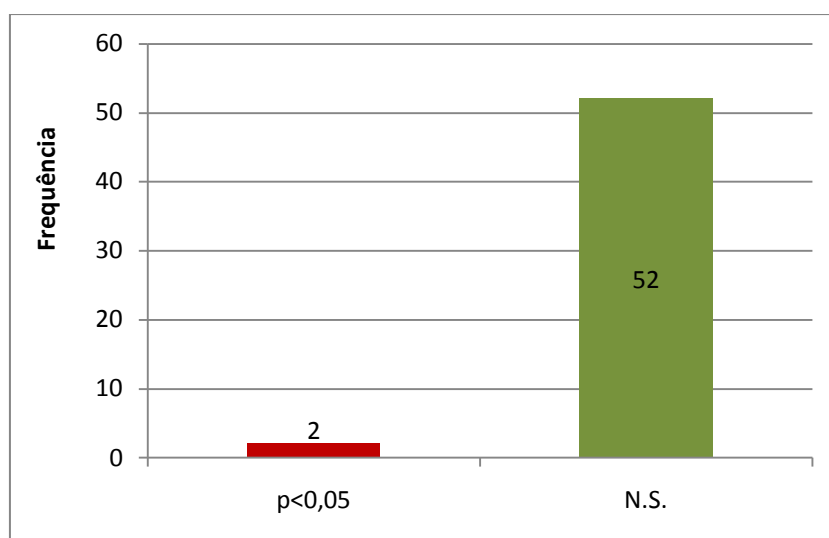


Figura 4.60 - Histograma de frequências dos resultados do teste de normalidade realizado a cada uma das séries de resíduos.

Mais uma vez, se verifica que a análise dos resíduos padronizados permitiu demonstrar que os mesmos se encontravam dentro dos limites normalmente aceites (-3 e 3) como normais, sendo que a maioria das séries apresentou uma distribuição normal (Figura 4.60), confirmando a qualidade do ajustamento.

3.4.3. Comparação por idades

A análise dos dados através de modelação matemática estratificada por idades encontra-se resumida nas tabelas 4.31 e 4.32.

Tabela 4.31 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO2 durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo I (n=30)

Grupo I	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	12,9	20,2	5,05	95,7	0,465
LDF2 (UA)	33,9	55,1	11,0	270	1,09
LDF3 (UA)	11,8	19,6	5,12	92,6	0,490
I (mmHg.min/l)	32,5	40,0	11,9	169	0,912
Ke (min ⁻¹)	0,579	0,328	0,523	1,88	0,179
T _{1/2e} (min)	1,52	0,741	1,33	3,87	0,369

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Tabela 4.32 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários pertencentes ao grupo II (n=24).

Grupo II	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	17,6	24,8	7,95	98,6	0,716
LDF2 (UA)	48,0	60,2	22,3	259	2,99
LDF3 (UA)	12,5	19,0	4,80	70,1	0,100
I (mmHg.min/l)	19,8	25,6	6,87	80,6	0,549
Ke (min ⁻¹)	0,383	0,248	0,284	1,33	0,192
T _{1/2e} (min)	2,25	0,845	2,44	3,62	0,521

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

A comparação estatística do tempo de semi-vida em função da idade encontra-se resumida na figura 4.61.

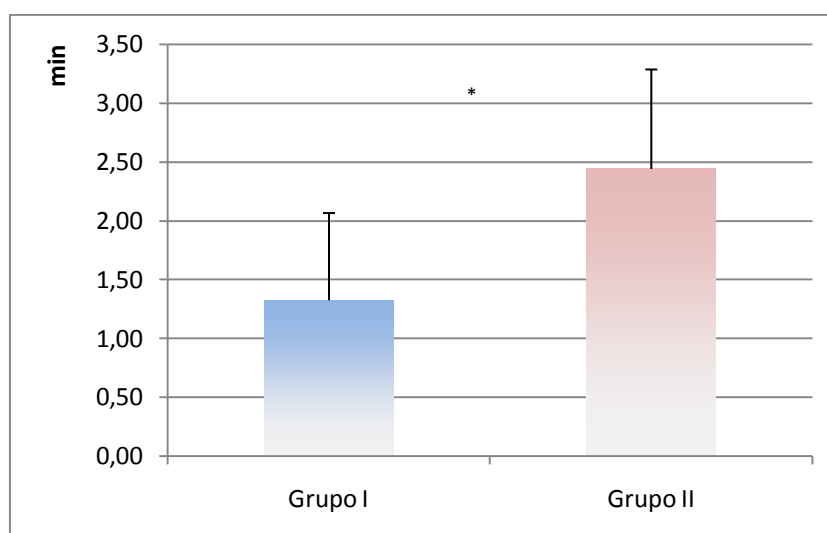


Figura 4.61 - Resultados medianos (+d.p.) dos dados do tempo de semi-vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por idades. Comparação estatística baseada na idade. (* p<0,05)

Os resultados da modelação matemática através do modelo monocompartimental, estratificados por idades, demonstram que existem diferenças significativas entre os dois grupos, quer na evolução dos parâmetros médios (tabelas 4.31 e 4.32) quer na análise do parâmetro mais significativo da modelação, o tempo de semi-vida de eliminação (figura 4.61). De facto, o tempo de eliminação do Oxigénio praticamente duplica nos indivíduos mais idosos, o que sugere algum comprometimento do tecido na capacidade de captação de Oxigénio, provavelmente relacionado com as alterações metabólicas e vasculares próprias do

envelhecimento. Deve atender-se a que os voluntários aqui analisados são os mesmos que realizaram as experiências de redução da perfusão, e que não apresentaram diferenças significativas nessa análise, sugerindo que o grau de comprometimento do sistema vascular ainda não seria suficientemente elevado para demonstrar alterações nesses procedimentos experimentais, ou que o próprio procedimento não colocaria em evidência as expressões (do envelhecimento) adequadas a essa prova. No entanto, a existência de diferenças na resposta à inspiração de uma atmosfera saturada de Oxigénio parece constituir um meio mais ilustrativo do envelhecimento do tecido.

Comparando estes resultados com os resultados de outros estudos, obtidos em doentes com DVP, verifica-se que o sentido desta evolução é semelhante ao sentido do parâmetro tempo de recuperação do Oxigénio. Esses estudos mostram que as alterações no Oxigénio se poderão dever à redução da densidade capilar e ao aumento da resistência periférica. Relativamente aos voluntários mais idosos, é lícito assumir que existem algumas destas alterações provenientes do processo de envelhecimento, o que aumentará o tempo de passagem de Oxigénio para o tecido, colocando o mesmo sob stress fisiológico. A utilização do Oxigénio disponível reduziria a sua eliminação e isso levaria a um aumento do tempo de semi-vida de eliminação do gás.

3.4.4. Comparação por género

A análise dos dados através de modelação matemática estratificada por género encontra-se resumida nas tabelas 4.33 e 4.34.

Tabela 4.33 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários masculinos (n=27).

Masculinos	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	15,3	21,9	6,20	98,6	0,465
LDF2 (UA)	45,3	60,6	16,9	259	2,00
LDF3 (UA)	11,7	18,1	5,01	70,1	0,100
I (mmHg.min/l)	31,7	42,7	9,09	169	0,549
Ke (min ⁻¹)	0,428	0,326	0,363	1,88	0,179
T _{1/2e} (min)	2,09	0,873	1,91	3,87	0,369

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

Tabela 4.34 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO2 durante as manobras de alteração do Oxigénio inspirado. Dados dos voluntários femininos (n=27).

Femininos	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	14,7	23,0	6,47	95,7	0,564
LDF2 (UA)	35,0	54,5	13,3	270	1,09
LDF3 (UA)	12,5	20,5	4,97	92,6	0,550
I (mmHg.min/l)	22,1	23,9	10,3	84,0	0,750
Ke (min ⁻¹)	0,556	0,282	0,578	1,33	0,219
T _{1/2e} (min)	1,60	0,799	1,20	3,16	0,521

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

A comparação estatística do tempo de semi-vida, em função do género encontra-se resumida na figura 4.62

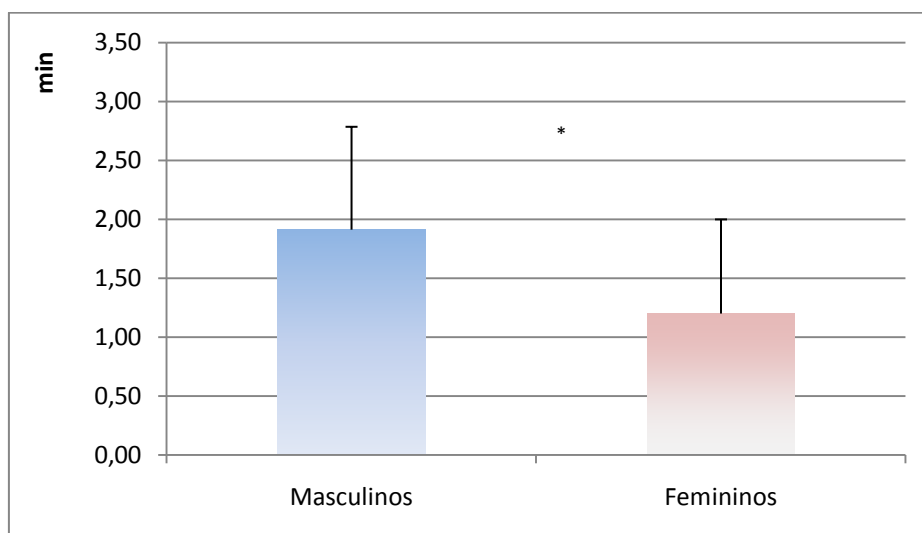


Figura 4.62 - Resultados medianos (+ dp) dos dados do tempo de semi vida de eliminação obtidos após análise matemática com o modelo compartimental estratificados por género. Comparação estatística baseada no género. (* p<0,05)

Os resultados estratificados por género (tabelas 4.33 e 4.34) mostram que os homens apresentam valores estatisticamente diferentes das mulheres em relação ao parâmetro tempo de semi-vida de eliminação, indiciando que estes indivíduos apresentam um grau de alteração do sistema vascular mais alterado do que as mulheres, apesar de ambos não terem manifestações clínicas, nem quaisquer indícios de alteração patológica.

Uma vez mais, por forma a garantir que as diferenças detectadas no género e na idade são independentes do outro factor, realizou-se uma ANOVA de dupla entrada com estes factores.

Os resultados (tabela 4.35) são concordantes com os anteriormente obtidos, mostrando que o género e a idade influenciam os valores do tempo de semi-vida.

Tabela 4.35 – Influência do género e da idade sobre os dados de tempo de semi-vida de eliminação de tcpO₂. Resultados da ANOVA. (n=54)

Factores	Valor de p
Género	0,024
Idade	0,001

4. Análise do grupo de doentes

Para demonstrar a capacidade discriminativa do modelo compartimental e a aplicabilidade desta técnica de análise em situações reais, repetiram-se as manobras dinâmicas de redução da perfusão (por alteração da postura e por oclusão suprasistólica) e de alteração da inspiração do Oxigénio num grupo reduzido de doentes (n=6) com Diabetes tipo II. Estes doentes foram incluídos através de um questionário clínico simples, que envolveu a avaliação da patologia, o tipo de medicação administrada e a existência ou não de Doença Vascular Periférica, através de avaliação pelo quociente ABI (tabela 4.36). Verifica-se que os voluntários apresentam quocientes ABI inferiores a 1, embora ainda próximos da normalidade, indicando que a DVP, nestes doentes, apesar de existente, não tem um grau de severidade elevado.

Tabela 4.36 - Resultados do quociente ABI utilizado na avaliação da DVP do grupo de doentes (n=6).

	Pressão Sistólica Braço (mmHg)	Pressão Sistólica Tornozelo (mmHg)	ABI
Média	140,8	142,5	1,0
DP	9,7	20,2	0,1
Mediana	142,5	137,5	1,0
Máximo	150,0	180,0	1,2
Mínimo	123,0	120,0	0,9

O objectivo principal da inclusão destes doentes foi a realização de um ensaio piloto em doentes, de forma a justificar a utilização desta metodologia de análise em situações de maior comprometimento do sistema vascular, e não o de caracterizar exaustivamente a patologia em causa.

4.1. Protocolo de redução da perfusão por alteração da postura

4.1.1. Resultados experimentais e discussão

Os dados gerais das variáveis PTEA, Fluxo de sangue (LDF), tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica encontram-se resumidos na figura 4.63 e 4.64 seguintes:

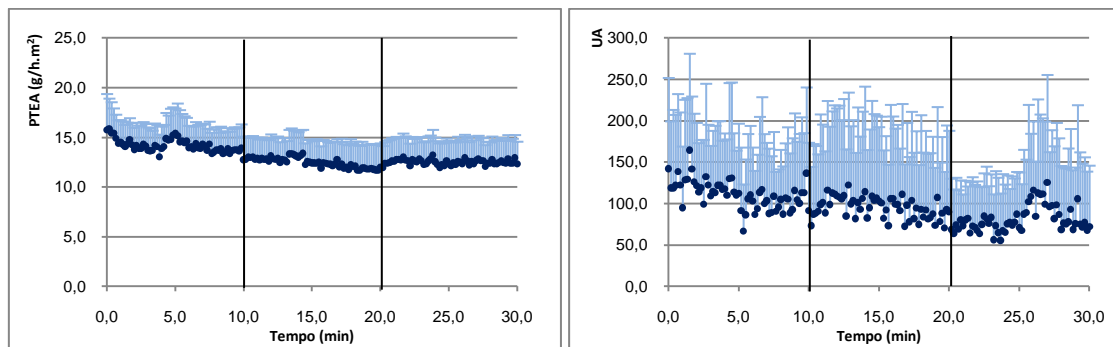


Figura 4.63 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

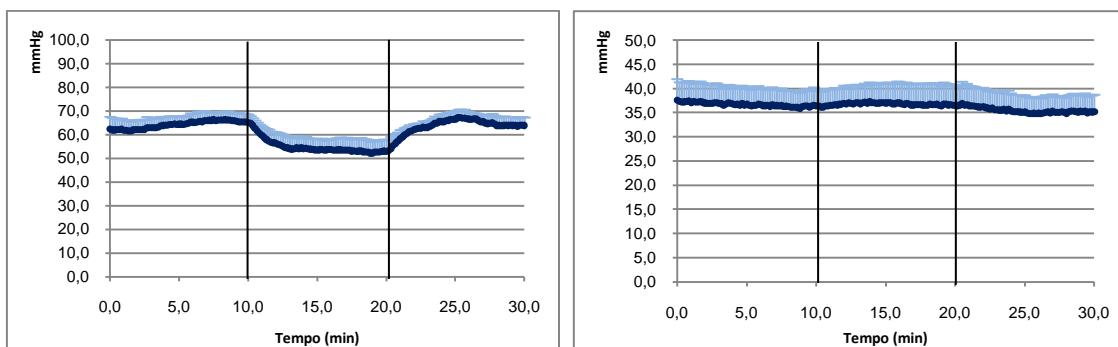


Figura 4.64 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase encontra-se resumida na tabela 4.36.

Em termos gerais, a evolução das várias variáveis analisadas é semelhante em relação aos grupos controlo com uma redução do fluxo de sangue e do tcpO₂, durante o período de alteração da postura (figuras 4.63 e 4.64 e tabela 4.36).

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Tabela 4.37 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=6)

	PTEA (g/h.m ²)			LDF (UA)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	14,0	12,1	12,5	101	90,1	88,9
DP	2,21	2,37	2,30	73,5	88,7	83,1
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,028	0,028	-	0,249	0,075
	tcpO ₂ (mmHg)			tcpCO ₂ (mmHg)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	65,6	53,2	65,2	36,4	36,7	35,1
DP	3,36	4,81	2,65	3,49	4,30	3,44
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,028	0,345	-	0,753	0,028

4.1.2. Comparação com os grupos controlo

4.1.2.1. Comparação dos valores absolutos de tcpO₂

A comparação com os grupos controlo I e II encontra-se resumida na figura 4.67.

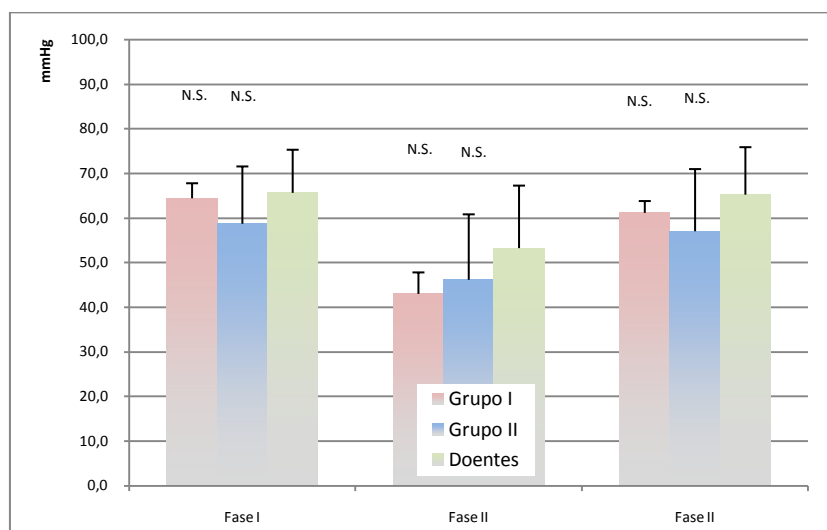


Figura 4.65 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para a variável tcpO₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão. Dados obtidos com os voluntários estratificados por idade (Gupos I e II) e com os doentes. Comparação estatística em relação aos doentes. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)

A análise destes resultados mostra que a simples obtenção dos valores médios no final de cada fase não apresenta diferenças estatisticamente significativas entre os vários grupos considerados, inclusive com os doentes (figura 4.65). Mais uma vez se constata que esta forma de analisar os dados provenientes das manobras dinâmicas não é suficientemente sensível para mostrar diferenças significativas que, num grupo de doentes, seguramente deverão existir.

4.1.2.2. Modelação matemática

4.1.2.2.1. Resultados gerais

Os resultados individuais dos ajustamentos do modelo monocompartimental de tcpO_2 aos dados experimentais, durante este procedimento experimental, encontram-se resumidos na figura 4.66.

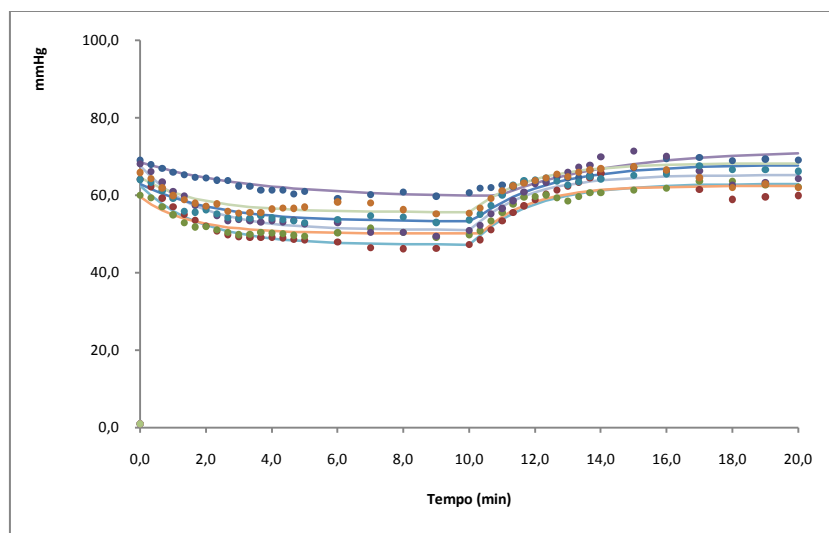


Figura 4.66 – Representação gráfica da evolução do tcpO_2 de todos os voluntários com patologia com e sem modelação matemática.

Pontos: Dados experimentais observados. *Linhas:* Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

A normalização realizada para os fluxos iniciais encontra-se resumida na figura 4.67.

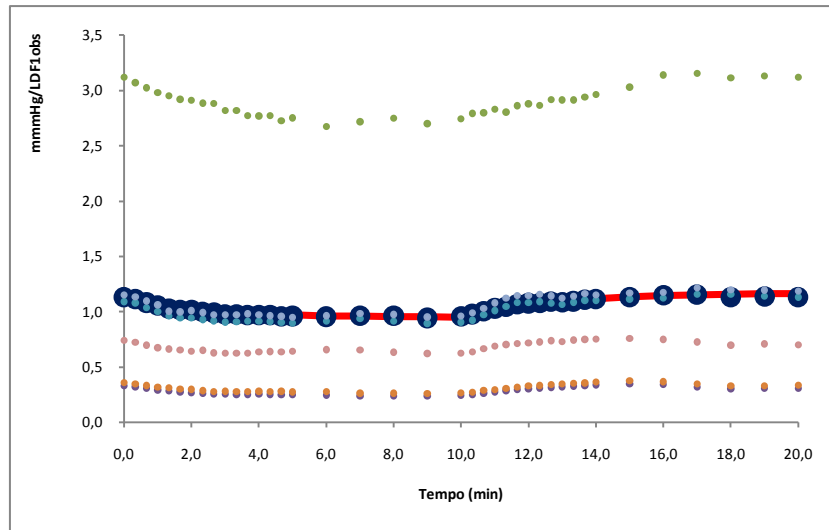


Figura 4.67 – Representação gráfica dos valores de tcpO₂ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.

Tabela 4.38 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Dados de todos os voluntários do grupo de doentes com diabetes (n=6).

	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	86,6	86,4	46,3	199	11,4
LDF2 (UA)	67,6	64,2	39,6	151	9,88
LDF3 (UA)	87,1	84,4	48,8	194	11,9
I (mmHg.min/l)	2,08	2,15	1,60	6,02	0,326
Ke (min⁻¹)	0,516	0,128	0,557	0,662	0,293
T_{1/2e} (min)	1,44	0,479	1,25	2,36	1,05

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de T_{1/2e} e vice-versa.

A aplicação do modelo matemático aos dados do tcpO₂, durante a manobra de redução da perfusão por alteração da postura, mostra que os perfis de evolução são semelhantes aos dados experimentais. Verifica-se, ainda, que os dados normalizados apresentam também resultados semelhantes entre os dados observados e os dados gerados pelo modelo (figuras 4.66 e 4.67). Se analisarmos os perfis individualmente, verifica-se que o modelo compartimental produz, para todos os doentes perfis com r² superiores a 0,92 suficientemente capazes de explicar os dados experimentais.

A tabela 4.37 resume a comparação entre os fluxos experimentais e os fluxos gerados pelo modelo, mostrando que o modelo, também aqui se ajusta correctamente aos dados experimentais.

Tabela 4.39 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo)

	Experimental		Calculado		Comparações
	Média	DP	Média	DP	Valor de p
LDF1	101	73,5	86,6	86,4	0,075 (N.S.)
LDF2	90,1	88,8	67,6	64,2	0,116 (N.S.)
LDF3	88,9	83,1	87,1	84,4	0,116 (N.S.)

4.1.2.2.2. Comparação com os grupos controlo

A comparação entre os tempos de semi-vida observados para os doentes e para os grupos controlo I e II, encontra-se resumida na figura 4.68.

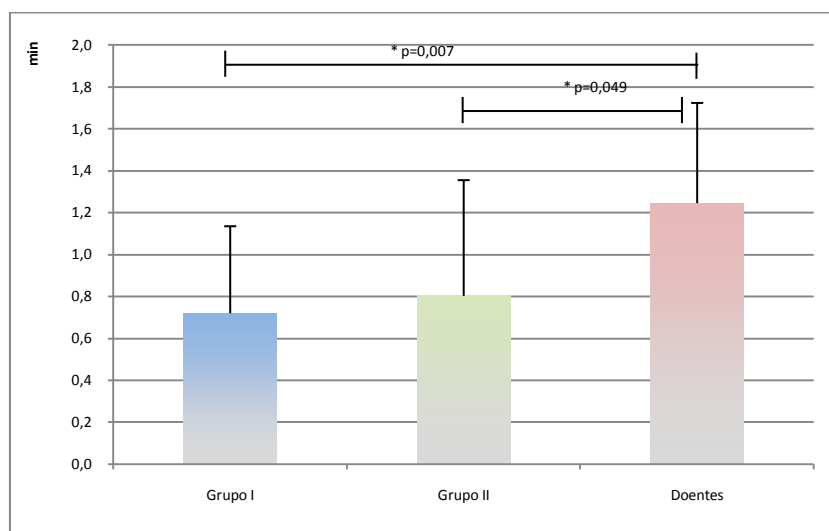


Figura 4.68 - Resultados medianos (+dp) do tempo de semi-vida de eliminação do tcpO2 durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura, após modelação matemática. Comparação do grupo de doentes com os grupos controlo I e II. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

A análise dos resultados da modelação matemática, através do tempo de semi-vida de eliminação, aplicada aos grupos controlo e de doentes (figura 4.68), mostra que estes apresentam um tempo de semi-vida superior aos dos grupos controlo. Estes valores sugerem

que o modelo, agora proposto, consegue detectar diferenças estatisticamente significativas entre os vários grupos. Estas diferenças estão de acordo com outros estudos realizados com doentes com DVP, que apresentam parâmetros de velocidade de movimentação do Oxigénio empíricos, como o *tempo para recuperar metade do Oxigénio*, superiores em relação aos voluntários saudáveis^[92].

Para avaliar a sensibilidade do método de análise compartimental, em relação ao método corrente de avaliação baseado no cálculo do *tempo para recuperar metade do Oxigénio*, procedeu-se também ao cálculo deste parâmetro nos voluntários do grupo II e do grupo de doentes. Resolveu-se analisar apenas os voluntários do grupo de controlo II, uma vez que são os que apresentam um grupo de idade semelhante, e, portanto, serão aqueles que poderão ter resultados mais próximos do grupo de doentes. Os resultados encontram-se resumidos na figura 4.69

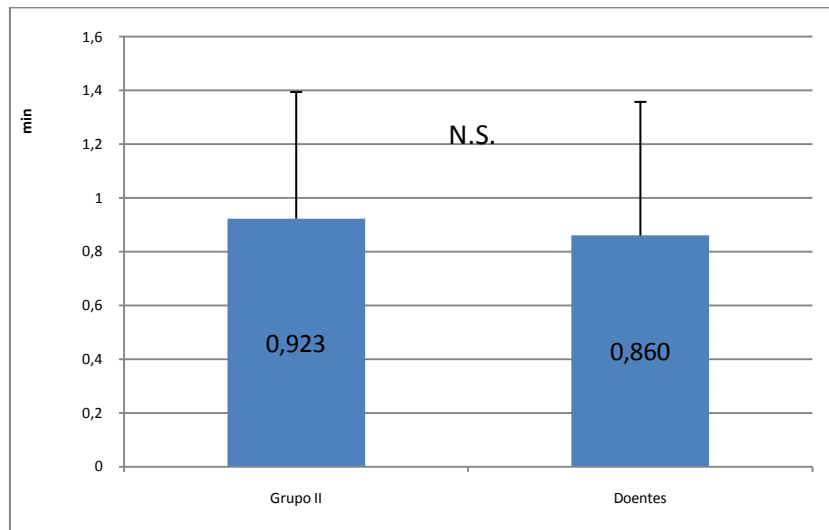


Figura 4.69 - Resultados médios (+dp) do tempo para recuperar metade do Oxigénio durante as manobras de redução da perfusão por alteração da postura. Comparação do grupo de doentes com o grupo controlo II. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Verifica-se que o parâmetro *tempo para recuperar metade do Oxigénio* (figura 4.69) não mostra diferenças significativas entre os grupos controlo II e doentes, enquanto o parâmetro tempo de semi-vida de eliminação (figura 4.68) consegue evidenciar essas diferenças. Assim, com base nestes dados, podemos afirmar que a modelação matemática é mais sensível na análise das manobras dinâmicas de redução da perfusão por alteração da postura do que o método convencional de cálculo do *tempo para recuperar metade do Oxigénio*.

4.2. Protocolo de redução da perfusão por oclusão suprasistólica

4.2.1. Resultados experimentais e discussão

Os dados gerais das variáveis PTEA, Fluxo de sangue (LDF), tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica encontram-se resumidos na figura 4.70 e 4.71 seguintes:

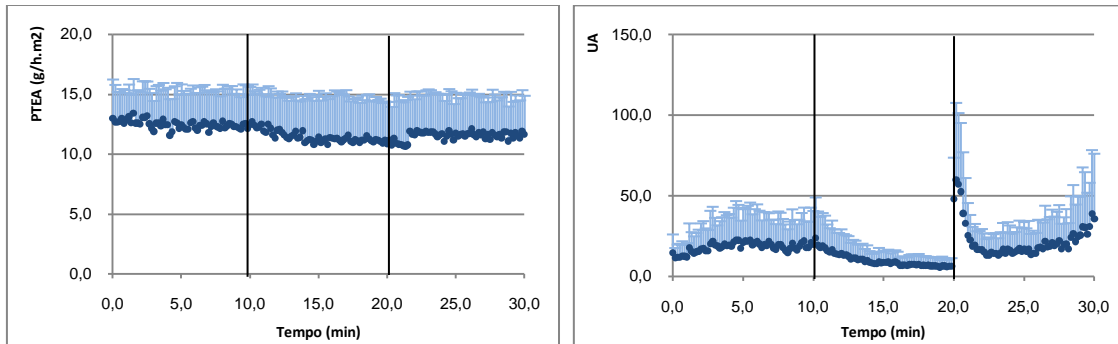


Figura 4.70 - Resultados médios (+d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

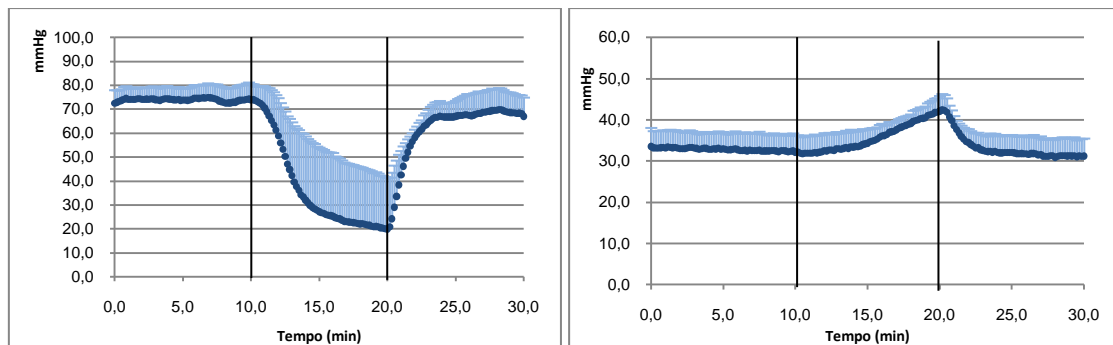


Figura 4.71 - Resultados médios (+ d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da perfusão.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase encontra-se resumida na tabela 4.39.

Em termos gerais a evolução das diversas variáveis analisadas é semelhante em relação aos grupos controlo com uma redução do fluxo de sangue e do tcpO₂ durante o período de alteração da postura (figuras 4.70 e 4.71 e tabela 4.39).

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Tabela 4.40 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05). Dados de todos os voluntários (n=6)

	PTEA (g/h.m ²)			LDF (UA)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	12,4	11,2	11,6	19,2	8,35	21,7
DP	2,99	3,56	3,20	18,7	4,77	21,7
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,028	0,028	-	0,345	0,116
	tcpO ₂ (mmHg)			tcpCO ₂ (mmHg)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	73,9	23,0	68,4	32,6	38,4	31,5
DP	5,85	24,1	8,27	4,05	2,13	4,19
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,028	0,028	-	0,028	0,046

4.2.2. Comparação com os grupos controlo

4.2.2.1. Comparação dos valores absolutos de tcpO₂

A comparação com os grupos controlo I e II encontra-se resumida na figura 4.72.

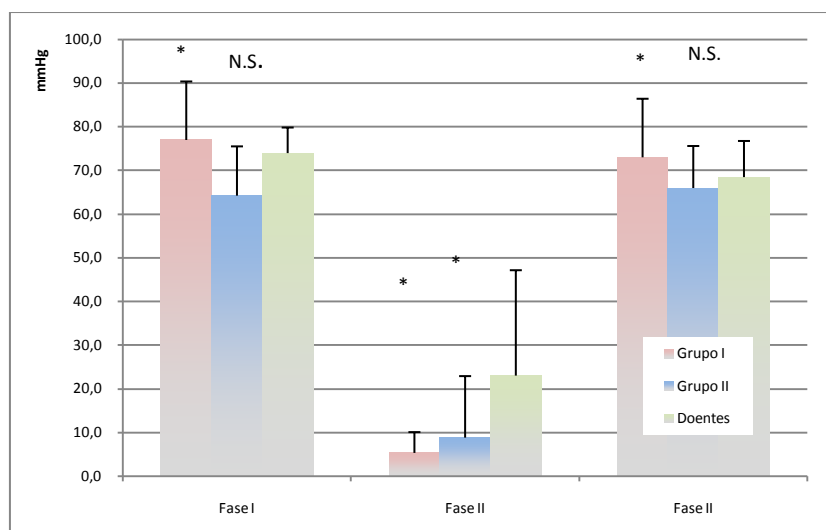


Figura 4.72 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para a variável tcpO₂ durante a manobra dinâmica de redução da perfusão. Dados obtidos com os voluntários estratificados por idade (Gupos I e II) e com os doentes. Comparação estatística em relação aos doentes (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)

A análise destes resultados mostra que a obtenção dos valores médios, no final de cada fase, apresenta diferenças estatisticamente significativas entre os vários grupos considerados, especialmente durante a oclusão (figura 4.72). Neste caso, tal indicia que os doentes têm uma redução do $tcpO_2$ menor do que os grupos controlo, podendo indiciar que existem outras formas de suprir as necessidades tecidulares durante a isquémia. Alguns autores sugerem que os doentes com DVP poderão desenvolver formas de compensação à obstrução arterial, que passam pela existência de “shunts” para zonas de menor resistência a partir dos quais algum Oxigénio pode atingir, e abastecer, o tecido^[95].

4.2.2.2. Modelação matemática

4.2.2.2.1. Resultados gerais

Os resultados individuais dos ajustamentos do modelo monocompartimental de $tcpO_2$ aos dados experimentais, durante este procedimento experimental encontram-se resumidos na figura 4.73.

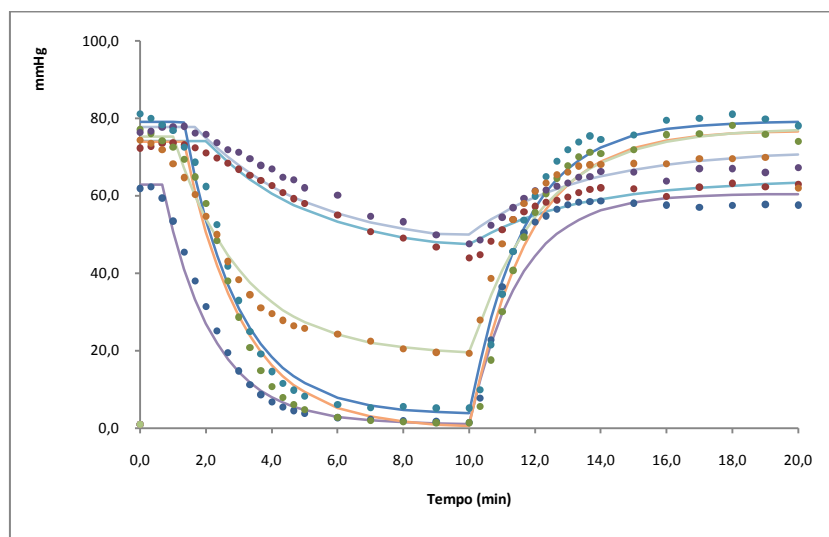


Figura 4.73 – Representação gráfica da evolução do $tcpO_2$ de todos os voluntários com patologia com e sem modelação matemática.

Pontos: Dados experimentais observados. *Linhas:* Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

A normalização realizada para os fluxos iniciais encontra-se resumida na figura 4.74.

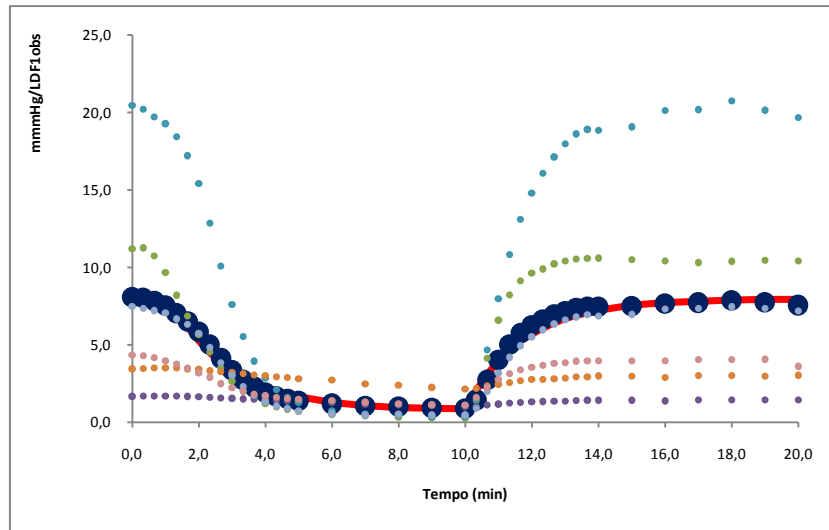


Figura 4.74 – Representação gráfica dos valores de $tcpO_2$ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.

Tabela 4.41 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de $tcpO_2$ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Dados de todos os voluntários do grupo de doentes com diabetes (n=6).

	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	15,5	14,0	11,5	32,7	2,25
LDF2 (UA)	7,13	9,70	1,81	19,6	0,003
LDF3 (UA)	14,4	12,4	11,6	30,3	2,26
I (mmHg.min/l)	14,0	15,3	6,13	35,1	2,27
Ke (min⁻¹)	0,481	0,156	0,518	0,653	0,287
T_{1/2e} (min)	1,60	0,598	1,35	2,41	1,06

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de $T_{1/2e}$ e vice-versa.

Mais uma vez se verifica que a aplicação do modelo matemático aos dados do $tcpO_2$, durante a manobra de redução da perfusão por oclusão suprasistólica, mostra que o perfil de evolução é semelhante aos dados observados. Os dados normalizados mostram, também, a coincidência entre os resultados experimentais e os gerados pelo modelo, demonstrando que o modelo se adequa correctamente aos dados experimentais (figuras 4.73 e 4.74). Mais uma vez, se analisarmos os perfis individuais, se verifica que o modelo compartimental produz, para todos os doentes, perfis com r^2 superiores a 0,94, suficientemente capazes de explicar os dados experimentais.

A tabela 4.41 resume a comparação entre os fluxos experimentais e os fluxos gerados pelo modelo, mostrando que o modelo, também aqui, se ajusta correctamente aos dados experimentais.

Tabela 4.42 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo)

	Experimental		Calculado		Comparações
	Média	DP	Média	DP	Valor de p
LDF1	19,2	18,7	15,5	14,0	0,128 (N.S.)
LDF2	8,35	4,77	7,13	9,70	0,611 (N.S.)
LDF3	21,7	21,7	14,4	12,4	0,063 (N.S.)

4.2.2.2.2. Comparação com os grupos controlo

A comparação entre os tempos de semi-vida observados para os doentes e para os grupos controlo I e II, encontra-se resumida na figura 4.75.

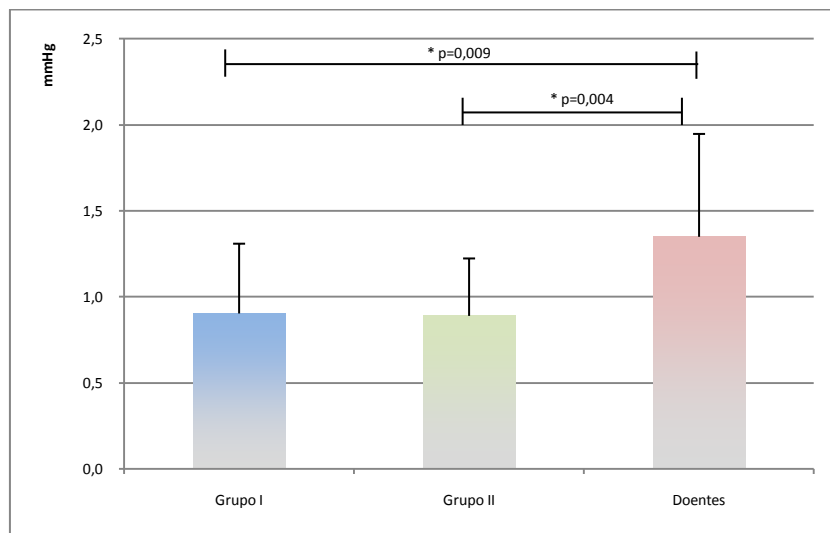


Figura 4.75 - Resultados medianos (+dp) do tempo de semi-vida de eliminação do tcpO₂ durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica, após modelação matemática. Comparação do grupo de doentes com os grupos controlo I e II. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)

A análise dos resultados da modelação matemática, através do tempo de semi-vida de eliminação, aplicada aos grupos controlo e de doentes (figura 4.75), mostra que os doentes apresentam um tempo de semi-vida superior aos dos grupos controlo. Estes valores sugerem

que o modelo agora proposto consegue detectar diferenças estatisticamente significativas entre os vários grupos. Estas diferenças estão, também, de acordo com outros estudos realizados em doentes com DVP, que apresentam o parâmetro, *tempo para recuperar metade do Oxigénio*, superior em relação aos voluntários saudáveis^[92]. Neste caso, os dados são ainda mais discriminativos do que na situação anterior, mostrando que os doentes apresentam diferenças superiores, em relação ao controlo mais próximo em termos de idade (o Grupo II de voluntários).

Estas manobras de redução da perfusão colocam em teste a capacidade vascular do sistema e a sua resposta a situações em que o aporte de Oxigénio é reduzido. Estes resultados, associados aos resultados da manobra dinâmica anterior, indicam que os doentes apresentam um grau de alteração vascular superior aos grupos controlo. Esta alteração provoca uma redução na capacidade de perfusão do tecido cutâneo, que reduz a quantidade de Oxigénio que chega às células. Na tentativa de compensar esta redução, desencadeia-se um aumento da captação e utilização do Oxigénio e uma redução na sua eliminação para o exterior, alterando a sua taxa de saída, ou seja, o seu tempo de semi-vida de eliminação. Nos indivíduos jovens ou que não apresentem esta alteração vascular, o tecido encontra-se sempre correctamente perfundido e oxigenado, pelo que os movimentos do Oxigénio apenas dependem da quantidade de gás que chegue ao local, produzindo tempos de semi-vida de eliminação reduzidos.

Para avaliar a sensibilidade do método de análise compartimental em relação ao método corrente de avaliação, baseado no cálculo do *tempo para recuperar metade do Oxigénio*, procedeu-se também ao cálculo deste parâmetro nos voluntários do grupo II e do grupo de doentes.

Os resultados encontram-se resumidos na figura 4.76.

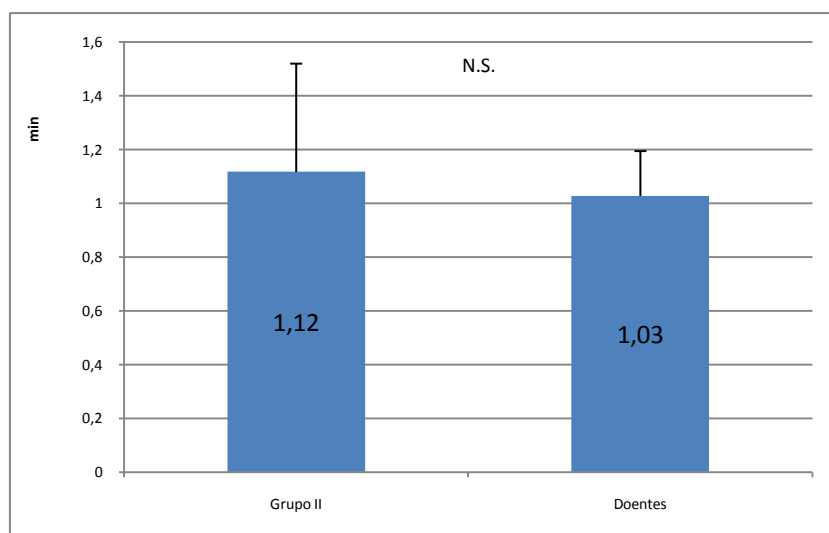


Figura 4.76 - Resultados médios (+dp) do tempo para recuperar metade do Oxigênio durante as manobras de redução da perfusão por oclusão suprasistólica. Comparação do grupo de doentes com o grupo controlo II. (N.S. – Não significativo; * - $p < 0.05$)

Verifica-se que o parâmetro *tempo para recuperar metade do Oxigênio* (figura 4.76) não mostra diferenças significativas entre os grupos controlo II e doentes, enquanto o parâmetro *tempo de semi-vida de eliminação* (figura 4.75) consegue demonstrar essas diferenças. A técnica para calcular o *tempo para recuperar metade do Oxigênio* produz resultados, nos doentes, que são inferiores aos resultados do grupo controlo, sugerindo que o sistema vascular dos doentes poderia estar em melhores condições do que os indivíduos saudáveis, o que não é expectável. Desta forma, confirma-se que a modelação matemática é, também, nesta manobra dinâmica, mais sensível que o padrão vulgarmente utilizado para caracterizar estes protocolos.

4.3. Alteração da inspiração de Oxigênio

4.3.1. Resultados experimentais e discussão

Os dados gerais das variáveis PTEA, Fluxo de sangue (LDF), $tcpO_2$ e $tcpCO_2$ durante a manobra dinâmica encontram-se resumidos na figura 4.77 e 4.78 seguintes:

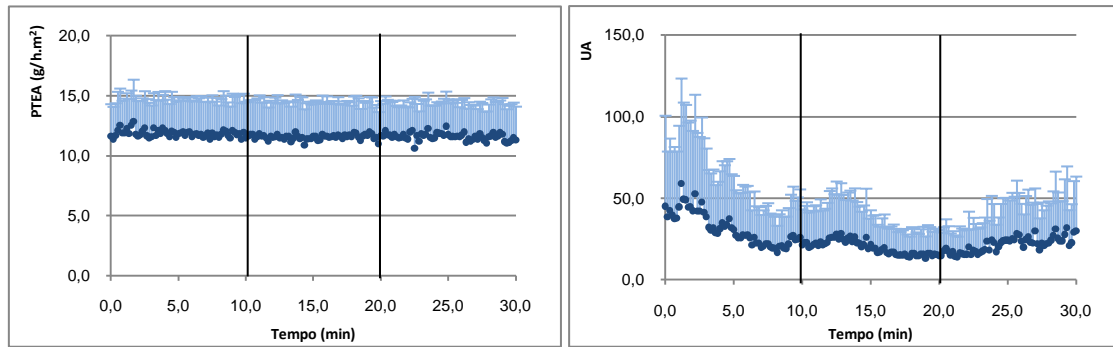


Figura 4.77 - Resultados médios (+ d.p.) das variáveis PTEA (esquerda) e LDF (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração do Oxigênio. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da alteração.

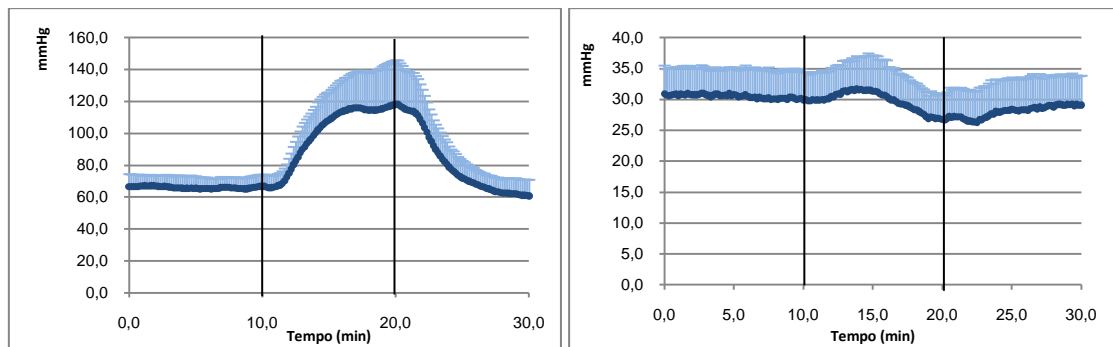


Figura 4.78 - Resultados (+ d.p.) das variáveis tcpO₂ (esquerda) e tcpCO₂ (direita) durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração do Oxigênio. Dados obtidos em indivíduos com diabetes. As barras verticais em cada um dos gráficos indicam o início e o fim da redução da alteração.

A análise dos valores médios dos últimos 5 minutos de cada fase encontra-se resumida na tabela 4.42.

Tabela 4.43 - Resultados médios obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para as variáveis PTEA, LDF, tcpO₂ e tcpCO₂ durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração de Oxigénio. Comparação estatística em relação à fase I. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05).

Dados de todos os voluntários (n=6)

	PTEA (g/h.m ²)			LDF (UA)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	11,8	11,6	11,5	23,3	16,2	24,9
DP	2,96	2,87	2,82	24,2	16,1	26,2
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,345	0,173	-	0,028	0,116
	tcpO ₂ (mmHg)			tcpCO ₂ (mmHg)		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Média	65,7	114,7	64,9	30,3	28,9	28,8
DP	6,61	22,3	8,74	4,527076	4,56	4,87
Comparação com Fase I (valor de p)	-	0,028	0,463	-	0,116	0,028

Em termos gerais, a evolução das diversas variáveis analisadas é semelhante em relação aos grupos controlo, com uma redução do fluxo de sangue e um aumento muito acentuado do tcpO₂ durante o período de alteração do Oxigénio inspirado (figuras 4.77 e 4.78 e tabela 4.42).

4.3.2. Comparação com os grupos controlo

4.3.2.1. Comparação dos valores absolutos de tcpO₂

A comparação com os grupos controlo I e II encontra-se resumida na figura 4.79.

A análise destes resultados mostra que a obtenção dos valores médios, de tcpO₂, no final de cada fase, apresenta diferenças estatisticamente significativas entre o grupo I e os doentes na fase II da manobra dinâmica (tabela 4.42 e figura 4.79). Neste caso, significa que os doentes têm um aumento do tcpO₂, menos significativo do que o grupo controlo de voluntários (mais jovens). Estes dados estão de acordo com alguns resultados prévios, uma vez que os doentes com DVP poderão ter percentagens de variação do Oxigénio durante as manobras de inspiração de atmosfera saturada de Oxigénio inferiores aos grupos controlo^[99].

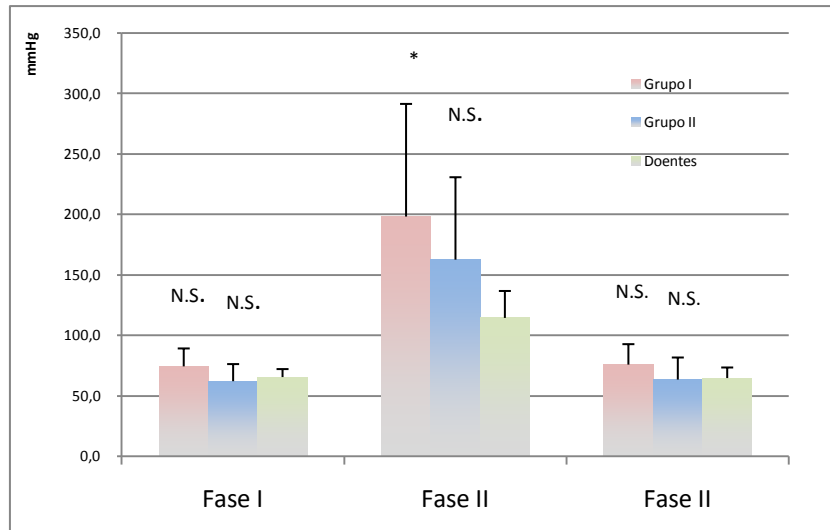


Figura 4.79 - Resultados médios (+d.p.) obtidos durante os últimos 5 minutos de cada fase para a variável tcpO₂ durante a manobra dinâmica de alteração da inspiração do Oxigénio. Dados obtidos com os voluntários estratificados por idade (Gupos I e II) e com os doentes. Comparação em relação ao grupo de doentes.(N.S. – Não significativo; * - p<0.05)

4.3.2.2. Modelação matemática

4.3.2.2.1. Resultados gerais

Os resultados individuais dos ajustamentos do modelo monocompartimental de tcpO₂ aos dados experimentais, durante este procedimento experimental encontram-se resumidos na figura 4.80.

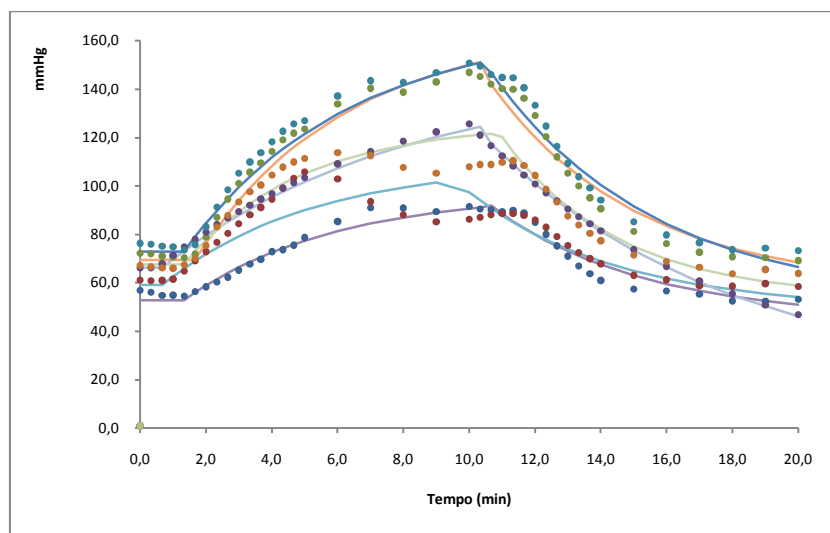


Figura 4.80 – Representação gráfica da evolução do tcpO₂ de todos os voluntários com patologia com e sem modelação matemática.

Pontos: Dados experimentais observados. *Linhas:* Resultados obtidos após modelação matemática durante o mesmo período de tempo.

A normalização realizada para os fluxos iniciais encontra-se resumida na figura 4.81.

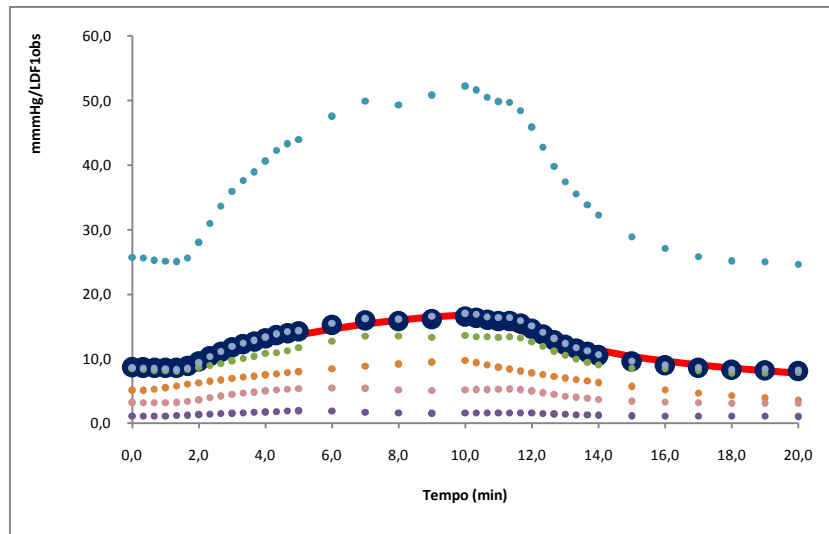


Figura 4.81 – Representação gráfica dos valores de $tcpO_2$ normalizados para o Fluxo de sangue inicial. Pontos: Dados observados individuais. —: Média dos dados normalizados gerados pelo modelo. ●: Média dos dados observados e normalizados.

Tabela 4.44 - Estatística descritiva dos valores obtidos após modelação matemática dos dados de $tcpO_2$ durante as manobras de alteração da inspiração do Oxigénio. Dados de todos os voluntários do grupo de doentes com diabetes (n=6).

	Média	D.P.	Mediana	Máximo	Mínimo
LDF1 (UA)	10,7	12,0	6,42	33,6	1,31
LDF2 (UA)	20,3	21,9	12,6	62,3	3,09
LDF3 (UA)	8,42	10,2	5,24	27,8	0,901
I (mmHg.min/l)	17,8	19,2	12,9	53,3	1,76
Ke (min⁻¹)	0,213	0,047	0,220	0,281	0,135
T_{1/2e} (min)	3,41	0,904	3,15	5,14	2,47

N.b.: Ao valor máximo de Ke corresponde o valor mínimo de $T_{1/2e}$ e vice-versa.

A aplicação do modelo matemático aos dados do $tcpO_2$, durante a manobra inspiração do Oxigénio, mostra que o perfil de evolução é semelhante aos dados observados, o que também acontece com a normalização realizada para o fluxo inicial de sangue (figuras 4.80 e 4.81). Os dados individuais dos diversos ajustamentos são muito próximos dos dados observados, com r^2 superiores a 0,92.

A tabela 4.44 resume a comparação entre os fluxos experimentais e os fluxos gerados pelo modelo, mostrando que o modelo, também aqui se ajusta correctamente aos dados experimentais.

Tabela 4.45 – Estatística descritiva e comparativa entre os valores experimentais e calculados dos parâmetros LDF durante as experiências de redução da perfusão por alteração do Oxigénio inspirado. Dados de todos os voluntários. (n=54) (N.S. – não significativo)

	Experimental		Calculado		Comparações
	Média	DP	Média	DP	Valor de p
LDF1	23,3	24,2	10,7	12,0	0,091 (N.S.)
LDF2	16,2	16,1	20,3	21,9	0,398 (N.S.)
LDF3	24,9	26,2	8,42	10,2	0,063 (N.S.)

4.3.2.2.2. Comparação com os grupos controlo

A comparação entre os tempos de semi-vida observados, para os doentes e para os grupos controlo I e II, encontra-se resumida na figura 4.82.

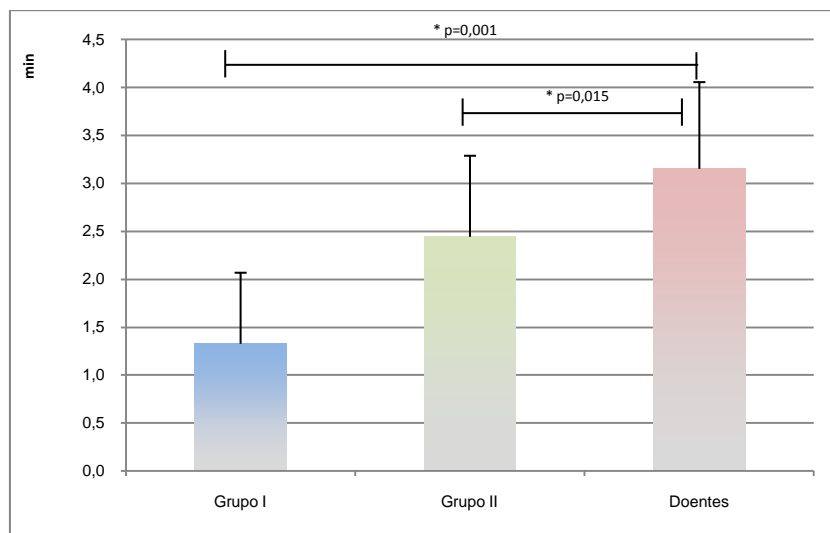


Figura 4.82 - Resultados medianos (+dp) do tempo de semi-vida de eliminação do tcpO₂ durante as manobras de alteração da inspiração do Oxigénio, após modelação matemática. Comparação do grupo de doentes com os grupos controlo I e II. (N.S. – Não significativo; * - p<0.05)

A análise dos resultados da modelação matemática, através do tempo de semi-vida de eliminação, aplicada aos grupos controlo e de doentes (figura 4.82), mostra que os doentes

apresentam um tempo de semi-vida superior ao dos grupos controlo. Estes valores sugerem que o modelo agora proposto consegue detectar diferenças estatisticamente significativas entre os diversos grupos. Estes resultados estão, uma vez mais, de acordo com outros estudos com doentes com DVP, que apresentam um *tempo para recuperar metade do Oxigénio*, superior aos voluntários saudáveis^[92].

Esta manobra dinâmica coloca em evidência o que designámos por “capacidade vital” (metabólica) do tecido. A redução sustentada do aporte de Oxigénio evoca alterações vasculares e metabólicas que comprometem a sua função. Na tentativa de compensar este factor, há um aumento da utilização do Oxigénio disponível, para manter os níveis metabólicos e a própria viabilidade do território. A consequência é um aumento da utilização do Oxigénio disponível, colocado em evidência quando se fornece ao sistema uma quantidade do gás superior ao normal, e uma diminuição da sua velocidade de eliminação e consequentemente do *tempo de semi-vida de eliminação do Oxigénio*.

5. Conclusões

O presente trabalho contribuiu para a definição de uma nova forma de análise da microcirculação *in vivo*, através da utilização de modelos compartimentais cinéticos, com vista a descrever a evolução de uma das variáveis transcutâneas mais utilizadas em patologia vascular – o tcpO_2 – embora pouco explorada em termos da sua aplicação em Dermatologia Experimental.

Vários aspectos relacionados foram evidenciados, ou adquiriram significado especial, ao longo do desenvolvimento experimental:

- Foi demonstrada a relação inversa entre a variável PTEA e o fluxo, algo que já tinha sido relatado anteriormente pelo nosso grupo, mas que só agora obteve uma demonstração inequívoca e estatisticamente relevante.

- Em termos de metodologia exploratória, demonstrámos que a indução de hiperémia é mais útil quando provocada por uma alteração postural, uma vez que permite avaliar territórios mais amplos e, muito importante, porque envolve menos desconforto do que a provocada por oclusão suprasistólica.

- Foi também evidenciada a utilidade da realização das manobras durante a respiração de atmosfera enriquecida com Oxigénio. O sistema de modelação matemática desenvolvido para descrever o tcpO_2 , durante estas manobras, permite uma interessante discriminação das variáveis em estudo, sobretudo quando as alterações fisiopatológicas são ainda pouco discerníveis, podendo ser facilmente implementado em *software* corrente, para a detecção precoce ou para o acompanhamento do processo patológico.

- As diferenças entre género são pouco consistentes, excepto no que já se conhecia relativamente à gazometria transcutânea; todavia, as diferenças observadas não influenciam a resposta intrínseca do sistema, não afectando, nomeadamente, os parâmetros de velocidade, obtidos após modelação matemática. Por outro lado, a influência da idade parece determinar diferenças decorrentes das alterações vasculares que se relacionam com o envelhecimento, enquanto processo fisiopatológico especial, que, apesar da falta de evidência clínica, são detectáveis através de modelação matemática.

-Para além das variáveis clássicas, foi ainda proposto um novo índice relacionável com a capacidade metabólica do tecido – a capacidade vital – o qual, pela sua natureza, constitui o primeiro índice quantitativo que conjuga, na sua génese, diversos aspectos fisiológicos próximos e relacionáveis, que podem, de facto, informar sobre propriedades funcionais vitais do tecido, como é o caso da regulação da perfusão. Este índice encerra um extenso potencial de aplicação, em especial na detecção precoce de disfunção vascular, para além de permitir uma outra perspectiva sobre estas variáveis em dermatologia experimental.

Sublinha-se, finalmente, a demonstrada relevância desta técnica de análise aquando da sua aplicação, a título ilustrativo, a um grupo de doentes, seleccionado com base em critérios de inclusão bastante amplos, onde, ainda assim, a discriminação da população em relação aos grupos controlo foi muito evidente. Desta forma, sublinha-se o potencial de aplicabilidade e interesse da análise compartimental no aprofundamento de processos fisiopatológicos complexos, como ocorre com a disfunção vascular, constituindo esta uma estratégia fácil, prática, imediata e rigorosa de obtenção de dados comparáveis, de forma a melhor compreender os mecanismos de doença envolvidos.

6. Bibliografia

1. Fagrell, B. and M. Intaglietta, *Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine*. J Intern Med, 1997. **241**(5): p. 349-62.
2. Schmid-Schonbein, G.W., *Biomechanics of microcirculatory blood perfusion*. Annu Rev Biomed Eng, 1999. **1**: p. 73-102.
3. Muir, R.L., *Peripheral arterial disease: Pathophysiology, risk factors, diagnosis, treatment, and prevention*. J Vasc Nurs, 2009. **27**(2): p. 26-30.
4. Shammass, N.W., *Epidemiology, classification, and modifiable risk factors of peripheral arterial disease*. Vasc Health Risk Manag, 2007. **3**(2): p. 229-34.
5. Bahr, C., *CVI and PAD: a review of venous and arterial disease*. JAAPA, 2007. **20**(8): p. 20-5.
6. Rossi, M. and A. Carpi, *Skin microcirculation in peripheral arterial obliterative disease*. Biomed Pharmacother, 2004. **58**(8): p. 427-31.
7. Ganong, W., *Dynamics of Blood & Lymph Flow*, in *Review of medical Physiology*. 2005, Lange Medical Books/Mcgraw-Hill. p. 577-610.
8. Widemaier E., R.H., Strang K., *Cardiovascular Physiology*, in *Human Physiology*, Vander, Editor. 2008, McGraw-Hill: New York. p. 389-399.
9. Guyton, A.C., Hall, J.E., *The Microcirculation and the Lymphatic System: Capillary Fluid Exchange, Interstitial Fluid, and Lymph Flow*, in *Textbook of medical physiology*. 2006, Elsevier. p. 181-194.
10. Guyton, A.C., Hall, J.E., *Overview of the Circulation; Medical Physics of Pressure, Flow and Resistance*, in *Textbook of medical physiology*. 2006, Elsevier. p. 161-170.
11. Mulvany, M.J. and C. Aalkjaer, *Structure and function of small arteries*. Physiol Rev, 1990. **70**(4): p. 921-61.
12. Keener, J., Sneyd, J., *The circulatory system*, in *Mathematical Physiology*, J. Marsden, Sirovich, L., Wiggins, S., Editor. 2004, Springer. p. 433-479.
13. Braverman, I.M., *The cutaneous microcirculation: ultrastructure and microanatomical organization*. Microcirculation, 1997. **4**(3): p. 329-40.
14. Braverman, I.M., *Anatomy and Physiology of the cutaneous microcirculation*, in *Bioengineering of the skin: Cutaneous blood flow and erythema*, P. Berardesca, Elsner, P., Maibach, H., Editor. 1995, CRC Press: Boca Raton. p. 3-22.
15. Holowatz, L.A., C.S. Thompson-Torgerson, and W.L. Kenney, *The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function*. J Appl Physiol, 2008. **105**(1): p. 370-2.
16. Lee, J.S., *1998 Distinguished Lecture: biomechanics of the microcirculation, an integrative and therapeutic perspective*. Ann Biomed Eng, 2000. **28**(1): p. 1-13.
17. Abularrage, C.J., A.N. Sidawy, G. Aidinian, N. Singh, J.M. Weiswasser, and S. Arora, *Evaluation of the microcirculation in vascular disease*. J Vasc Surg, 2005. **42**(3): p. 574-81.
18. Testut, L., *Angiologia*, in *Compêndio de anatomia descritiva*, S. editores, Editor. 1996. p. 240-302.
19. Seeley, R., Stephens, T., Tate, P., *Aparelho circulatório: Circulação e regulação periférica*, in *Anatomia e Fisiologia*. 2003, Lusociência. p. 724-783.
20. Krentz, A.J., G. Clough, and C.D. Byrne, *Vascular disease in the metabolic syndrome: do we need to target the microcirculation to treat large vessel disease?* J Vasc Res, 2009. **46**(6): p. 515-26.

21. Wiernsperger, N., P. Nivoit, L.G. De Aguiar, and E. Bouskela, *Microcirculation and the metabolic syndrome*. *Microcirculation*, 2007. **14**(4-5): p. 403-38.
22. Jonk, A.M., A.J. Houben, R.T. de Jongh, E.H. Serne, N.C. Schaper, and C.D. Stehouwer, *Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension*. *Physiology (Bethesda)*, 2007. **22**: p. 252-60.
23. Clark, M.G., *Impaired microvascular perfusion: a consequence of vascular dysfunction and a potential cause of insulin resistance in muscle*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008. **295**(4): p. E732-50.
24. Orchard, T.J. and D.E. Strandness, Jr., *Assessment of peripheral vascular disease in diabetes. Report and recommendations of an international workshop sponsored by the American Diabetes Association and the American Heart Association September 18-20, 1992 New Orleans, Louisiana*. *Circulation*, 1993. **88**(2): p. 819-28.
25. Hirsch, A.T., Z.J. Haskal, N.R. Hertzler, C.W. Bakal, M.A. Creager, J.L. Halperin, L.F. Hiratzka, W.R. Murphy, J.W. Olin, J.B. Puschett, K.A. Rosenfield, D. Sacks, J.C. Stanley, L.M. Taylor, Jr., C.J. White, J. White, R.A. White, E.M. Antman, S.C. Smith, Jr., C.D. Adams, J.L. Anderson, D.P. Faxon, V. Fuster, R.J. Gibbons, S.A. Hunt, A.K. Jacobs, R. Nishimura, J.P. Ornato, R.L. Page, and B. Riegel, *ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease): endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation*. *Circulation*, 2006. **113**(11): p. e463-654.
26. Tur, E., *Cutaneous Laser Doppler Flowmetry in general medicine*, in *Bioengineering of the skin: Cutaneous blood flow and erythema*, P. Berardesca, Elsner, P., Maibach, H., Editor. 1996, CRC Press: Boca Raton. p. 123-153.
27. Colberg, S.R., H.K. Parson, D.R. Holton, T. Nunnold, and A.I. Vinik, *Cutaneous blood flow in type 2 diabetic individuals after an acute bout of maximal exercise*. *Diabetes Care*, 2003. **26**(6): p. 1883-8.
28. Vinik, A.I., T. Erbas, T.S. Park, K.K. Pierce, and K.B. Stansberry, *Methods for evaluation of peripheral neurovascular dysfunction*. *Diabetes Technol Ther*, 2001. **3**(1): p. 29-50.
29. Harris, N.R. and R.E. Rumbaut, *Age-related responses of the microcirculation to ischemia-reperfusion and inflammation*. *Pathophysiology*, 2001. **8**(1): p. 1-10.
30. Jorneskog, G., K. Brismar, and B. Fagrell, *Pronounced skin capillary ischemia in the feet of diabetic patients with bad metabolic control*. *Diabetologia*, 1998. **41**(4): p. 410-5.
31. Skrha, J., M. Prazny, T. Haas, J. Kvasnicka, and B. Kalvodova, *Comparison of laser-Doppler flowmetry with biochemical indicators of endothelial dysfunction related to early microangiopathy in Type 1 diabetic patients*. *J Diabetes Complications*, 2001. **15**(5): p. 234-40.
32. Tur, E., A. Tamir, and R.H. Guy, *Cutaneous blood flow in gestational hypertension and normal pregnancy*. *J Invest Dermatol*, 1992. **99**(3): p. 310-4.
33. Vinik, A.I., T. Erbas, T.S. Park, K.B. Stansberry, J.A. Scanelli, and G.L. Pittenger, *Dermal neurovascular dysfunction in type 2 diabetes*. *Diabetes Care*, 2001. **24**(8): p. 1468-75.
34. Abrams, J., *Role of endothelial dysfunction in coronary artery disease*. *Am J Cardiol*, 1997. **79**(12B): p. 2-9.

35. Farkas, K., E. Kolossvary, Z. Jarai, J. Nemcsik, and C. Farsang, *Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser Doppler flowmetry in patients with essential hypertension*. *Atherosclerosis*, 2004. **173**(1): p. 97-102.
36. Saka, B., H. Oflaz, N. Erten, G. Bahat, M. Dursun, B. Pamukcu, F. Mercanoglu, M. Meric, and M.A. Karan, *Non-invasive evaluation of endothelial function in hypertensive elderly patients*. *Arch Gerontol Geriatr*, 2005. **40**(1): p. 61-71.
37. James, M.A., J. Tullett, A.G. Hemsley, and A.C. Shore, *Effects of aging and hypertension on the microcirculation*. *Hypertension*, 2006. **47**(5): p. 968-74.
38. Tigno, X.T., I.K. Selaru, S.V. Angeloni, and B.C. Hansen, *Is microvascular flow rate related to ghrelin, leptin and adiponectin levels?* *Clin Hemorheol Microcirc*, 2003. **29**(3-4): p. 409-16.
39. Wahlberg, J., Lindberg, M., *Assessment of skin blood flow - an overview*, in *Bioengineering of the skin: Cutaneous blood flow and erythema*, P. Berardesca, Elsner, P., Maibach, H., Editor. 1996, CRC Press: Boca Raton. p. 23-27.
40. Belcaro, G., Nicolaides, A., *Laser Doppler Flowmetry: Principles of technology and clinical applications*, in *Handbook of Non-invasive methods and the skin*, J. Serup, Jemec, G., Grove, G., Editor. 2006, Taylor & Francis: Boca Raton. p. 70-71.
41. Bircher, A., *Laser Doppler measurement of skin blood flux: variation and validation*, in *Handbook of Non-invasive methods and the skin*, J. Serup, Jemec, G., Grove, G., Editor. 2006, Taylor & Francis: Boca Raton. p. 691-696.
42. Bernardi, L., Leuzzi, S., *Laser Doppler Flowmetry and Photoplethysmography: Basic principles and hardware*, in *Bioengineering of the skin: Cutaneous blood flow and erythema*, P. Berardesca, Elsner, P., Maibach, H., Editor. 1996, CRC Press: Boca Raton. p. 31-55.
43. Holloway, G.A., Jr. and D.W. Watkins, *Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow*. *J Invest Dermatol*, 1977. **69**(3): p. 306-9.
44. Sarnik, S., I. Hofirek, and O. Sochor, *Laser Doppler fluxmetry*. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2007. **151**(1): p. 143-6.
45. Binzoni, T., T.S. Leung, D. Rufenacht, and D.T. Delpy, *Absorption and scattering coefficient dependence of laser-Doppler flowmetry models for large tissue volumes*. *Phys Med Biol*, 2006. **51**(2): p. 311-33.
46. Rajan, V., B. Varghese, T.G. van Leeuwen, and W. Steenbergen, *Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry*. *Lasers Med Sci*, 2009. **24**(2): p. 269-83.
47. Rendell, M.S., M.F. Finnegan, J.C. Healy, A. Lind, B.K. Milliken, D.E. Finney, and R.F. Bonner, *The relationship of laser-Doppler skin blood flow measurements to the cutaneous microvascular anatomy*. *Microvasc Res*, 1998. **55**(1): p. 3-13.
48. Eun, H.C., *Evaluation of skin blood flow by laser Doppler flowmetry*. *Clin Dermatol*, 1995. **13**(4): p. 337-47.
49. Choi, C.M. and R.G. Bennett, *Laser Dopplers to determine cutaneous blood flow*. *Dermatol Surg*, 2003. **29**(3): p. 272-80.
50. Tulevski, II, D.T. Ubbink, and M.J. Jacobs, *Red and green laser Doppler compared with capillary microscopy to assess skin microcirculation in the feet of healthy subjects*. *Microvasc Res*, 1999. **58**(2): p. 83-8.
51. Obeid, A.N., D.M. Boggett, N.J. Barnett, G. Dougherty, and P. Rolfe, *Depth discrimination in laser Doppler skin blood flow measurement using different lasers*. *Med Biol Eng Comput*, 1988. **26**(4): p. 415-9.
52. Serup, J., *Cutaneous blood flow and erythema: standardization of measurements*, in *Bioengineering of the skin: Cutaneous blood flow and erythema*, P. Berardesca, Elsner, P., Maibach, H., Editor. 1996, CRC Press: Boca Raton. p. 57-63.

53. Wright, C.I., C.I. Kroner, and R. Draijer, *Non-invasive methods and stimuli for evaluating the skin's microcirculation*. J Pharmacol Toxicol Methods, 2006. **54**(1): p. 1-25.
54. Rithalia, S.V., *Developments in transcutaneous blood gas monitoring: a review*. J Med Eng Technol, 1991. **15**(4-5): p. 143-53.
55. Sheffield, P.J., *Measuring tissue oxygen tension: a review*. Undersea Hyperb Med, 1998. **25**(3): p. 179-88.
56. Lima, A. and J. Bakker, *Noninvasive monitoring of peripheral perfusion*. Intensive Care Med, 2005. **31**(10): p. 1316-26.
57. Intaglietta, M., P.C. Johnson, and R.M. Winslow, *Microvascular and tissue oxygen distribution*. Cardiovasc Res, 1996. **32**(4): p. 632-43.
58. Got, I., *[Transcutaneous oxygen pressure (TcPO₂): advantages and limitations]*. Diabetes Metab, 1998. **24**(4): p. 379-84.
59. Roszinski, S., *Transcutaneous pO₂ and pCO₂ measurements*, in *Bioengineering of the skin: Methods and instrumentation*, P. Berardesca, Elsner, P., Wilhelm, K-P., Maibach, H., Editor. 1995, CRC Press: Boca Raton. p. 95-103.
60. Wilson, D., Maibach, H., *A review of transepidermal water loss*, in *Bioengineering of the skin: water and the stratum corneum*, P. Elsner, Berardesca, E., Maibach, H., Editor. 1994, CRC Press: Boca Raton. p. 83-110.
61. Rodrigues, L.M., P.C. Pinto, and L.M. Pereira, *Quantitative description of human skin water dynamics by a disposition-decomposition analysis (DDA) of trans-epidermal water loss and epidermal capacitance*. Skin Res Technol, 2003. **9**(1): p. 24-30.
62. Poet, T.S., R.A. Corley, K.D. Thrall, J.A. Edwards, H. Tanojo, K.K. Weitz, X. Hui, H.I. Maibach, and R.C. Wester, *Assessment of the percutaneous absorption of trichloroethylene in rats and humans using MS/MS real-time breath analysis and physiologically based pharmacokinetic modeling*. Toxicol Sci, 2000. **56**(1): p. 61-72.
63. Meguro, S., Y. Arai, Y. Masukawa, K. Uie, and I. Tokimitsu, *Relationship between covalently bound ceramides and transepidermal water loss (TEWL)*. Arch Dermatol Res, 2000. **292**(9): p. 463-8.
64. Hashimoto-Kumasaka, K., K. Takahashi, and H. Tagami, *Electrical measurement of the water content of the stratum corneum in vivo and in vitro under various conditions: comparison between skin surface hygrometer and corneometer in evaluation of the skin surface hydration state*. Acta Derm Venereol, 1993. **73**(5): p. 335-9.
65. Nilsson, G.E., *Measurement of water exchange through skin*. Med Biol Eng Comput, 1977. **15**(3): p. 209-18.
66. Pinnagoda, J., *Hardware and measuring principles: Evaporimeter*, in *Bioengineering of the skin: Water and the Stratum Corneum*, P. Elsner, Berardesca, E. , Maibach, H., Editor. 1994, CRC Press. p. 51-57.
67. Zhai, H., J.P. Ebel, R. Chatterjee, K.J. Stone, V. Gartstein, K.D. Juhlin, A. Pelosi, and H.I. Maibach, *Hydration vs. skin permeability to nicotines in man*. Skin Res Technol, 2002. **8**(1): p. 13-8.
68. Wilhelm, K., Wolf, H, Maibach, H, *Effects of surfactants on skin hydration*, in *Bioengineering of the skin: Water and the Stratum Corneum*, P. Elsner, Berardesca, E. , Maibach, H., Editor. 1994, CRC Press. p. 257-289.
69. Edwards, C., Marks, R, *Hydration and atopic dermatitis*, in *Bioengineering of the skin: Water and the Stratum Corneum*, P. Elsner, Berardesca, E. , Maibach, H., Editor. 1994, CRC Press. p. 235-242.
70. Pinto, P.C. and L.M. Rodrigues, *Influence of the time of occlusion on the quantitative parameters obtained by modelling trans-epidermal water loss curves to describe the human cutaneous barrier function in vivo*. Med Biol Eng Comput, 2005. **43**(6): p. 771-5.

71. Shore, A.C., K.J. Price, D.D. Sandeman, J.H. Tripp, and J.E. Tooke, *Posturally induced vasoconstriction in diabetes mellitus*. Arch Dis Child, 1994. **70**(1): p. 22-6.
72. Svedman, C., G.W. Cherry, and T.J. Ryan, *The veno-arteriolar reflex in venous leg ulcer patients studied by laser Doppler imaging*. Acta Derm Venereol, 1998. **78**(4): p. 258-61.
73. Crandall, C.G., M. Shibasaki, and T.C. Yen, *Evidence that the human cutaneous venoarteriolar response is not mediated by adrenergic mechanisms*. J Physiol, 2002. **538**(Pt 2): p. 599-605.
74. Rayman, G., A. Hassan, and J.E. Tooke, *Blood flow in the skin of the foot related to posture in diabetes mellitus*. Br Med J (Clin Res Ed), 1986. **292**(6513): p. 87-90.
75. de Graaff, J.C., D.T. Ubbink, S.M. Lagarde, and M.J. Jacobs, *Postural changes in capillary pressure in the hallux of healthy volunteers*. J Appl Physiol, 2003. **95**(6): p. 2223-8.
76. Husmann, M., T. Willenberg, H.H. Keo, S. Spring, E. Kalodiki, and K.T. Delis, *Integrity of venoarteriolar reflex determines level of microvascular skin flow enhancement with intermittent pneumatic compression*. J Vasc Surg, 2008. **48**(6): p. 1509-13.
77. Brown, C.M., B. Stemper, G. Welsch, M. Brys, F.B. Axelrod, and M.J. Hilz, *Orthostatic challenge reveals impaired vascular resistance control, but normal venous pooling and capillary filtration in familial dysautonomia*. Clin Sci (Lond), 2003. **104**(2): p. 163-9.
78. Beaconsfield, P. and J. Ginsburg, *Effect of changes in limb posture on peripheral blood flow*. Circ Res, 1955. **3**(5): p. 478-82.
79. Middtun, M., P. Sejrson, and W.P. Paaske, *Blood flow rate during orthostatic pressure changes in the pulp skin of the first toe*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1997. **13**(3): p. 278-84.
80. Abu-Own, A., J.H. Scurr, and P.D. Coleridge Smith, *Effect of leg elevation on the skin microcirculation in chronic venous insufficiency*. J Vasc Surg, 1994. **20**(5): p. 705-10.
81. Scheffler, A. and H. Rieger, *A comparative analysis of transcutaneous oximetry (tcPO₂) during oxygen inhalation and leg dependency in severe peripheral arterial occlusive disease*. J Vasc Surg, 1992. **16**(2): p. 218-24.
82. Ohgi, S., K. Ito, H. Hara, and T. Mori, *Continuous measurement of transcutaneous oxygen tension on stress test in claudicants and normals*. Angiology, 1986. **37**(1): p. 27-35.
83. Schmidt, J.A., C. Bracht, A. Leyhe, and P. von Wichert, *Transcutaneous measurement of oxygen and carbon dioxide tension (TcPO₂ and TcPCO₂) during treadmill exercise in patients with arterial occlusive disease (AOD)--stages I and II*. Angiology, 1990. **41**(7): p. 547-52.
84. Addor, G., A. Delachaux, B. Dischl, D. Hayoz, L. Liaudet, B. Waeber, and F. Feihl, *A comparative study of reactive hyperemia in human forearm skin and muscle*. Physiol Res, 2008. **57**(5): p. 685-92.
85. Rossi, M., A. Carpi, C. Di Maria, F. Franzoni, F. Galetta, and G. Santoro, *Post-ischaemic peak flow and myogenic flowmotion component are independent variables for skin post-ischaemic reactive hyperaemia in healthy subjects*. Microvasc Res, 2007. **74**(1): p. 9-14.
86. La Civita, L., M. Rossi, G. Vaghegini, F.A. Storino, L. Credidio, G. Pasero, C. Giusti, and C. Ferri, *Microvascular involvement in systemic sclerosis: laser Doppler evaluation of reactivity to acetylcholine and sodium nitroprusside by iontophoresis*. Ann Rheum Dis, 1998. **57**(1): p. 52-5.
87. Morales, F., R. Graaff, A.J. Smit, S. Bertuglia, A.L. Petoukhova, W. Steenbergen, P. Leger, and G. Rakhorst, *How to assess post-occlusive reactive hyperaemia by means of laser Doppler perfusion monitoring: application of a standardised protocol to patients with peripheral arterial obstructive disease*. Microvasc Res, 2005. **69**(1-2): p. 17-23.

88. Meyer, M.F., D. Lieps, H. Schatz, and M. Pfohl, *Impaired flow-mediated vasodilation in type 2 diabetes: lack of relation to microvascular dysfunction*. *Microvasc Res*, 2008. **76**(1): p. 61-5.
89. Korkmaz, H. and O. Onalan, *Evaluation of endothelial dysfunction: flow-mediated dilation*. *Endothelium*, 2008. **15**(4): p. 157-63.
90. Yamamoto-Suganuma, R. and Y. Aso, *Relationship between post-occlusive forearm skin reactive hyperaemia and vascular disease in patients with Type 2 diabetes--a novel index for detecting micro- and macrovascular dysfunction using laser Doppler flowmetry*. *Diabet Med*, 2009. **26**(1): p. 83-8.
91. Qian, S., Iwai, T., Inoue, Y., Endo, M., *A Comparative Analysis of Transcutaneous Oxygen Tension (tcPO₂) During Rest and Postischemic Response Test in the Diagnosis of Patients with Mild and Moderate Arteriosclerosis Obliterans (ASO)*. *Vasc Endovascular Surg*, 1994. **28**(6): p. 393-400.
92. Lusiani, L., A. Visona, P. Nicolin, B. Papesso, and A. Pagnan, *Transcutaneous oxygen tension (TcPO₂) measurement as a diagnostic tool in patients with peripheral vascular disease*. *Angiology*, 1988. **39**(10): p. 873-80.
93. Frau, G., *Transcutaneous PO₂ response to transient arterial occlusion in peripheral vascular disease detected by heating power oximeter*. *Angiology*, 2001. **52**(12): p. 851-7.
94. Ledermann, H.P., H.G. Heidecker, A.C. Schulte, C. Thalhammer, M. Aschwanden, K.A. Jaeger, K. Scheffler, and D. Bilecen, *Calf muscles imaged at BOLD MR: correlation with TcPO₂ and flowmetry measurements during ischemia and reactive hyperemia--initial experience*. *Radiology*, 2006. **241**(2): p. 477-84.
95. Slagsvold, C.-E., K. Kvernebo, E. Strandén, and A. Kroese, *Postischemic Transcutaneous Oxygen Tension Response in Assessment of Peripheral Atherosclerosis*. *Vascular and Endovascular Surgery*, 1988. **22**(2): p. 102-109.
96. Rodrigues, L.M., P.C. Pinto, J.M. Magro, M. Fernandes, and J. Alves, *Exploring the influence of skin perfusion on transepidermal water loss*. *Skin Res Technol*, 2004. **10**(4): p. 257-62.
97. Zgonis, T., J.C. Garbalosa, P. Burns, L. Vidt, and C. Lowery, *A retrospective study of patients with diabetes mellitus after partial foot amputation and hyperbaric oxygen treatment*. *J Foot Ankle Surg*, 2005. **44**(4): p. 276-80.
98. Niinikoski, J.H., *Clinical hyperbaric oxygen therapy, wound perfusion, and transcutaneous oximetry*. *World J Surg*, 2004. **28**(3): p. 307-11.
99. Ohgi, S., K. Ito, and T. Mori, *Quantitative evaluation of the skin circulation in ischemic legs by transcutaneous measurement of oxygen tension*. *Angiology*, 1981. **32**(12): p. 833-9.
100. Kalani, M., G. Jorneskog, N. Naderi, F. Lind, and K. Brismar, *Hyperbaric oxygen (HBO) therapy in treatment of diabetic foot ulcers. Long-term follow-up*. *J Diabetes Complications*, 2002. **16**(2): p. 153-8.
101. Slagsvold, C.E., E. Strandén, L. Rosen, and A.J. Kroese, *The role of blood perfusion and tissue oxygenation in the postischemic transcutaneous pO₂ response*. *Angiology*, 1992. **43**(2): p. 155-62.
102. de Mul, F.F., F. Morales, A.J. Smit, and R. Graaff, *A model for post-occlusive reactive hyperemia as measured with laser-Doppler perfusion monitoring*. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2005. **52**(2): p. 184-90.
103. Wagner, J.G., *History of pharmacokinetics*. *Pharmacol Ther*, 1981. **12**(3): p. 537-62.
104. Rosado, C., P. Pinto, and L.M. Rodrigues, *Modeling TEWL-desorption curves: a new practical approach for the quantitative in vivo assessment of skin barrier*. *Exp Dermatol*, 2005. **14**(5): p. 386-90.

105. Rosado, C., P. Pinto, and L.M. Rodrigues, *Assessment of moisturizers and barrier function restoration using dynamic methods*. *Skin Res Technol*, 2009. **15**(1): p. 77-83.
106. Karlsson, M.O., S.L. Beal, and L.B. Sheiner, *Three new residual error models for population PK/PD analyses*. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1995. **23**(6): p. 651-72.
107. Forum, S.C. 2009 [cited; Available from: http://www.scf-online.com/english/40_e/contents40_e.htm].
108. Mohrman, D., *Vascular control*, in *Cardiovascular Physiology* M.-H. Medical, Editor. 2006, McGraw-Hill Medical. p. 117-145.
109. *World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects*. *J Int Bioethique*, 2004. **15**(1): p. 124-9.
110. Tawadrous, M.N., X.Y. Zhang, and A.M. Wheatley, *Microvascular origin of laser-Doppler flux signal from the surface of normal and injured liver of the rat*. *Microvasc Res*, 2001. **62**(3): p. 355-65.
111. Takiwaki, H., *Measurement of transcutaneous Oxygen tension*, in *Handbook of Non-invasive methods and the skin*, J. Serup, Jemec, G., Grove, G., Editor. 2006, Taylor & Francis: Boca Raton. p. 397-405.
112. Nickelsen, C.N., *Measurement of transcutaneous PCO₂*, in *Handbook of Non-invasive methods and the skin*, J. Serup, Jemec, G., Grove, G., Editor. 2006, Taylor & Francis: Boca Raton. p. 407-410.
113. Pinnagoda, J., Tupker, R, *Measurement of Transepidermal Water Loss*, in *Handbook of non-invasive methods and the skin*, J. Serup, Jemec, G., Grove, G., Editor. 1995, CRC Press. p. 1995.
114. Kazaka, C., *Tewameter user's guide*. 1986.
115. Sheiner, L.B., *Analysis of pharmacokinetic data using parametric models--1: Regression models*. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1984. **12**(1): p. 93-117.
116. Motulsky, H., *Nonlinear regression*, in *The graphpad guide to nonlinear regression*. 1995, Graphpad software editors. p. 1-16.
117. Meyers, R., *The simple linear regression model*, in *Classical and modern regression with applications*, M. Payne, Editor. 1990, KWS: Kent. p. 2-81.
118. Boxenbaum, H.G., S. Riegelman, and R.M. Elashoff, *Statistical estimations in pharmacokinetics*. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1974. **2**(2): p. 123-48.
119. Sheiner, L.B. and S.L. Beal, *Pharmacokinetic parameter estimates from several least squares procedures: superiority of extended least squares*. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1985. **13**(2): p. 185-201.
120. Sheiner, L.B. and S.L. Beal, *A note on confidence intervals with extended least squares parameter estimates*. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1987. **15**(1): p. 93-8.
121. Lasdon, L., Warren, A, Jain, A, Ratner, M, *Design and testing of a Generalized Reduced Gradient Code for nonlinear programming*. *ACM Transactions on Mathematical Software*, 1978. **4**(1): p. 34-50.
122. Fylstra, D., L. Lasdon, J. Watson, and A. Warren, *Design and Use of the Microsoft Excel Solver*. *INTERFACES*, 1998. **28**(5): p. 29-55.
123. Billo, E.J., *Nonlinear Regression Using the Solver*, in *Excel@ for Scientists and Engineers: Numerical Methods*. 2007, WILEY-INTERSCIENCE. p. 313-339.
124. Meyer, M.F., *Criteria for choice of best model*, in *Classical and modern regression with applications*, M. Payne, Editor. 1990, PWS: Kent. p. 165-209.
125. Yamaoka, K., T. Nakagawa, and T. Uno, *Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations*. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1978. **6**(2): p. 165-75.
126. Sheiner, L.B. and S.L. Beal, *Some suggestions for measuring predictive performance*. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1981. **9**(4): p. 503-12.

127. Ludden, T.M., S.L. Beal, and L.B. Sheiner, *Comparison of the Akaike Information Criterion, the Schwarz criterion and the F test as guides to model selection*. J Pharmacokinet Biopharm, 1994. **22**(5): p. 431-45.
128. Meyer, M.F., *Analysis of residuals*, in *Classical and modern regression with applications*, M. Payne, Editor. 1990, PWS: Kent. p. 210-249.
129. Zar, J.H., *Simple linear regression*, in *Biostatistical analysis*, T. Ryu, Editor. 1999, Prentice Hall: New Jersey. p. 325-359.
130. Peck, C.C., S.L. Beal, L.B. Sheiner, and A.I. Nichols, *Extended least squares nonlinear regression: a possible solution to the "choice of weights" problem in analysis of individual pharmacokinetic data*. J Pharmacokinet Biopharm, 1984. **12**(5): p. 545-58.
131. Peck, C.C., L.B. Sheiner, and A.I. Nichols, *The problem of choosing weights in nonlinear regression analysis of pharmacokinetic data*. Drug Metab Rev, 1984. **15**(1-2): p. 133-48.
132. Pinto, P.C., Pereira, L.M., Minhós, R., Rodrigues, L., *Testing the discriminative capacity of compartmental modelling for the analysis of the in-vivo epidermal water content changes following topical application under occlusion*. IFSCC magazine, 2002. **5**(2): p. 87-92.
133. SPSS, *SPSS 16.0 for Windows*. 2007, SPSS Inc.
134. Parati, G., G.S. Stergiou, R. Asmar, G. Bilo, P. de Leeuw, Y. Imai, K. Kario, E. Lurbe, A. Manolis, T. Mengden, E. O'Brien, T. Ohkubo, P. Padfield, P. Palatini, T. Pickering, J. Redon, M. Revera, L.M. Ruilope, A. Shennan, J.A. Staessen, A. Tisler, B. Waeber, A. Zanchetti, and G. Mancia, *European Society of Hypertension guidelines for blood pressure monitoring at home: a summary report of the Second International Consensus Conference on Home Blood Pressure Monitoring*. J Hypertens, 2008. **26**(8): p. 1505-26.
135. Al-Qaisi, M., D.M. Nott, D.H. King, and S. Kaddoura, *Ankle brachial pressure index (ABPI): An update for practitioners*. Vasc Health Risk Manag, 2009. **5**: p. 833-41.
136. Pinto, P.C., Rei, F., Fernandes, M., Rodrigues, L., *Characterization of the peripheral vascular function by a hemodynamical response to a passive postural change in the lower limb*. Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2006. **3**(2): p. 145-153.
137. Rodrigues, L.M., P.C. Pinto, and A. Leal, *Transcutaneous flow related variables measured in vivo: the effects of gender*. BMC Dermatol, 2001. **1**: p. 4.
138. Orenstein, A., R. Mazkereth, and H. Tsur, *Mapping of the human body skin with the transcutaneous oxygen pressure method*. Ann Plast Surg, 1988. **20**(5): p. 419-25.
139. Dooley, J., G. King, and B. Slade, *Establishment of reference pressure of transcutaneous oxygen for the comparative evaluation of problem wounds*. Undersea Hyperb Med, 1997. **24**(4): p. 235-44.
140. Rodrigues, L., Ferro, I.Z., Galego, N., Pinto, P., Silva, N., Rey-Salgueiros, Y., *Study on the application of transcutaneous pO₂ and pCO₂ monitoring to the in vivo functional characterisation of the normal human skin*. Piel, 1998. **13**: p. 380-388.
141. Cabrales, P., A.G. Tsai, and M. Intaglietta, *Nitric oxide regulation of microvascular oxygen exchange during hypoxia and hyperoxia*. J Appl Physiol, 2006. **100**(4): p. 1181-7.
142. Kisilevsky, M., C. Hudson, A. Mardimae, T. Wong, and J. Fisher, *Concentration-dependent vasoconstrictive effect of hyperoxia on hypercarbia-dilated retinal arterioles*. Microvasc Res, 2008. **75**(2): p. 263-8.
143. Macey, P.M., M.A. Woo, and R.M. Harper, *Hyperoxic brain effects are normalized by addition of CO₂*. PLoS Med, 2007. **4**(5): p. e173.