



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró reitoria de pesquisa

Av. dos Estados, 5001, Santa Terezinha, Santo André/SP, CEP 09210-580

Bloco L, 3ºAndar, Fone (11) 3356-7617

iniciacao@ufabc.edu.br

Projeto de Iniciação Científica
submetido para avaliação no Edital:
4/2022 - PROPES (11.01.07)

Título do projeto: Estudo de viscosidade: tempo entre a coleta e a obtenção da medida.

Palavras-chave do projeto: Viscosidade do Sangue, metodologia de mensuração de viscosidade

Área do conhecimento do projeto: medicina

Sumário

RESUMO	3
INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	4
OBJETIVO.....	6
PLANO DE TRABALHO E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO	6
CASUÍSTICA, MATERIAIS, MÉTODOS	6
Descrição do equipamento utilizado para medição da viscosidade ⁽¹⁸⁾	7
Análise Estatística	10
Referências.....	12

RESUMO

O sangue representa cerca de 7% do peso corporal de um indivíduo, sendo constituído de plasma e células especializadas em suspensão, com função essencial de transporte de substâncias. A viscosidade do sangue depende basicamente de quatro fatores: influência do hematócrito, influência da temperatura, diâmetro do vaso e axialização das hemácias. Os valores encontrados para a viscosidade sanguínea tendem a aparecer com diferenças significativas, de acordo com o sexo, avançar da idade, uso de substâncias, hidratação, temperatura ambiente. Pelo fato do sangue ser um fluido não newtoniano, não podemos expressar sua viscosidade em termos absolutos sem que sejam levadas em conta as condições em que a mensuração é feita. A prática médica carece ainda de um método simples para a verificação desta medida, como um marcador inicial para prevenção de problemas vasculares e mesmo cognitivo, para tanto se faz necessário determinar valores de referência, bem como, a descrever de forma detalhada a metodologia empregada para aquisição desta medida. Estudos anteriores destacaram a importância desta medida, considerando o efeito da idade, o uso de substâncias, bem como sua relação com Fluxo Sanguíneo Regional Cerebral. O uso do viscosímetro rotacional com sistema cone/plate modelo DV-III Ultra permite utilizar o sangue total, apresentando como vantagem o controle da temperatura na cuba de medição onde o material é inserido. Além deste controle, é necessário padronizar os procedimentos e condições do processo de medição, para que os valores encontrados em pacientes possam ser comparados de forma efetiva a valores de referência (a ser determinado a partir desta técnica). Portanto, este trabalho representa um primeiro passo para que as utilizações dos valores de viscosidade sanguínea para a prática clínica.

Palavras chaves: Viscosidade do Sangue, metodologia de mensuração de viscosidade

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O sangue representa cerca de 7% do peso corporal de um indivíduo.⁽¹⁾ O sangue é constituído pelo plasma, a porção líquida amarelada e semitransparente responsável por 55% do volume sanguíneo, onde se encontram células especializadas em suspensão (glóbulos vermelhos – também chamados de eritrócitos ou hemácias -, glóbulos brancos e plaquetas).⁽¹⁾ Sendo fluido e único entre os tecidos do corpo, sua função essencial é o transporte de substâncias como: hidrogênio, oxigênio, eletrólitos, substâncias nutritivas, entre outras, além de produtos do metabolismo celular.⁽²⁾

A viscosidade do sangue depende basicamente de quatro fatores: 1. Influência do hematócrito (a viscosidade cresce exponencialmente com seu aumento), 2. Influência da temperatura (variando inversamente com esta), 3. Diâmetro do vaso (a viscosidade será menor quanto maior for o diâmetro do vaso), e, finalmente, 4. Axialização das hemácias (tendência destas a se acumularem no eixo do tubo, de forma que se forme uma zona marginal de plasma quase sem hemácias).⁽³⁾ Este último fenômeno é também denominado “plasma skimming”.⁽⁴⁾ Além destes fatores, a viscosidade sanguínea também sofre alterações devido à plasticidade das hemácias e pelo grau de agregação das mesmas.^(5, 2)

O sangue é considerado um fluido não newtoniano, pelo fato de a velocidade de cisalhamento não ser proporcional à tensão de cisalhamento.⁽²⁾ Sendo assim, não podemos expressar sua viscosidade em termos absolutos sem que sejam levadas em conta as condições em que a mensuração é feita.⁽²⁾

Para a mensuração da viscosidade do sangue, além da temperatura, outro fator importante a ser considerado é o tempo decorrido durante a mensuração, já que a amostra está sendo submetida à força de cisalhamento e acaba tendo sua viscosidade modificada conforme o passar do tempo.⁽⁶⁾ Também é importante observar o tempo

decorrido entre a coleta e a mensuração da viscosidade, uma vez que este fator também produz alteração na mesma.⁽⁷⁾

O sexo, a idade^(8, 9), e o uso de substâncias, como por exemplo, fumo^(10, 11) ou ingestão de *Ginkgo biloba*⁽¹²⁾ alteram os valores encontrados para a viscosidade sanguínea, podendo esta ser um marcador inicial de distúrbios vasculares com menor invasão clínica, estudo de Santos-Galduróz⁽¹⁵⁾ demonstrou correlação entre esta medida e medida de fluxo sanguíneo cerebral mensurada por meio de Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único (Single Photon Emission Computed tomography – SPECT), método com maior invasão, além de submeter o paciente a radioatividade por meio na administração de isótopo (Technetium-99m). A possibilidade do uso desta metodologia, permitiria este ser um primeiro exame de triagem para possíveis distúrbios vasculares.^(13, 14)

O viscosímetro rotacional com sistema cone/plate permite utilizar o sangue total, ao invés de somente o plasma desprezando as hemácias como fazem os outros métodos de medição de viscosidade.⁽⁸⁾

Foi realizado um estudo em 1995, por Galduróz et al., com o objetivo de verificar os valores da medida da viscosidade sanguínea de acordo com as variáveis sexo e idade, mas o equipamento utilizado na primeira etapa do estudo tinha uma precisão pequena em relação ao controle de temperatura, que é um fator importante nesta medida⁽¹⁵⁾. Atualmente, existe equipamento no mercado que possibilita o controle da temperatura no local onde está o material a ser verificado, aumentando o controle dos fatores de interferência, como o viscosímetro rotacional com sistema cone/plate modelo DV-III.

Com a mudança do equipamento se faz necessário padronizar os procedimentos controlando as variáveis de interferência nesta medida.

Assim, este trabalho tem por objetivo controlar uma das variáveis presentes na obtenção desta medida, o tempo de coleta. Este projeto faz parte de um projeto maior.

OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo avaliar possíveis influência do fator “tempo de coleta - realização da medição” para obtenção da medida de viscosidade do sangue.

PLANO DE TRABALHO E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

	2022		2023		
Atividades	Q2	Q3	Q1	Q2	Q3
Pesquisa bibliográfica	X	X	X	X	X
Treinamento para aquisição da medida	X	X			
Coletas e realização das medidas de viscosidade		X	X		
Montagem do banco de dados e análise dos dados		X	X	X	
Confecção de relatório final				X	
Apresentação em Simpósio					X

CASUÍSTICA, MATERIAIS, MÉTODOS

Serão coletadas amostras de voluntários, com idades entre 60 e 70 anos, sem relato de patologias e uso de substâncias que alteram a viscosidade sanguínea. Serão coletadas amostras de sangue arterial dos indivíduos por profissional habilitado, no próprio laboratório. As amostras

de sangue serão coletadas em tubo de 4.0 ml com EDTA 0,1% (um anticoagulante adequado por não alterar a viscosidade do sangue).^(16, 17)

Para este estudo, serão coletadas 20 amostras de 4.0ml em tubo com EDTA. Imediatamente após a coleta, o material será homogeneizado e transferido para Microtubos tipo Eppendorf Vol. 200µl, correspondendo a um total de 400 microtubos (20 para cada uma das 20 amostras). Estes serão numerados por ordem de transferência de 1-20, e analisados na sequência.

Este projeto encontra-se aprovado pela Fundação do ABC – FMABC, com o título “Estudo e estabelecimento de metodologia padrão para obtenção da medida de viscosidade do sangue com viscosímetro digital Brookfield”, CAAE 03035712.7.0000.0082.

Mensuração da Viscosidade Sanguínea

Os primeiros tubos a serem analisados serão mantidos à temperatura entre 36,5°C e 37°C, em banho termostático, e a realização da medida se dará com temperatura controlada na cuba do viscosímetro, nesta mesma faixa, entre 0 e 30 minutos após a coleta.

O restante do material será armazenado em geladeira a 4°C em média (com variação aceitável entre 2°C e 8°C), e será retirado e colocado em banho termostático até que atinja a temperatura alvo para medição. A realização da medida será feita de hora em hora, encerrando-se a análise quando a medida de variação atingir a primeira casa após a vírgula.

Descrição do equipamento utilizado para medição da viscosidade ⁽¹⁸⁾

1. Reômetro tipo giratório com mola de torção, versão cone e prato Wells/Brookfield, digital, microprocessado, programável, de bancada, modelo **RVDV-III+CP**, para medição de viscosidade absoluta e propriedades reológicas

de fluidos newtonianos e não-newtonianos, com pequenas quantidades (0,5 a 2 ml) de amostras. Modelo com sensor de temperatura tipo RTD para medir a temperatura na faixa de $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $+300\text{ }^{\circ}\text{C}$, com precisão de $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ na faixa de -100 a $+149\text{ }^{\circ}\text{C}$ e de $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ na faixa de 150 a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$. Possui 2600 diferentes velocidades de operação entre 0,01 e 250 rpm, selecionável em incrementos de 0,01 rpm na faixa de 0,01 até 1 rpm e em incrementos de 0,1 rpm na faixa de 1 a 250 rpm, copo do tipo CPE-44Y com conexões para banho termostático externo. Faixa de medição de 1 a 983.000 mPa.s (cP). Efetua sensoreamento e leitura contínua de dados de medição. Escala de leitura de 0 a 100% de torque e diretamente de viscosidade em mPa.s ou cP (a selecionar). Tampa frontal com teclado de membrana com 20 teclas e visor do tipo LED, de alto brilho, com quatro linhas, que permite a leitura simultânea da viscosidade, da % torque, da temperatura em $^{\circ}\text{C}$ ou $^{\circ}\text{F}$ (a selecionar), da velocidade e/ou do cone selecionados, da taxa e/ou tensão de cisalhamento e do programa que está sendo executado. Possui ainda tecla para ligar/desligar o motor, tecla “auto-range” que permite escolher a faixa de trabalho em função da velocidade e cone escolhidos, onze teclas alfanuméricas para permitir a entrada de dados e mais sete teclas com funções diversas. É um equipamento dedicado que pode ser operado sem necessidade de qualquer controle externo ou pode ser conectado a um computador para controle totalmente automático. Possui memória para armazenamento de dados e sistema de trava que impede alterações inadvertidas nos programas. Funções programáveis embutidas de tempo para torque e tempo para parada e indicação de leituras acima ou abaixo das faixas limite de trabalho. Saídas RS-232 serial bi-direcional para conexão a computador, analógicas para conexão a registrador gráfico, de 0 a 1 VCC para o torque e de 0 a 4 VCC para a temperatura, e paralela para impressora.

Acompanha o equipamento o software RheoLoader que permite descarregar na memória do reômetro programas desenvolvidos externamente. Pode ainda utilizar o software Rheocalc para funcionamento totalmente automático do reômetro através do computador. Equipamento robusto, silencioso, de fácil utilização e alta precisão, de $\pm 1\%$ da faixa de trabalho, com repetibilidade de $\pm 0,2\%$. Possui nível de bolha para o nivelamento do equipamento. Vem acompanhado de um suporte em forma retangular, com dois pés de altura regulável para ajuste do nível e com a fonte de alimentação embutida. O suporte possui uma haste com cremalheira, ao qual o reômetro é fixado, permitindo a movimentação do equipamento no sentido vertical. Pode operar na rede elétrica de 110 ou 220 VAC, 60 Hz. Fornecido em maleta de transporte rígida e resistente e com manual de operação em inglês. Marca Brookfield Engineering Laboratories / USA.

2. Haste tipo cone CPE-40, em aço inoxidável # 304, tem \varnothing de 0,8", raio de 2,4 cm, utiliza amostra de 0,5 ml e tem taxa de cisalhamento de $7,5 \text{ N s}^{-1}$ ($N = \text{rpm}$). Marca Brookfield Engineering Laboratories/USA.
3. Banho termostático de circulação, digital, microprocessado, modelo TC-602D, para ser utilizado em conjunto com viscosímetros/reômetros, seja através da colocação da amostra dentro do banho, utilizando a sua circulação interna com agitação, seja conectando-o a dispositivos externos tais como nos modelos cone-prato, adaptador para pequenas amostras, adaptador para baixas viscosidades, etc., através da circulação externa em circuito fechado. Controle de temperatura na faixa de -20°C até $+150^\circ\text{C}$, com estabilidade de $\pm 0,05^\circ\text{C}$ e com leitura de $0,5^\circ\text{C}$, permitindo tanto aquecimento como refrigeração. O mostrador tipo LED permite a leitura da temperatura em tempo real e/ou da

temperatura programada em °C ou °F. Possibilidade de pré-fixar 3 diferentes temperaturas de trabalho através do simples toque de três botões. Limite máximo de temperatura pode ser ajustado. Bomba de circulação com 2 velocidades, selecionáveis, 9 ou 15 l/m. Reservatório com capacidade de 6 litros e plataforma interna de suporte para 1 béquer de 600 ml ou similar. Dispõe de dispositivo de proteção de sobretemperatura e dispositivo de proteção de nível baixo de líquido. Dimensões externas de 40 x 21 x 58 cm (P x L x A). Com tampa superior inteiriça. Marca Brookfield Engineering Laboratories/USA.

4. Programa **RHEOCALC**, compatível com Viscosímetro Programável DV-II+Pro e com Reômetro DV-III Ultra.

Análise Estatística

Para a escolha das análises estatísticas, primeiramente, será testada a normalidade dos dados. Assim, inicialmente os resultados serão analisados por meio da estatística descritiva (média \pm dp ou mediana e amplitude). Para as medidas repetidas será utilizado o teste de U-Mann Whitney ou teste t de Student, teste de Wicoxon ou ANOVA . Será utilizada correlação de *Spearman* ou Pearson para as variáveis (Exemplo: tempo de coleta e medida de viscosidade, temperatura e medida de viscosidade), de acordo com a natureza dos dados. Para todas as análises será admitido $p=0,05$.

O software utilizado para a análise será o Statistica 10.0 .

Desenho Experimental

Voluntários com idades entre 30 e 50 anos, sem relatos de patologias e uso de substâncias que alteram a viscosidade

Coleta em tubos e distribuição em eppendorfs;

1ª mensuração – Temp. Controlada – 36,5°C a 37°C / 0 a 30 minutos após a coleta;

Armazenamento em geladeira – 4°C;

*Após retirada, banho térmico (36,5°C a 37°C) até que a amostra atinja esta mesma

2ª mensuração – Retirada: 60min após armazenamento;

3ª mensuração – Retirada: 120min após armazenamento;

4ª mensuração – Retirada: 180min após armazenamento;

Mensurações sucessivas de hora em hora;

Última mensuração – Valor da variação atingindo a primeira casa após a vírgula;

Análise estatística dos dados coletados

Cálculo de fórmula de correção

Referências

1. LERNER, B. R. Introdução ao Estudo da Fisiologia Humana. São Paulo: Edart, 1974.
2. MOUNTCASTLE, V.B. Fisiologia Médica. 13. ed. [S.l.]: Guanabara-Koogan, 1978.
3. OLIVEIRA, M. A. B. et al . Conceitos de física básica que todo cirurgião cardiovascular deve saber: parte I - mecânica dos fluídos. Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular, São José do Rio Preto, v. 25, n. 1, 2010.
4. ALOAN, L. in TAVARES, P.; FURTADO, M.; SANTOS, F. Fisiologia Humana. São Paulo: Atheneu, 1984.
5. REINHART, W.H. Molecular biology and self-regulatory mechanisms of blood viscosity: a review. Biorheology, v. 38, p. 203-212, 2001.
6. EGUCHI, Y.; KARINO, T. Measurement of rheologic property of blood by a falling-ball blood viscometer. Annals of biomedical engineering, v. 36, n. 4, p. 545-553, 2008.
7. FORESTO, P.; RIQUELME, B.; D'ARRIGO, M.; VALVERDE, J.; RASIA, R. Estudio de las propiedades reológicas de la sangre durante la conservación. Revista Argentina de Transfusión, v. 25, n.2, p. 103-110, 1999.
8. GALDURÓZ, J.C.F.; SANTOS, R.F.; CARLINI, E.A. Os efeitos da idade e sexo sobre viscosidade sangüínea em voluntários normais. Temas, v. 25, n. 50, p. 159-166, 1995.
9. BERNASCONI, C.; DEL SANTO, A.; MARRALI, F.; LAFFRANCHI, M.; MILANI, S.; AGOSTINI, A. Reference limits for blood viscosity: influence of sex and age. Clinical Hemorheology, v. 11, p. 447-457, 1991.
10. GUDMUNDSSON, M.; BJELLE, A. Plasma, serum and whole-blood viscosity: variations with age, sex, and smoking Habits. Angiology, v. 44, n. 5, p. 384-391, 1993.
11. SHIMADA, S.; HASEGAWA, K.; WADA, H.; TERASHIMA, S.; SATOH-ASAHARA, N.; YAMAKAGE, H.; KITAOKA, S.; AKAO, M.; SHIMATSU, A.; TAKAHASHI, Y. High blood viscosity is closely associated with cigarette smoking and markedly reduced by smoking cessation. Circulation Journal, v. 75, p. 185-189, 2011.

12. GALDURÓZ, J.C.F.; ANTUNES, H.K.; SANTOS, R.F. Gender- and age-related variations in blood viscosity in normal volunteers: a study of the effects of extract of *Allium sativum* and *Ginkgo biloba*. Phytomedicine, v. 14, n. 7-8, p. 447-451, 2007.
13. SANDHAGEN, Bo. Analysis of Haemorheological Variables – Methodology and Reference Values. Upsala Journal of Medical Sciences, v. 94, p. 81-87, 1989.
14. TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; BOSCHI, L.; GABBRIELLI, A.; MASTRONUZZI, V.; CAPPELLI, R.; FORCONI, S. Comparison of blood viscosity using a torsional oscillation viscometer and a rheometer. Clinical Hemorheology and Microcirculation, p. 1-10, 2007.
15. SANTOS-GALDURÓZ, R. F. ; BUENO, O.F.A.; YAMAGA, L.I.; ARMANI, F.; GALDURÓZ, J.C.F. Influence of blood viscosity to cerebral blood flow in older humans compared to young subjects. Clinical Neurophysiology, v. 123, p. 117-120, 2012.
16. RAND, P.W.; LACOMBE, E.; HUNT, H.E.; AUSTIN, W.H. Viscosity of normal human blood under normothermic and hypothermic conditions. Journal of Applied Physiology, v. 19, p. 177-122, 1964.
17. ROSENBLATT, G.; STOKES, J. & BASSET, D.R. Whole blood viscosity, hematocrit and serum lipid levels in normal subjects and patients with coronary heart disease. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, v. 65, p. 202-211, 1965.
18. MANUAL DE INSTRUÇÕES DE OPERAÇÃO Viscosímetro Digital Programável Brookfield Modelo DV-III Ultra.