

SISTEMA PARA AVALIAÇÃO "IN VITRO" DA HEMÓLISE NO VENTRÍCULO ARTIFICIAL

por

F. TURRI¹, M.S. OSHIRO, C. MASSUMOTO, A.A. LEIRNER, A.D. JATENE

RESUMO -- Neste trabalho pretendemos desenvolver um sistema que propicie uma avaliação "in vitro" da hemólise produzida pelo protótipo de ventrículo artificial (VA) em desenvolvimento na Divisão de Bioengenharia do InCor. O sistema possui dois acumuladores hidráulicos, um que simula a capacitância aórtica e outro a capacitância atrial. Entre eles é conectado um tubo de PVC com diâm. int. de 9,53 mm, cujos comprimento e diâmetro foram ajustados para se obter uma perda de carga de 100 mmHg. A hemólise de origem mecânica deve-se basicamente à tensão de cisalhamento atuante na hemácea. Sob escoamento laminar, esta é muito baixa, o que não é verdade se o escoamento for turbulento. Trabalhamos, então, com uma vazão de 2 l/min, cujo n_r de Reynolds correspondente é 1169. Tentamos garantir, desta forma, que a hemólise produzida deva-se exclusivamente ao VA. O fluido do sistema foi mantido sob temperatura constante de 37 °C e apresentou volume total de 1200 ml. A hemólise foi inferida medindo-se a variação da conc. de hemoglobina livre no tempo. Os valores obtidos foram normalizados para volemia, vazão, e conc. de hemoglobina de um adulto de 70 Kg. O valor obtido foi de 10.42 +/- 0.65 miligramas/dl/h.

INTRODUÇÃO

O ventrículo artificial (VA) sob o ponto de vista hidráulico, já atende às especificações básicas de um dispositivo de assistência circulatória. Na sua utilização, porém, ocorrem efeitos indesejáveis como, por exemplo, a hemólise e a formação de trombos. Neste trabalho, pretendemos desenvolver um sistema que propicie uma avaliação "in vitro" da hemólise produzida pelo protótipo de VA em desenvolvimento na Divisão de Bioengenharia do InCor.

¹-Divisão de Bioengenharia do Instituto do Coração - HCFMUSP, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, cep 05403 São Paulo - SP.

ASPECTOS TEÓRICOS

O sangue, quando em escoamento em condutos tanto artificiais (circuitos de circulação extra corpórea, por exemplo) como naturais (artérias, veias e capilares) está sujeito a fatores mecânicos como pressão, flutuações de pressão, tensões de cisalhamento, turbulência, etc.

Blackshear et al (1965) demonstraram que o eritrócito pode suportar compressões até 3 atmosferas (2000 mmHg) sem ocorrer hemólise significativa. Por outro lado, variações de pressão negativas que constituem processos expansivos, são uma causa importante de hemólise.

Williams (1973) e Nevaril et al (1968) mostraram importante correlação entre hemólise e a tensão de cisalhamento a qual está sendo submetida a hemácea.

No sangue sob escoamento laminar, a tensão de cisalhamento a qual fica submetida a hemácea é dada pela equação:

$$T = u.(dv/dr) \quad (1)$$

onde:

u = viscosidade do sangue.

dv/dr = variação da velocidade em relação a posição numa direção transversal ao escoamento.

Como o perfil da variação da velocidade é parabólico temos:

$$v(r) = (R^2 - r^2) \cdot (P_1 - P_2) / 4.l.u \quad (2)$$

onde:

R = raio do tubo.

r = distância radial do centro do tubo.

P_1 = pressão na entrada do tubo.

P_2 = pressão na saída do tubo.

l = comprimento do tubo.

A vazão Q num fluido sob escoamento laminar é dada pela equação de Poiseuille:

$$Q = \pi.R^4 \cdot (P_1 - P_2) / 8.u.l \quad (3)$$

Substituindo-se a equação (3) na equação (2) obtemos:

$$v(r) = (R^2 - r^2) \cdot (2.Q) / (\pi.R^4) \quad (4)$$

Derivando, temos:

$$(dv(R)/dr) = -4.Q / \pi.R^3 \quad (5)$$

Substituindo-se a equação (5) na equação (1) obtemos:

$$T = u.4.Q / (\pi.R^3) \quad (6)$$

Com esta equação podemos estimar a tensão de cisalhamento máxima que ocorre num fluido conhecendo-se a vazão Q, a viscosidade u do fluido e o raio do tubo, desde que o escoamento seja laminar.

Nevaril, (1968) submetendo amostras de sangue a cisalhamento, utilizando para isto um viscosímetro cilíndrico concêntrico, obteve a tensão de 150 N/m² como o valor limiar a partir do qual já começam a ocorrer alterações morfológicas irreversíveis na hemácea. Este valor, embora conflitante com o de outros trabalhos, é o que mais tem sido utilizado nos trabalhos relativos a hemólise.

Sendo o sangue um fluido não Newtoniano, a viscosidade u varia com o gradiente de velocidade dv/dr. Shu Chien et al (1966) fornecem dados relacionando a viscosidade do sangue com o gradiente de velocidade dv/dr, para sangue total num hematócrito de 51,7 %. Para valores altos de dv/dr (200 a 400 s⁻¹) a viscosidade é praticamente constante, comportando-se o sangue como um fluido Newtoniano. A viscosidade do sangue também varia com o hematócrito.

Sob escoamento turbulento, as tensões de cisalhamento atuantes no fluido são muito maiores que no escoamento laminar. Admite-se escoamento laminar aquele com Reynolds menor que 2300, a partir do qual o escoamento torna-se turbulento.

MATERIAL E MÉTODOS

No desenvolvimento de um sistema para avaliação "in vitro" da hemólise produzida por dispositivos de assistência circulatória, dois aspectos básicos devem ser levados em conta: o sistema deve simular o sistema cardiovascular sendo o menos hemolítico possível.

Sendo o VA uma bomba pulsátil, foi necessário incluir no sistema dois reservatórios de capacitância, um para simular a capacitância aórtica e outro a atrial. Os reservatórios são conectados através de uma tubulação. A capacitância aórtica armazena parte do sangue bombeado na sístole, injetando esta parte na tubulação durante a diástole, quando a válvula aórtica está fechada, evitando que a vazão na tubulação caia a zero, de forma análoga ao que ocorre no sistema cardiovascular. Já a capacitância atrial armazena o sangue que está chegando da tubulação enquanto a válvula mitral está fechada.

A tubulação tem a função de simular a resistência vascular periférica cujo valor

depende basicamente do comprimento e do diâmetro da tubulação. Muitos trabalhos tem ajustado a resistência mediante uma constricção externa do tubo, localizada num trecho da tubulação. A constricção, devido a uma grande diminuição da área de secção transversal produz um súbito aumento da velocidade do sangue, tornando o escoamento turbulento, o que poderá resultar em hemólise.

No desenvolvimento do sistema pretendeu-se, também, que este necessitasse de um volume de sangue não muito grande, devido às dificuldades na obtenção do mesmo, mormente se quizermos utilizar sangue humano.

Devido aos motivos expostos anteriormente, ajustamos os parâmetros do nosso sistema de forma que o escoamento fosse seguramente laminar. Desta forma, definimos e obtivemos os seguintes valores no nosso sistema:

Vazão : 2 l/min.

Diâmetro da tubulação : 9,53 mm.

dv/dr : 392 s^{-1} .

Reynolds : 1169.

Tensão de cisalhamento : $1,57 \text{ N/m}^2$.

O gradiente de velocidade dv/dr obtido utilizando-se a equação (5), cai na faixa de gradiente na qual o sangue se comporta como um fluido Newtoniano, onde a sua viscosidade tem o valor de $0,004 \text{ N.s/m}^2$. Este foi o valor, então, utilizado para a viscosidade do sangue na equação (6) para o cálculo da tensão de cisalhamento atuante no fluido. O valor da tensão de cisalhamento obtido foi muito pequeno, o que nos garante que a hemólise devida ao escoamento na tubulação será praticamente desprezível.

O comprimento da tubulação utilizado foi de 6,1 m. Os tubos utilizados foram de PVC e os reservatórios de capacitância foram feitos em acrílico.

O volume de sangue utilizado nos testes é dado a seguir na tabela 1. O sangue foi obtido da sangria de 2 cães em cada experimento. Foram executados os testes de compatibilidade sanguínea apropriados.

A tubulação ficou imersa em um banho de água cuja temperatura foi ajustada para que a temperatura no sangue fosse de 37°C .

A perda de carga média foi de 70 mmHg. A pressão na câmara aórtica foi de 108/40 mmHg. Estas medidas foram feitas através de um transdutor de pressão.

A vazão foi inferida multiplicando-se a frequência de batimento do VA pelo volume ejetado em cada batimento (volume sistólico), previamente determinado.

A taxa de hemólise foi obtida colhendo-se amostras de sangue de hora em hora, na qual foram medidos: a concentração de hemoglobina livre no plasma, a concentração de

hemoglobina , pelo método de Lewis; e o hematócrito por centrifugação. Em cada experimento foi calculado um índice de hemólise (IH) através da seguinte equação :

$$IH = V.(1-Ht).(<Hb_{livre}>_{final} - <Hb_{livre}>_{inicial}) / (\dot{V}.t.<Hb>) \quad (6)$$

onde:

\dot{V} = Volume do sistema (ml).

\dot{V} = Vazão do sistema (l/min).

Ht = Hematócrito (%).

$<Hb_{livre}>$ = Conc. de Hemoglobina Livre (ug/dl/h).

$<Ht>$ = Concentração de Hemoglobina (g/dl).

t = duração do experimento (h).

RESULTADOS

Os resultados obtidos são mostrados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1

Exp.	Volume (ml)	Vazão (l/min)	Ht (%)	<Hb> (g/dl)	t (h)	<Hb livre> i (mg/dl)	<Hb livre> f (mg/dl)	Controle <Hb livre> f (mg/dl)
1	1100	2.0	27	9	3.0	10.1	37.4	08.1
2	1100	2.0	42	14	3.5	34.4	89.4	38.0
3	1200	1.8	36	12	4.0	24.4	67.6	33.0

Tabela 2

Exp.	IH	Taxa <Hb livre> (mg/dl/h)
1	6.77	11.07
2	5.97	09.77
3	6.40	10.47
média	6.37	10.42
desvio	0.40	0.65

A taxa de hemoglobina livre mostrada na tabela 2 foi obtida multiplicando-se o

índice de hemólise pelo fator 1636363. Este fator normaliza os dados para valores de vazão = 5 l/min, volemia = 5 l e $\langle Hb \rangle = 15$ g/dl, que são os valores encontrados num homem adulto de 70 Kg.

Na figura 1 mostramos um gráfico relacionando a conc. de Hb livre com o tempo em um dos experimentos. A curva obtida foi aproximada para uma reta por regressão linear e a partir desta é que se extraiu os dados de variação de conc. de hemoglobina livre para a obtenção do índice de hemólise.

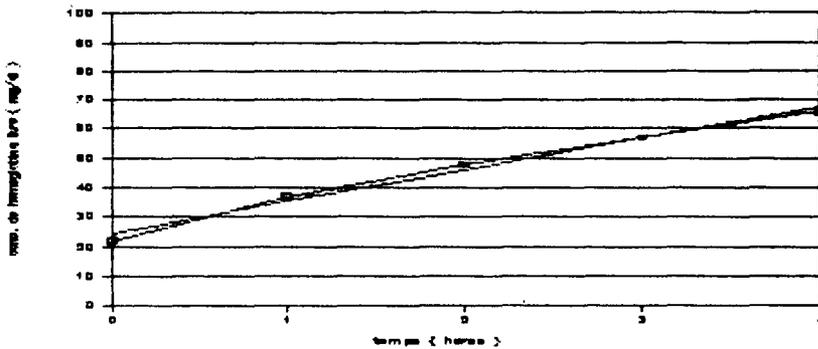


Figura 1

DISCUSSÃO

Embora não possamos garantir que toda a hemólise ocorrida deva-se exclusivamente ao VA, esta pode ser considerada baixa se comparada à de outros dispositivos de assistência circulatória, quando submetidos a avaliação "in vitro", por exemplo se compararmos nossos dados com os obtidos por Engelhardt(1988). Pretendemos, como prosseguimento deste nosso trabalho, medir a hemólise produzida utilizando diferentes comprimentos de tubulação de forma a poder extrapolar qual seria o valor desta quando o comprimento da tubulação fosse igual a zero. Desta forma, poderemos avaliar com maior precisão a porcentagem de hemólise devida exclusivamente ao ventrículo.

REFERÊNCIAS

- BLACKSHEAR JR., P.L., DORMAN F.D., STEINBACH, J.H.,(1965),"Some mechanical effects that influence hemolysis", Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs, Vol 11, p:112-117.
- CHIEN, S., SHUNIGHI, U., TAYLOR, H.M., LUNDBERG, J.L., GREGERSEN, M.I.,(1966) "Effects of hematocrit and plasma proteins on human blood rheology at low shear rates", J. Appl. Physiol., vol 21, p:81-87.
- ENGELHARDT, H., VOGELSANG, B., REUL, H., RAU, G., (1988), "Hydrodynamical and hemodynamical evaluation of rotary bloodpumps", International Workshop on Rotary Blood Pumps, Obertauern.
- NEVARIL, C.G., LYNCH, E.C., ALFREY, C.P., HELLUMS, J.D. (1968), "Erythrocyte damage and destruction induced by shearing stress. J. Lab. Clin. Med., vol 71, p: 784-790.
- WILLIAMS, A.R., (1973), "Shear-induced fragmentation of human erythrocytes", Biorheology, vol 10, p:303-311.

"IN VITRO" EVALUATION OF THE HEMOLYSIS PRODUCED BY THE ARTIFICIAL VENTRICLE

ABSTRACT – In this paper we tried to develop a system for the "in vitro" evaluation of the hemolysis produced by the Inco Artificial Ventricle (AV) prototype. The system has two hydraulic accumulators to simulate aortic capacity and atrial capacity. A tube (PVC, 9.53 mm internal diameter) is connected between them. Its length was adjusted to provide a pressure drop of 100 mmHg. The mechanical hemolysis is caused mainly by the shearing stress acting on the erythrocytes. In laminar flow, shearing stress is very low, as against turbulent flow. Considering this, we selected a blood flow of 2 l/min., resulting a Reynolds number of 1169. In this way, we could assume that all the hemolysis is produced by the AV. The hemolysis was evaluated by measuring free hemoglobin concentration increase during the experiment. These values were normalized for a 70 Kg adult volemy, flow and hemoglobin concentration. The value obtained was 10.42 +/- 0.65 miligrams /dl/h.