

AVALIAÇÃO DE NOVO PROTÓTIPO “BABYPUMP” PARA CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA (CEC): TESTE DE RESPOSTA A HEMOSTASIA *IN VITRO*.

Vivian Marinelli Constantino¹, Dr. Aron José Pazin Andrade², Dra. Silvia Pierre Irazusta³.

¹Aluna do curso Sistemas Biomédicos da Faculdade de Tecnologia de Sorocaba.

²Instituto de Cardiologia Dante Pazzanese - Fundação Adib Jatene.

³Prof^a. do curso Sistemas Biomédicos da Faculdade de Tecnologia de Sorocaba.

Email: constantino.vmarinelli@gmail.com; aandrade@fajbio.com.br;

silvia.pierre@hotmail.com.

Resumo

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte no mundo e um dos tratamentos indicados para os casos mais graves é a cirurgia, que nesta condição, necessita de circulação extracorpórea. Estas bombas propulsoras podem ser responsáveis por traumas nas células sanguíneas, levando à hemólise. Este fato motivou este estudo, cujo objetivo é a avaliação do Índice Normalizado de Hemólise, durante um ensaio “*in vitro*” numa circulação extracorpórea e avaliar o desempenho hidrodinâmico do dispositivo. A metodologia seguiu o procedimento “Teste de Hemólise – HarboeMethod”. Neste ensaio, o dispositivo não suportou chegar até sua rotação máxima, gerando turbulência e ruído. O INH resultou em 2,23 g/100L, esse valor encontra-se acima do valor normal máximo descrito por Nosé (1998) (0,06g/100L.), o qual reprova o dispositivo para o uso, sugerindo assim o seu redelineamento, a fim de promover maior resistência ao fluxo imposto.

1. Introdução

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte em todo o mundo, onde cerca de 17,5 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares em 2012 [1]. O sangue é um tecido composto pelo plasma e por uma parte sólida, constituída de hemácias, leucócitos e as plaquetas, os quais atravessam todo o sistema circulatório, por meio da pressão exercida pelo coração e vasos sanguíneos, transportando nutrientes, eletrólitos, água, e principalmente, oxigênio dos pulmões para os tecidos e a eliminação do dióxido do carbono por meio de da respiração, urina, fezes e/ou suor [2]. Esse transporte é realizado pela ligação destes gases à hemoglobina, principal componente da hemácia, a qual também confere a coloração avermelhada do sangue [3,4]

Quando o coração não consegue mais realizar suas funções, é necessário realizar tratamento para que seja restabelecida a sua capacidade funcional, sendo a cirurgia a opção mais indicada em casos mais graves.

Nesta situação se faz necessário o emprego de uma circulação extracorpórea, uma vez que o sangue precisa ser desviado, para que os procedimentos no coração sejam realizados [4].

A circulação extracorpórea (CEC) é fornecida por uma máquina que substitui por um tempo determinado, as funções do coração, por meio de uma bomba, e dos pulmões (oxigenadores), durante uma cirurgia cardíaca. Sua idealização foi o resultado do trabalho do americano Michael DeBakey, em 1934, que introduziu a bomba de roletes como dispositivo para a realização de transfusão sanguínea, sendo a mesma, posteriormente, adaptada para a CEC[5].

A classificação dessas bombas pode ser de acordo com o bombeamento, localização no paciente, modo de acionamento e aplicabilidade [6]. Um dos tipos mais utilizados é a bomba centrífuga, que pelo seu mecanismo de ação e transmissão ao sangue, produzem o fluxo sanguíneo [7].

Baseado em estudos com o princípio de funcionamento mecânico junto com o princípio de funcionamento magnético, foi desenvolvido um novo tipo de acionamento, com foco específico no emprego pediátrico [8].

Apesar do fino controle, muitas vezes, estas bombas propulsoras são responsáveis por traumas, como a formação de bolhas dentro do dispositivo e/ou traumas nas células sanguíneas, levando à hemólise [4,6,8].

Este fato motivou este estudo, cujo objetivo é a avaliação do Índice Normalizado de Hemólise, do Dispositivo de Assistência Ventricular, durante um ensaio “*in vitro*” numa circulação extracorpórea e a avaliação do desempenho hidrodinâmico do dispositivo.

2. Materiais e Métodos

2.1. Ensaio “*In Vitro*” de desempenho Hidrodinâmico.

O circuito e os ensaios foram realizados baseados no protocolo de ANDRADE 1996, adaptado por CONSTANTINO, 2017, conforme a Figura 1. Para a montagem do circuito, foi utilizado um reservatório, tubos plásticos de 3/8” e de 1/4”, o Dispositivo de assistência ventricular (DAV) “*Babypump*”, o motor de acionamento (*Maxon Motor*, modelo *EC-45-Flat*) e fonte de alimentação (*DC Power SupplyMPL-1303M*).

O fluxo (L/min) foi medido na entrada da bomba, através de um fluxômetro (*TRANSONIC SYSTEMS INC HT110 bypass flowmeter*) e a pressão por dois transdutores de pressão invasiva e um Monitor Multiparâmetro (DX 2020, Dixtal, São Paulo, Brasil), sendo a pressão de entrada denominada Pressão 1 (P1) e a pressão de saída denominada Pressão 2 (P2). Com os transdutores de pressão foi possível medir a diferença entre as pressões de entrada e saída (ΔP), onde $\Delta P = P2 - P1$. A rotação da bomba para aquisição dos dados foi fixada em 1250, 1875, 2125, 2375 e 2500 rpm.

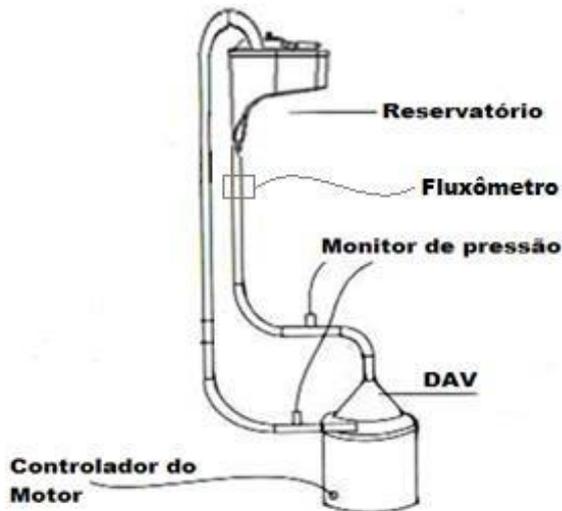


Figura 1 - Circuito para a realização dos ensaios.

2.2. Determinação do Índice Normalizado de Hemólise.

A metodologia seguiu o procedimento da FAJ “Teste de Hemólise – HarboeMethod”, com algumas adaptações com relação aos materiais. Para a limpeza do circuito, foi preparada uma solução de soro fisiológico (NaCl 0,9%, volume de 500 mL) com Pentabiótico® Veterinário (2,0 mL), para que esta seja circulada em todo o circuito por um tempo de 10 minutos, conforme a Figura 2.

Após a limpeza, inserimos a amostra (sangue de cavalo doado pelo Instituto Butantã, São Paulo-SP), numa vazão de 456 mL por minuto, numa rotação de 2375 rpm, durante 5 minutos, momento em que se retirou uma amostra inicial de 10 mL (T0), com auxílio de uma seringa. Esta amostra foi centrifugada a 4000 rpm, 10 minutos, verificando-se o valor do hematócrito. Esta etapa foi a cada 30 minutos, por 5 repetições.



Figura 2 – Limpeza do circuito.

Após a centrifugação, foram retirados os plasmas das amostras, reservando-os em microtubos de 1,5 mL (*Eppendorf*), onde posteriormente foram adicionados com uma solução de carbonato de sódio, para a leitura no espectrofotômetro (Figura 3).

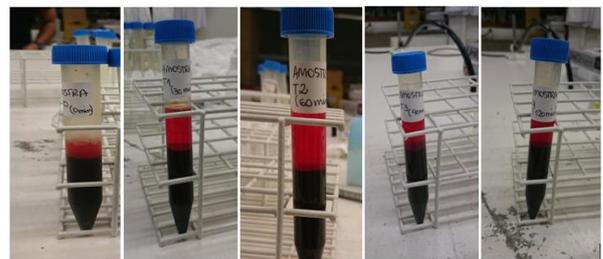


Figura 3 – Amostras de sangue coletadas.

2.3. Cálculo da hemoglobina livre no plasma das amostras

O método utilizado para a medição da hemoglobina no plasma (PFH) foi o *HarboeMethod*, onde a hemoglobina absorvida em filtro de 405 nm é identificada por absorção para metahemoglobina e as impurezas são absorvidas de forma linear nos filtros de 340 nm e 505 nm (Harboe, 1959 citado em Leme, 2010).

a) Hemoglobina livre no plasma (PFH)

Para o cálculo da hemoglobina livre no plasma foi utilizada a equação 1:

$$PFH \text{ (mg/dL)} = [2(^A405) - (^A340 + ^A505)] \times 83,6 \quad (1)$$

Onde:

83,6 = Fator de referência;

^A405 = Valor lido no filtro de 405 nm;

^A340 = Valor lido no filtro de 340 nm;

^A505 = Valor lido no filtro de 505 nm.

b) Índice Normalizado de Hemólise (INH)

Para cálculo do Índice Normalizado da Hemólise, foi utilizada a equação 2:

$$INH = \frac{\Delta PFH \times V}{Q \times \Delta t} \times \frac{(100 - Ht)}{100} \quad (2)$$

Onde:

INH = Índice Normalizado de Hemólise (g/100L);

Δ PFH = Variação da hemoglobina livre no plasma entre as amostras (mg/dL);

V = Volume total de sangue bombeado (L);

Ht = Hematócrito (%);

Q = Vazão (L/min);

Δ t = variação do tempo entre as amostras (min).

3. Resultados

O ensaio hidrodinâmico foi realizado conforme o procedimento descrito acima. Após o teste, verificamos que o protótipo apresentou bom desempenho e os resultados foram satisfatórios. As pressões foram aferidas na entrada (P1) e na saída (P2), resultando uma diferença de pressão (Δ P) e o fluxo foi aferido pelo fluxômetro. Os dados analisados podem ser observados na Tabela I.

Tabela I. Dados coletados durante o desempenho hidrodinâmico.

Tensão (V)	Rot. (rpm)	Fluxo (L/min)	P1 mmHg	P2 mmHg	Δ P (P2 - P1)
10	1250	0.660	36	60	24
15	1875	1.134	33	90	57
17	2125	1.327	31	108	77
19	2375	1.500	29	123	94
20	2500	1.600	29	131	102

A partir dos dados gerados no ensaio foi possível construir um gráfico ilustrado na Figura 3, para apresentar os dados de rotação, a pressão e vazão do protótipo analisado.

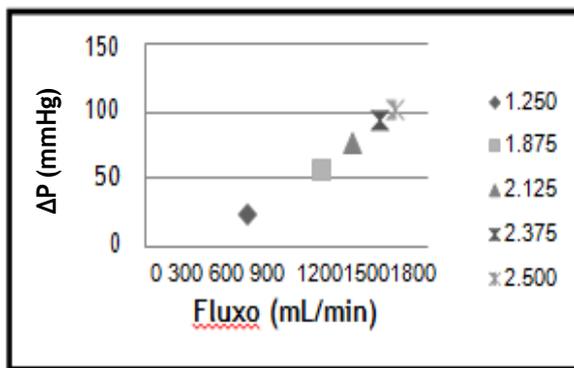


Figura 3 - Gráfico do desempenho hidrodinâmico do protótipo.

Para o ensaio de índice normalizado de hemólise, foi montado o circuito conforme a figura 4.

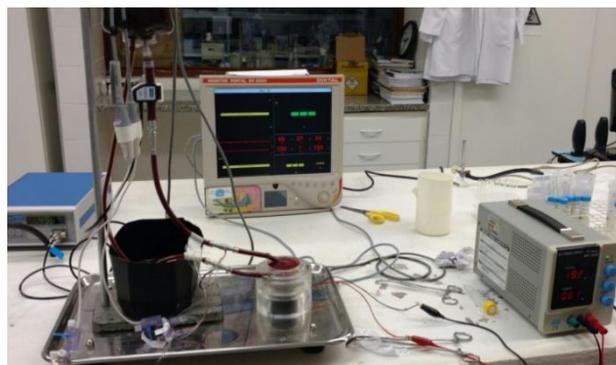


Figura 4 - Circuito de teste com o sangue equino.

Com os valores medidos no espectrofotômetro nos comprimentos de ondas de 340, 405 e 505 nm, calculou-se o PFH (mg/dl). Por fim calculou-se o INH de acordo com a norma (ASTMF1841) levando-se em conta a variação do PFH, o volume total de sangue utilizado, o hematócrito e o tempo, mostrados na Tabela II. As amostras, nos tempos 3, 4 e 5 foram descartadas dos resultados, pois o espectrofotômetro não conseguiu realizar suas leituras, devido à grande hemólise que as amostras sofreram.

Tabela II. Resultados do protótipo.

Amostra	PHF (mmHg)	INH (g/100L)	Tempo (min)
0	115,9532	0	0
1	179,5728	0,64168	30
2	253,9768	0,750523	60
	Desvio Padrão	0,076963623	
	Média	0,6961	

4. Conclusão

Como resposta ao teste de hemostasia, o DAV mostrou um bom desempenho até a rotação máxima de 2500 rpm, acima desse valor começou a apresentar pequenas alterações, como trepidação e ruído. Os resultados do índice de hemólise foram maiores dos que os encontrados na literatura de 0,06g/100L, descrito por Nosé, 1998 [9]; e deste modo, não recomenda-se esse dispositivo nesta concepção e sugere-se o redelineamento do protótipo, principalmente no encaixe dos ímãs, a fim de adequá-lo às pressões de fluxo necessárias para ser empregado como dispositivo de circulação extracorpórea. O teste se mostrou adequado para esta avaliação e pode ser empregado como ensaio para avaliação da resposta hemostática a estes dispositivos.

Agradecimentos

À instituição Faculdade de Tecnologia de Sorocaba e Instituto de Cardiologia Dante Pazzanese – Fundação Adib Jatene pelo apoio, realização dos experimentos e empréstimo de laboratório e equipamentos.

Referências

- [1] BRASIL. Organização Pan-americana da Saúde (OPAS) e Organização Mundial da Saúde (OMS). Doenças Cardiovasculares. Disponível em <http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_joomlabook&task=display&id=218&Itemid=232>. Acesso em 10 abr. 2017.
- [2] G.J. TORTORA; B. DERRICKSON. **Corpo humano: fundamentos de anatomia e fisiologia**. 8. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.(livro)
- [3] L.C.U. JUNQUEIRA; J. CARNEIRO. **Histologia Básica**. 11. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- [4] M.H.L. SOUZA; D.O. ELIAS, **Fundamentos da circulação extracorpórea**. Centro editorial Alfa Rio, 2ª Ed. Rio de Janeiro, 2006.
- [5] J. LEME. **Projeto, desenvolvimento e ensaios “in vitro” de novo modelo de bomba de sangue para circulação extracorpórea – bomba espiral**. 2010. Tese (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- [6] J. LEME. **Desenvolvimento e estudo in vitro de um dispositivo de suporte circulatório temporário**. 2015. Tese (Doutorado) – Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.
- [7] R. BRAULIO. **Resposta inflamatória mediada por citocinas em operações de revascularização do miocárdio utilizando bomba de roletes ou bomba centrífuga para circulação extracorpórea**. 2009. Tese (Mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.
- [8] D.G. COSTA; et. al. **Dispositivo de assistência ventricular por ação centrífuga para uso pediátrico**. 2016. Tese (Conclusão de Curso Engenharia Mecânica) - Centro Universitário Fundação Santo André. São Paulo, 2016.
- [9] Y. Nosé. **Design and Development Strategy for the Rotary Blood Pump**. *Artificial Organs*, v. 22, n. 6, pp. 438-446, 1998.