

José Francisco Gandolfi

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *EX VIVO* DE
OXIGENADOR DE MEMBRANA
DE BAIXA RESISTÊNCIA
PARA USO EM ECMO
SEM AUXÍLIO DE BOMBA**

São José do Rio Preto
2005

José Francisco Gandolfi

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *EX VIVO* DE
OXIGENADOR DE MEMBRANA
DE BAIXA RESISTÊNCIA
PARA USO EM ECMO
SEM AUXÍLIO DE BOMBA**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto para
obtenção do título de Doutor no Programa
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde,
Eixo Temático: Medicina Interna.

Orientador: *Prof. Dr. Domingo M. Braile*

São José do Rio Preto
2006

Gandolfi, José Francisco

Avaliação *In Vitro* e *Ex Vivo* de Oxigenador de membrana de baixa resistência para uso em ECMO de neonatos sem auxílio de bomba / José Francisco Gandolfi.

São José do Rio Preto, 2006.

103p.; 30cm

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Eixo Temático: Medicina Interna

Orientador: Prof. Dr. Domingo Marcolino Braile

1. Oxigenador de Membrana de Baixa Resistência; 2. ECMO sem auxílio circulatório; 3. Estudo experimental

Deus escolheu as cousas humildes do mundo e as desprezadas e aquelas que não são, para reduzir a nada as que são; a fim de que ninguém se vanglorie na presença de Deus.

DEDICATÓRIA

*À minha esposa **Edna**, que soube suportar em amor as minhas imperfeições e limitações, mostrando-me sempre :“Que tudo podemos Naquele que nos fortalece”.*

*Aos meus filhos, **Henrique, Alexandre, Ricardo, Augusto** extensão da minha própria vida. Aos meus netos, **Julia e Rafael** e os demais que Deus nos concederá.*

*Ao meu pai, **Francisco**, que aqui já não esta, e a minha mãe, **Palmira**, que não conseguem dimensionar quanto foram importantes na minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Domingo Marcolino Braile

Transforma fantasias em sonhos e consegue transformar sonhos em realizações. Viabilizou a realização desse projeto transferindo conhecimentos, oferecendo toda a logística da sua empresa e estimulando todos na perseguição dos resultados. Possivelmente, na fase mais difícil da sua vida, nunca perdeu de vista o amigo, compreendendo minhas limitações e enaltecendo sempre alguma virtude que está em mim.

Adalberto Camim

Amigo presente nos momentos de alegria quando convidado a participar, amigo sempre presente nas necessidades e na dor mesmo quando não convidado. Esse trabalho praticamente versou em um assunto que você domina completamente; a sua participação efetiva foi fundamental para conclusão desse projeto.

Moacir Fernandes de Godoy

Cientista nato, disponível sempre, sabedoria em remir o tempo, capacidade invejável em transformar o difícil em fácil, foi muito importante nessa jornada. Gostaria muito de um dia poder retribuir parte de todo o seu carinho e respeito.

**Emmanuel de Almeida Burdmann,
Doroteia Rossi Silva Souza e Reinaldo
Azoubel**

Coordenadores da Pós-Graduação, pela retidão, coordenação ímpar e estímulo constante para conclusão do nosso projeto.

Airton Camacho Moscardini

Obrigado pela idéia. Presente em todas etapas do projeto, transferindo conhecimento e estímulo contagiante. Amigo e companheiro muito agradável, voracidade pelo saber, responsabilidade ímpar no desempenho da medicina, persistência que foi fundamental para a conclusão do projeto.

João Carlos Ferreira Leal

Amigo que por diversas vezes adiou afazeres pessoais para estar presente em todos os experimentos animais, chefiando como cirurgião cardíaco os atos cirúrgicos experimentais e concedendo-me o privilégio de auxiliá-lo e aprender com sua habilidade e responsabilidade diante do animal.

Aos funcionários da Braile Biomédica

Fabiana Contiero: Técnica de laboratório, responsável técnica nos experimentos *in vitro*, e responsável no experimento animal pela realização das dosagens de gases, do hematócrito e organização dos dados.

Carmo Matias: Técnico em anestesia.

Sebastião Rodrigues Policarpo: Perfusionista.

Geraldo Sandoval: Engenheiro mecânico, responsável pela tabulação dos dados e pela organização da metodologia.

Jorge Furokawa: Apoio geral e auxiliar do ato cirúrgico.

Nilson Antoniassi: Apoio geral.

Gleisson Cardoso Maia: Publicidade e propaganda, responsável pela documentação científica.

Muito mais do que dias de trabalho e de sentir a missão cumprida, foi conhecê-los melhor, trabalhar em equipe, ver a importância de cada um, sentir o carinho e o respeito que me dispensaram. Confesso que foi muito bom estar com vocês e viver experiências maravilhosas em diversos aspectos da vida. Vocês foram fundamentais na realização desse projeto.

Renato Brás de Araújo

Tenacidade, capacidade mental e intelectual, você foi fundamental no cronograma de todo o trabalho. Sempre disponível e incentivador nos momentos de dificuldades, quando o insucesso parecia estar minando as forças. Muito obrigado.

Ana Paula Marques de Lima Oliveira

Analizou toda a tese com caráter de revisão total, trouxe modificações importantes, fazendo também muitas sugestões. Você foi de importância fundamental e eu agradeço a Deus por sua vida.

Midori Cristina Okubo

Dedicação, disponibilidade, capacidade irretocável na elaboração formal do texto, na elaboração das aulas de qualificação e da defesa da tese. Agradeço a sua presteza e o seu brilhantismo.

Paulo Cesar Naoum

Cientista nato, idealista que fez e faz diferença, fundamental na interpretação dos dados do quarto carneiro possuidor de anemia, trazendo todo o seu conhecimento, que é reconhecido no Brasil e no mundo da ciência.

**Mário Drummond, Marcos Maurício Ferreira e
Valdyr Parolari Novello**

Engenheiros responsáveis pela elaboração dos diversos protótipos dos oxigenadores, até chegarem ao modelo ideal para os experimentos in vivo.

Braile Biomédica

Não só por toda a logística usada *in vitro* e *ex vivo*. Não só pela fabricação do oxigenador ideal. Não só pelos funcionários que trabalharam direta ou indiretamente no projeto, mas principalmente pelo carinho, desprendimento e respeito que senti durante todo o projeto. Para mim foi um privilégio muito grande participar dessa empresa durante todo esse tempo.

FAMERP-FUNFARME

Aqui, onde $1+1=1$. Duas instituições que se completam, onde vivo há mais de 37 anos, meus sinceros agradecimentos aos seus diretos, professores e funcionários.

Biotério *FAMERP-FUNFARME*

Foi aqui que todo o projeto experimental em animais foi realizado, agradeço a todos os funcionários no nome do Pedro José de Freitas.

Aos Professores da Pós-Graduação

Pela contribuição importante na minha formação.

Aos Funcionários da Pós-Graduação

Pela capacidade organizacional, pela disposição no trabalho e pelo cuidado especial em passar informações precisas.

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Lista de Tabelas e Quadros

Lista de Abreviaturas e Símbolos

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Objetivo	10
2. MATERIAL E MÉTODO.....	11
2.1. Desenvolvimento do Oxigenador de Membrana de Baixa Resistência	13
2.2. Testes <i>In Vitro</i>	16
2.2.1. Determinação do fluxo médio de sangue.....	21
2.2.2. Teste de transferência de O ₂ e Remoção de CO ₂	23
2.2.3. Gradiente de pressão	24

2.3. Procedimento de Obtenção das Amostras de Sangue para os Testes <i>In Vitro</i>	25
2.3.1. Coleta das amostras de sangue	25
2.3.2. Processamento das amostras de sangue	25
2.4. Calibração dos Aparelhos	27
2.5. Testes <i>Ex Vivo</i>	30
3. RESULTADOS	38
3.1. Resultados dos Testes de Performance <i>In Vitro</i>	39
3.1.1. Fluxo Médio de Sangue.....	39
3.1.2. Transferência de Oxigênio e Remoção de Dióxido de Carbono	39
3.1.3. Gradiente de pressão do oxigenador	42
3.1.4. Medida do <i>priming</i>	43
3.2. Resultados dos Testes de Performance <i>Ex Vivo</i>	44
3.2.1. Experimento 1	44
3.2.1.1. Saturação de Oxigênio (SO ₂)	44
3.2.1.2. Pressão de Oxigênio (pO ₂)	46
3.2.1.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO ₂).....	48
3.2.2. Experimento 2	50
3.2.2.1. Saturação de Oxigênio (SO ₂)	51
3.2.2.2. Pressão de Oxigênio (pO ₂)	53

3.2.2.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO ₂).....	56
3.2.3. Experimento 3	59
3.2.3.1. Saturação de Oxigênio (SO ₂)	60
3.2.3.2. Pressão de Oxigênio (pO ₂)	62
3.2.3.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO ₂).....	65
3.2.4. Experimento 4	68
3.2.4.1. Saturação de Oxigênio (SO ₂)	69
3.2.4.2. Pressão de Oxigênio (pO ₂)	71
3.2.4.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO ₂).....	74
3.2.5. Experimento 5	77
3.2.5.1. Saturação de Oxigênio (SO ₂)	78
3.2.5.2. Pressão de Oxigênio (pO ₂)	80
3.2.5.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO ₂).....	83
3.3. Fluxo Ideal de Sangue através do Oxigenador	86
3.4. Comportamento do Hematócrito	87
4. DISCUSSÃO	89
5. CONCLUSÕES	96
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: A e B - Versões inicial e final dos protótipos de oxigenador de membrana de baixa resistência, respectivamente. 1 e 2: entrada e a saída de sangue, respectivamente; 3: entrada de oxigênio..... 15
- Figura 2: Membrana de fibra oca utilizada na construção do oxigenador: a) distribuição das fibras; b) secção transversal da fibra..... 16
- Figura 3: Circuitos para teste *ex vivo* (A) e *in vitro* (B) do oxigenador de membrana de baixa resistência. 1: oxigenador de baixa resistência; 2: circuito de tubos utilizados em cada uma das fases de testes mostradas em A e B..... 17
- Figura 4: Bancada de Testes e Ensaio com o circuito de testes do protótipo do oxigenador de membrana de baixa resistência. 1: reservatório de manutenção de nível; 2: bomba peristáltica BEC-2000; 3: reservatório de 1,5 L de sangue; 4: oxigenador; 5: fluxômetro; 6: unidade de medição de pressão 18

- Figura 5: Esquema do sistema de circulação do sangue utilizado para medição do fluxo médio do oxigenador de membrana de baixa resistência para uso em neonato 22
- Figura 6: Aparelho de gasometria sangüínea 29
- Figura 7: Aparelho condicionador de sinal de pressão..... 29
- Figura 8: Incisão realizada no bordo superior do músculo esternocleidomastóideo esquerdo do carneiro. Nota-se canulação da artéria carótida com cânula aramada (10 Fr) e veia jugular interna com cânula de PVC (12 Fr)..... 32
- Figura 9: Esquema do circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência utilizado nos experimentos em carneiros 33
- Figura 10: Esquema do circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência utilizado nos experimentos em carneiros, mostrando pinçamento da cânula que leva o sangue para a veia jugular e um “Y” 1/4” x 1/4” x 1/4” interposto entre esse pinçamento e o oxigenador para mensuração do fluxo de sangue pelo oxigenador 34
- Figura 11: Circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência instalado para teste experimental em carneiro..... 35
- Figura 12: Circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência em funcionamento – experimental em carneiro..... 37

Figura 13: Comportamento da saturação de oxigênio pressão parcial de dióxido de carbono nos tempos de 0 a 10 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de baixa resistência de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min	42
Figura 14: Comportamento do gradiente de pressão do oxigenador de baixa resistência com fluxo de sangue variando entre 100 e 1000 mL/min	43
Figura 15: Comportamento do gradiente de pressão do oxigenador de baixa resistência com fluxo de sangue variando entre 100 e 1000 mL/min	43
Figura 16: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1)	45
Figura 17: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1)	46
Figura 18: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1)	47
Figura 19: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1)	48
Figura 20: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1)	49

- Figura 21: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1)50
- Figura 22: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)51
- Figura 23: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)52
- Figura 24: Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)53
- Figura 25: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)54
- Figura 26: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)55
- Figura 27: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)56

- Figura 28: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)57
- Figura 29: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)58
- Figura 30: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2)59
- Figura 31: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3) 60
- Figura 32: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3)61
- Figura 33: Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3)62
- Figura 34: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3) 63

- Figura 35: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3) 64
- Figura 36: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3) 65
- Figura 37: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3) 66
- Figura 38: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3) 67
- Figura 39: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3) 68
- Figura 40: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 69
- Figura 41: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 70

- Figura 42: Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 71
- Figura 43: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 72
- Figura 44: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 73
- Figura 45: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 74
- Figura 46: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 75
- Figura 47: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 76
- Figura 48: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4) 77

- Figura 49: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 78
- Figura 50: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 79
- Figura 51: Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 80
- Figura 52: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 81
- Figura 53: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 82
- Figura 54: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 83
- Figura 55: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 84

- Figura 56: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 85
- Figura 57: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5) 86

LISTA DE TABELAS E QUADROS

- Tabela 1: Padrão para período de coletas de amostras de sangue arterial para testes *in vitro* do oxigenador de baixa resistência.....20
- Tabela 2: Comportamento evolutivo da SO_2 e da pCO_2 no sangue retirado da saída arterial do oxigenador de membrana de baixa resistência com fluxo de oxigênio de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min41
- Tabela 3: Volemias, fluxos sanguíneos médios e proporção em relação à volemia, nos cinco carneiros estudados..... 87
- Tabela 4: Comportamento seriado do hematócrito (Htc) ao longo do experimento e sua queda relativa ao valor inicial..... 88

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

cc	Centímetro cúbico
CEC	Circulação extracorpórea
EB	Excesso de base
ECG	Eletrocardiograma
ECMO	Oxigenação extracorpórea por membrana
EV	Endovenosa
et al	E outros
Fr	French
FC	Frequência cardíaca
kg	Quilogramas
L	Litros
mg/kg	Miligramas por quilograma
min	Minutos
mL	Mililitros
mL/min	Mililitros por minuto
mm	Milímetros
mmHg	Milímetros de mercúrio
mm/min	Milímetros por minuto
mmo/L	Milimol por litro
mL	Mililitros
mL/kg	Mililitros por quilograma
p	Probabilidade de significância

PAM	Pressão arterial média
PaO ₂	Pressão parcial de oxigênio arterial
PaCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono arterial
PCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono
PO ₂	Pressão parcial de oxigênio
PsO ₂	Pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador
PsCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador
PvO ₂	Pressão parcial de oxigênio venoso
PvCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono venoso
PVC	Pressão venosa central
pvc	Policloreto de vinila
s	Segundos
SO ₂	Saturação de oxigênio
SaO ₂	Saturação de oxigênio arterial
SsO ₂	Saturação de oxigênio na saída do oxigenador
SvO ₂	Saturação de oxigênio venoso
SIF	Serviço de Inspeção Federal
TCA	Tempo de coagulação ativado
µg/kg/min	Microgramas por quilograma por minuto
µm	Micrômetros
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem

RESUMO

Introdução: A assistência pulmonar extracorpórea tem sido proposta como uma alternativa invasiva ao tratamento convencional, quando a oxigenação adequada torna-se impossível pelo uso de ventilação mecânica. A oxigenação extracorpórea por membrana (ECMO) realizada com auxílio circulatório pode produzir hemólise, distúrbios da coagulação, resposta inflamatória e complicações inerentes a um procedimento de alto risco e elevado custo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia *in vitro* e *ex vivo* de um oxigenador de baixa resistência em ECMO sem auxílio circulatório.

Material e Método: Inicialmente foram desenvolvidos diferentes protótipos do oxigenador de membrana de baixa resistência para testar a influência das condições de entrada e saída do sangue, área, quantidade e disposição das fibras no processo de oxigenação e remoção de gás carbônico (CO₂). Nos testes *in vitro*, utilizando-se sangue bovino, foram avaliados fluxo médio, volume de sangue necessário para preencher o oxigenador ou *priming*, saturação de oxigênio e transferência de gás carbônico e o gradiente de pressão. Nos experimentos *ex vivo* foram utilizados cinco carneiros da raça Santa Inês, pesando entre 5 a 33 Kg. Em cada animal foram estudadas as variações com relação à saturação de O₂, PO₂ e PCO₂, no sangue sistêmico, na saída do oxigenador e no sangue venoso com fluxos de oxigênio no oxigenador 0,5 L/min, 1,0 e 1,5 L/min.

Resultados: O oxigenador demonstrou excelente desempenho mecânico, o que pode ser verificado pelos valores de PO_2 , PCO_2 e $SatO_2$ do sangue na saída do oxigenador. Do ponto de vista clínico, a melhora de PO_2 e SO_2 e a redução de PCO_2 no sangue arterial sistêmico (artéria femoral do carneiro) foram evidentes nos cinco experimentos. Foi possível observar uma tendência para melhores resultados com pesos inferiores a 10,0 kg. Traduzindo-se essas relações em termos de fluxo sanguíneo e volemia total, os melhores resultados apareceram com proporção fluxo sanguíneo no oxigenador/volemia, de 20% ou maior, podendo-se estabelecer esse limite de corte, como fluxo ideal necessário para bom desempenho do oxigenador.

Conclusão: Os testes de performance *in vitro* e desempenho *ex vivo*, realizados com o oxigenador de membrana de baixa resistência ao fluxo, para uso em circulação extracorpórea arteriovenosa, sem o auxílio de bomba propulsora, mostraram resultados suficientes para concluir que tais dispositivos são capazes de fornecer Oxigênio e retirar gás Carbônico do sangue em quantidades suficientes para manter tais parâmetros em níveis aceitáveis, quando a ventilação está prejudicada.

ABSTRACT

Introduction: Extracorporeal pulmonary assistance has been proposed as an invasive alternative to the conventional treatment when adequate oxygenation becomes impossible by mechanical ventilation. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) attained using assisted circulation may cause hemolysis, coagulation disorders, an inflammatory response and complications inherent to a high-risk high-cost procedure. The objective of this work was to evaluate the efficacy, both *in vitro* and *ex vivo*, of a low-resistance oxygenator in ECMO without assisted circulation.

Material and Method: Initially, different prototypes of the low-resistance membrane oxygenator were developed to test the influence of the of inlet and outlet conditions of the blood, the area, the quantity and placement of the fibers in the oxygenation process and the removal of carbon dioxide gas (CO₂). In the *in vitro* tests when bovine blood was utilized, the mean flow, volume of blood needed to fill the oxygenator and for priming, oxygen saturation, carbon dioxide gas exchange and the pressure gradient were measured. For the *ex vivo* experiments, five Santa Inês sheep, weighing between 5 and 33 kg, were used. In each animal, variations in respect to the oxygen saturation, the PO₂ and the PCO₂ were studied in the systemic blood at the outlet of the oxygenator and of the venous blood using oxygen flow rates of 0.5L/min, 1.0 L/min and 1.5 L/min.

1. INTRODUÇÃO

A assistência pulmonar extracorpórea tem sido proposta como uma alternativa invasiva ao tratamento convencional, quando a oxigenação adequada torna-se impossível pelo uso de ventilação mecânica, ou quando as principais funções dos pulmões, de realizar a oxigenação e remover o dióxido de carbono do sangue para a manutenção do pH sanguíneo, encontram-se deficientes. Usualmente, a ventilação extracorpórea é realizada por meio de *shunt* venovenoso ou arteriovenoso, com bomba de rolete ou centrífuga, oxigenador de membrana e permutador de calor⁽¹⁾.

A circulação extracorpórea surgiu com a impossibilidade de se fazer cirurgia cardíaca enquanto o coração está bombeando, tendo sido idealizadas várias máquinas com a intenção de substituir as funções do coração e dos pulmões enquanto o coração é operado.

O primeiro modelo da máquina coração-pulmão foi desenvolvido em 1936 por John Gibbon, que divulgou os primeiros trabalhos sobre

circulação extracorpórea em animais⁽²⁾. Era utilizada uma bomba de roletes que fazia o papel do coração; a oxigenação era realizada por uma série de telas de arame por onde fluía o sangue que recebia o fluxo de oxigênio⁽²⁾.

Na década de 50, as experiências feitas com circulação extracorpórea levaram à descoberta de fatores que provocavam complicações durante os procedimentos cirúrgicos, tais como o contato direto do sangue com o oxigênio e com as superfícies não-endoteliais. Alguns princípios que foram aplicados para possibilitar a oxigenação do sangue são: 1) borbulhar oxigênio no sangue e em seguida remover as bolhas do mesmo antes de introduzi-lo no paciente; 2) fazer o sangue escorrer ao longo de superfícies de grandes áreas de folhas de plástico (polietileno, polivinil) na presença de oxigênio; 3) formar películas de sangue sobre superfícies de discos rotatórios, e 4) passar o sangue entre delgadas membranas ou através de tubos delgados porosos ao oxigênio e ao dióxido de carbono⁽²⁾.

A oxigenação extracorpórea por membrana (ECMO) é uma técnica de suporte cardiopulmonar prolongado que tem como finalidade auxiliar o pulmão e/ou o coração em insuficiência não-responsiva aos tratamentos convencionais não-invasivos.

Os primeiros experimentos com a ECMO foram realizados em 1951 por Potts *et al.*⁽³⁾, que utilizaram suporte pulmonar em cães induzidos à insuficiência respiratória aguda. A manutenção dessa função foi feita por

um pulmão homólogo, colocado em posição arteriovenosa, interposto entre a aorta e a cava superior.

Após muitas mudanças é que Gibbon, em 1953, realizou a primeira cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea para correção de uma comunicação interatrial, utilizando um oxigenador de cilindros verticais rotatórios⁽⁴⁾.

Em 1955, Kolff *et al.*⁽⁵⁾ desenvolveram o primeiro oxigenador de membrana utilizando tubos de polietileno bobinados para serem testados em 43 cães durante procedimentos cirúrgicos cardíacos. Atribui-se a Kolff *et al.*⁽⁶⁾ a observação original de troca gasosa através de membrana sintética, com arterialização do sangue venoso que escoava em tubos de celofane no primeiro rim artificial construído.

Na época, a utilização de membranas hidrofílicas separando dois meios aquosos prejudicava as trocas gasosas, o balanço ácido-básico e as trocas de solutos e eletrólitos⁽²⁾. Isso levou ao aumento das pesquisas visando obtenção de membranas plásticas com maior potencial hidrofóbico.

Clowes & Neville⁽⁷⁾, em 1958, relataram as aplicações clínicas, com sucesso, de 100 cirurgias cardíacas de um oxigenador de membrana. Nessa fase, o contato direto entre sangue e gás estava eliminado.

A pesquisa sobre novos materiais permitiu o desenvolvimento de membranas com capacidade de realizar trocas gasosas mais rápidas, com o

objetivo de diminuir a superfície de membrana necessária para oxigenar o sangue durante cirurgia extracorpórea.

Marx *et al.*⁽⁸⁾ relataram, em 1960, que a capacidade de transferência de oxigênio de um oxigenador de membrana estava associada diretamente com a espessura laminar da camada de sangue em contato com a membrana.

Em 1972, Hill apresentou o primeiro caso bem sucedido do uso de ECMO em um adulto^(9,10).

Bartlett, em 1975, obteve sucesso empregando ECMO em um recém-nascido portador de insuficiência respiratória aguda⁽¹⁰⁾. Estudos realizados pelo mesmo autor entre 1975 e 1981 demonstraram a eficácia e segurança dessa técnica em crianças, cuja terapia convencional falhou⁽¹¹⁾. Investigando 50 crianças tratadas com ECMO, Bartlett *et al.*⁽¹²⁾ encontraram 54% de sobreviventes e, 3 anos depois, a sobrevivência tinha aumentado para 90%.

O principal fator limitante da ECMO é o significativo trauma sangüíneo que produz hemólise e distúrbios da coagulação⁽¹³⁾. A hemólise continua sendo um dos mais sérios problemas durante circulação extracorpórea, oxigenação extracorpórea por membrana e suporte cardiopulmonar percutâneo⁽¹⁴⁾. Os distúrbios da coagulação baseiam-se principalmente no aumento da quantidade dos produtos de degradação da

fibrina e na presença de coágulos no circuito, além da diminuição nos níveis de fibrinogênio⁽¹⁵⁾.

Outros aspectos limitantes incluem resposta inflamatória⁽¹⁶⁾ e complicações técnicas inerentes a um procedimento de alto risco e elevado custo⁽¹⁷⁾. A ECMO induz à ativação leucocitária e liberação de citocinas. Essa reação pode, como trauma adicional, deteriorar ainda mais a situação do paciente⁽¹⁸⁾. As complicações técnicas mais comuns compreendem: falha no oxigenador, problemas com cânulas, tubos, bomba e permutador de calor⁽¹⁾.

Uma tentativa de solução encontrada, visando diminuir os efeitos causados pela ECMO, foi revestir os circuitos de oxigenação extracorpóreo com heparina.

Após a introdução dos circuitos revestidos por heparina e melhora tecnológica dos oxigenadores de membrana, a mortalidade da assistência pulmonar extracorpórea em pacientes adultos⁽¹⁹⁾, inicialmente elevada (90%), foi reduzida para 49 a 53%^(20,21).

Para reduzir os inconvenientes do trauma sangüíneo durante a assistência extracorpórea prolongada, pode-se também utilizar o gradiente de pressão arteriovenoso para impulsionar o sangue através do sistema.

Empregando oxigenador de membrana de fibra oca de polipropileno, como suporte respiratório parcial sem bomba, em cães induzidos à

insuficiência respiratória por hipoventilação por aproximadamente 7 horas, Ohtake *et al.*⁽²²⁾ obtiveram melhores resultados gasométricos com padrões hemodinâmicos estáveis e sem geração de hemólise.

Chapman *et al.*⁽²³⁾ investigaram a resposta hemodinâmica à oxigenação extracorpórea por membrana sem bomba em 11 cães induzidos à insuficiência respiratória, pelo uso de ácido oléico por via venosa (0,01 mL/kg). Os resultados mostraram evolução dos parâmetros respiratórios, resultando em alterações significantes na resistência vascular periférica, pressão arterial sistêmica e débito cardíaco. Os autores demonstraram que a infusão de dopamina (5 µg/kg/min) foi mais eficiente do que a expansão do volume (15 mL/kg) na manutenção do débito cardíaco, da pressão arterial sangüínea e da gasometria.

No início da década de 90, alguns autores^(24,25) constataram que a oxigenação extracorpórea por membrana sem bomba foi eficiente na resolução da insuficiência respiratória aguda induzida por hipoventilação em cães por um período de 24 horas.

No Brasil, pesquisas utilizando respiração artificial com oxigenador de membrana extracorpórea em posição arteriovenosa sem bomba restringem-se ao trabalho experimental realizado por Gomes *et al.*⁽²⁶⁾. Os autores, estudando dois grupos de 6 cães cada, sendo um grupo controle e outro induzido à insuficiência respiratória com ácido oléico (0,035 mL/kg),

constataram que esse método foi capaz de manter padrões aceitáveis e compatíveis com a vida.

A primeira aplicação clínica do oxigenador de membrana extracorpóreo, em posição arteriovenosa, sem auxílio circulatório em pacientes adultos, foi realizada por Liebold *et al.*⁽¹³⁾ que, investigando 20 indivíduos portadores de insuficiência respiratória aguda e hemodinamicamente estáveis, concluíram ser esse método de fácil aplicação e manutenção, uma vez que melhorou a oxigenação e a remoção de gás carbônico em 60% (n = 12) dos pacientes.

Recentemente, Liebold *et al.*⁽²⁷⁾, aplicando o mesmo método em 70 pacientes com insuficiência pulmonar grave e função hemodinâmica estável com idades variando entre 8 e 72 anos, constataram que a oxigenação extracorpórea por membrana sem bomba foi extremamente efetiva na oxigenação e remoção do dióxido de carbono.

A perfusão arteriovenosa sem auxílio circulatório apresenta diversas vantagens como:

- simples, fácil de instalar e relativamente segura, não necessitando de cuidados intensivos e mão-de-obra muito especializada, além de ter baixo custo⁽²⁸⁾;
- redução do risco de embolia cerebral⁽²⁹⁾;

- manutenção da sobrecarga cardíaca quando o fluxo é mantido constante⁽³⁰⁾;
- preserva o fluxo para vários órgãos⁽³¹⁾;
- oxigenação do sangue pulmonar tem efeito vasodilatador sobre os esfíncteres arteriulares, revertendo espasmo pulmonar (vasoconstrição)⁽³²⁾;
- pode promover a cura do parênquima pulmonar^(29,33);
- diminuição do trauma aos componentes do sangue produzido pelo mecanismo de bombeamento⁽²⁸⁾.

Diante desse contexto, justifica-se estudar, experimentalmente, a oxigenação e remoção de gás carbônico (CO₂) artificiais com o uso de oxigenador de membrana extracorpóreo de baixa resistência, em posição arteriovenosa, sem auxílio de bomba, visando aplicação clínica em recém nascidos. Na literatura mundial inexistem trabalhos clínicos com pacientes nessa faixa etária. Considerando que os efeitos benéficos dessa técnica são evidentes, é importante ressaltar que essa técnica poderia ser aplicada em situações cujos métodos convencionais de suporte ventilatório não são suficientes para manter a vida de recém-natos estáveis hemodinamicamente e portadores de insuficiência respiratória.

1.1. Objetivos

Os objetivos deste estudo foram:

1. avaliar a performance *in vitro* quanto à capacidade de transferência de O₂ e remoção de CO₂, de um oxigenador de membrana de baixa resistência para uso em ECMO, sem auxílio de bomba;
2. avaliar o desempenho *ex vivo* do oxigenador de membrana de baixa resistência, sem o auxílio de bomba, em ovinos em hipóxia.

2. MATERIAL E MÉTODO

Neste capítulo são descritos os procedimentos de desenvolvimento de um oxigenador de membrana de baixa resistência para oxigenação e remoção de dióxido de carbono em neonatos. O oxigenador é constituído por membrana capilar de polipropileno, com baixo volume de enchimento e baixa resistência à passagem do sangue. Sua performance foi determinada pelos testes *in vitro* e, posteriormente, pelos testes *ex vivo*.

2.1. Desenvolvimento do Oxigenador de Membrana de Baixa

Resistência

O desenvolvimento de um novo oxigenador foi motivado pela necessidade de se estudar a aplicação de oxigenadores de baixa resistência em recém-nascidos com deficiência respiratória. A técnica de suporte respiratório, até então aplicada somente em adultos, foi projetada para utilizar o próprio sistema circulatório do neonato de modo a proporcionar melhores condições fisiológicas. Para o presente projeto foi necessário desenvolver um sistema eficaz para oxigenar e remover CO₂ no processo respiratório.

Para o desenvolvimento e caracterização do oxigenador foi necessário dividir o projeto em duas fases estabelecidas pela Norma ISO: testes *in vitro* e testes *ex vivo* (ou pré-clínico).

Inicialmente foram desenvolvidos diferentes protótipos do oxigenador de membrana de baixa resistência para testar a influência das condições de entrada e saída do sangue, área efetiva de troca gasosa e quantidade e disposição das fibras no processo de oxigenação e remoção de CO₂.

O oxigenador de baixa resistência foi projetado para:

1. operar com fluxo máximo de 800 mL/min com área útil de 0,50 m²;

2. operar com baixo volume de *priming*;
3. oxigenar sangue venoso com 65% de saturação, propiciando aumento na saturação para 95 a 100%;
4. remover dióxido de carbono (CO₂) de forma a prevenir acidose respiratória;
5. causar mínimo trauma aos componentes do sangue;
6. evitar formação de microêmbolos;
7. facilitar o manuseio e montagem.

A Figura 1 mostra o primeiro protótipo (A) e a versão final (B) do oxigenador de baixa resistência. Na versão final do protótipo do oxigenador, os conectores de entrada (1) e saída (2) de sangue foram posicionados de forma a aumentar o tempo de contato entre o sangue e a fibra e a entrada de oxigênio (O₂) foi posicionada em direção oposta à entrada de sangue, ou seja, no “contra-fluxo” de sangue, visando maximizar a oxigenação e a remoção de dióxido de carbono.

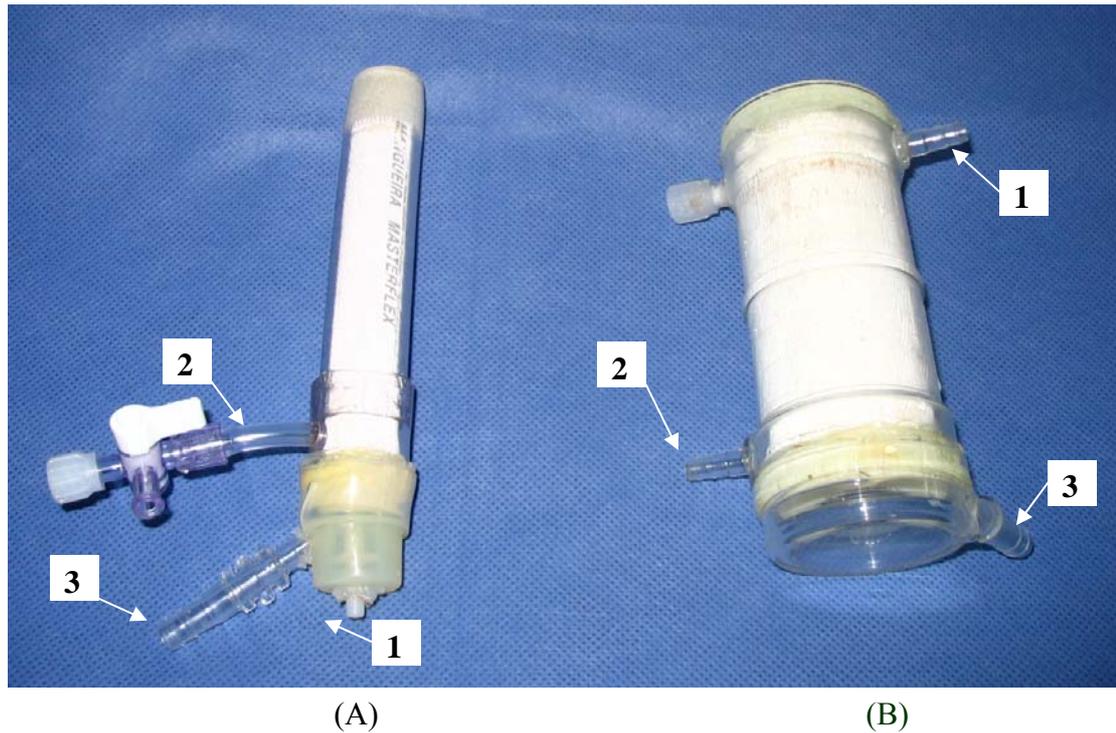


Figura 1: A e B - Versões inicial e final dos protótipos de oxigenador de membrana de baixa resistência, respectivamente. 1 e 2: entrada e saída de sangue, respectivamente; 3: entrada de oxigênio.

O material utilizado para a construção dos protótipos de oxigenador foi o polimetilmetacrilato (acrílico), um polímero plástico biocompatível, de baixo peso e custo relativamente baixo.

A membrana de fibra oca microporosa e hidrofóbica, utilizada para a troca gasosa do sangue que passa pelo oxigenador, foi a Oxyphan[®] PP50/200 (Membrana GmbH, *Germany*), constituída de polipropileno, na qual o sangue escoo pela parte externa à fibra, e o gás, pelo interior da fibra. Os diâmetros interno e externo da fibra são, respectivamente, 200 e 300 μm . As fibras foram dispostas em dupla camada de tal forma que cada

fibra formou um ângulo de 20° em relação à fibra da camada inferior e paralelamente aos copos interno e externo do oxigenador (Figura 2).

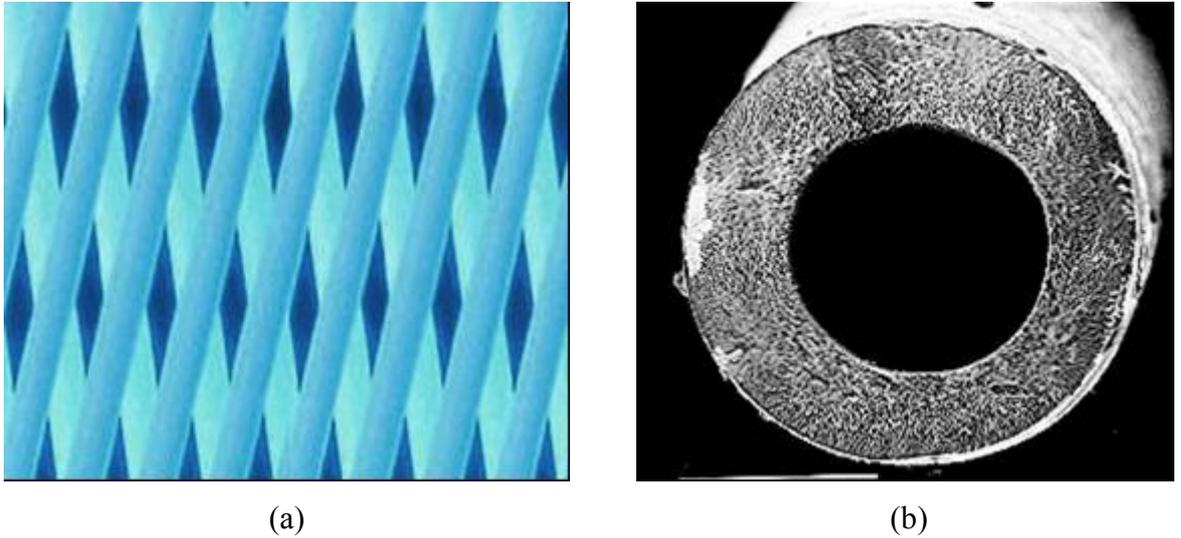


Figura 2: Membrana de fibra oca utilizada na construção do oxigenador:
a) distribuição das fibras; b) secção transversal da fibra.

2.2. Testes *In Vitro*

Os testes *in vitro* foram realizados para determinar as características de performance do oxigenador de membrana de baixa resistência. Nesta primeira etapa foram avaliados o fluxo médio de sangue, o volume de sangue necessário para preencher o oxigenador ou *priming*, a transferência de oxigênio, a remoção de gás carbônico e o gradiente de pressão.

Para se conseguir um *priming* proporcional à necessidade de um recém-nascido, ou seja, um mínimo volume de sangue, utilizaram-se tubos e conectores de 1/4" (Figura 3).

Inicialmente, o oxigenador de membrana de baixa resistência foi montado em um suporte da Bancada de Testes do Laboratório de Testes e Ensaaios da Braile Biomédica (Figura 4).

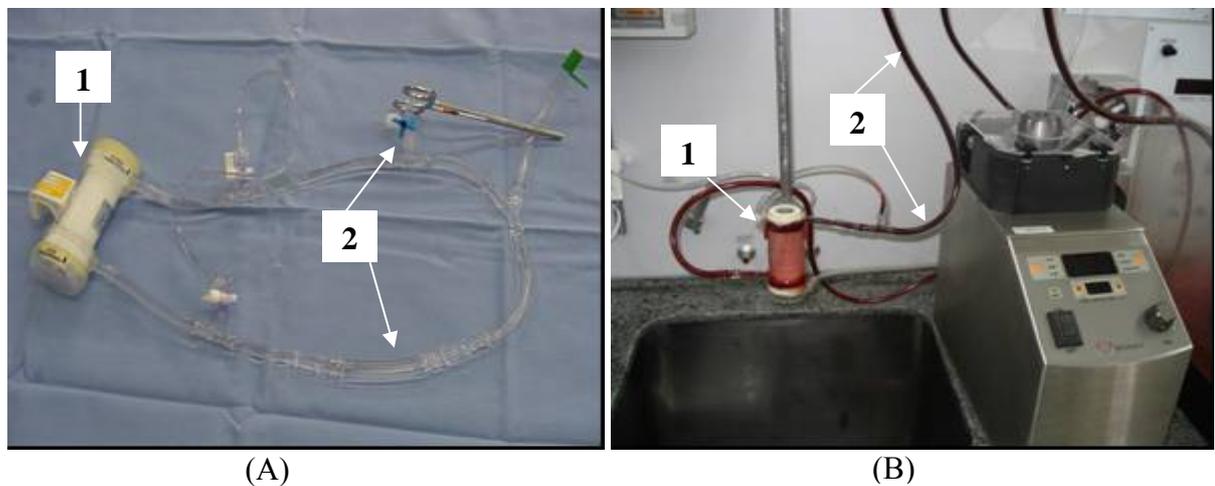


Figura 3: Circuitos para testes *ex vivo* (A) e *in vitro* (B) do oxigenador de membrana de baixa resistência. 1: oxigenador de baixa resistência; 2: circuito de tubos utilizados em cada uma das fases de testes mostradas em A e B.



Figura 4: Bancada de Testes e Ensaio com o circuito de testes do protótipo do oxigenador de membrana de baixa resistência. 1: reservatório de manutenção de nível; 2: bomba peristáltica BEC-2000; 3: reservatório de 1,5 L de sangue; 4: oxigenador; 5: rotâmetro; 6: unidade de medição de pressão.

Para o teste *in vitro* (Figura 4), a amostra de sangue foi colocada em um reservatório de manutenção de nível do sangue (1), conectado à bomba peristáltica (2), esta, por sua vez, é conectada a um reservatório venoso (3) ligado à entrada de sangue do oxigenador (4). O rotâmetro de oxigênio (5)

foi conectado à entrada de gás do oxigenador. O sangue, depois de oxigenado, é desprezado para não ser misturado ao sangue estabilizado em condições basais. A bomba foi ligada com fluxo de 1 L/min, durante 5 minutos, para estabilizar o fluxo de sangue pelo oxigenador. A queda de pressão foi medida como o gradiente entre a entrada e a saída do oxigenador e registrada na unidade de medição (6).

O escoamento foi analisado a partir da entrada do sangue no oxigenador a um fluxo de 100 mL/min, pois, desta maneira, foi possível ver a distribuição do sangue no produto.

O protótipo foi conectado ao equipo (conjunto de tubos e conectores), à bomba peristáltica BEC-2000, ao rotâmetro de O₂ e aos reservatórios de sangue. Em seguida, foram feitas as conexões do ponto de tomada de pressão ao manômetro e da coleta de amostras na entrada de sangue venoso e na saída arterial do oxigenador em teste, respectivamente. Estes pontos servem para medição e verificação dos parâmetros sangüíneos. Com o circuito montado, foi ligada a bomba peristáltica com fluxo de 100 mL/min para visualizar a distribuição do escoamento do sangue no protótipo. Em seguida, o fluxo foi aumentado para 250 mL/min e, simultaneamente, o rotâmetro de O₂ foi aberto. A coleta de duas amostras de sangue arterial foi feita por meio do conector em “T” colocado

na saída de sangue arterial do oxigenador. Os dados de pressão foram registrados à medida que as amostras de sangue arterial foram coletadas.

O tempo de coleta das amostras de sangue do circuito para análise da transferência de gás do oxigenador, para as diferentes faixas de 250 a 1500 mL/min, é mostrado na Tabela 1. O tempo de “lavagem” do circuito é o tempo no qual o oxigenador é “lavado” com sangue venoso para reiniciar o teste em fluxo de 500 mL/min, e assim sucessivamente. O estabelecimento dos tempos de coleta seguiu os padrões para testes de oxigenadores neonatos da Braile Biomédica, estabelecidos pelo Laboratório de Testes e Ensaaios.

Tabela 1: Padrão para período de coletas de amostras de sangue arterial para testes *in vitro* do oxigenador de baixa resistência.

Fluxo de sangue (L/min)	Tempo (min)		
	1 ^a amostra	2 ^a amostra	Lavagem do circuito
0,250	4:00	5:00	4:00
0,500	3:00	3:45	3:00
0,750	2:00	2:30	2:30
1,000	1:30	1:50	2:00
1,250	1:00	1:15	2:00
1,500	0:40	1:00	2:00

2.2.1. Determinação do Fluxo Médio de Sangue

O fluxo médio de sangue é o volume por minuto capaz de passar pelo oxigenador quando há uma pressão fisiológica de entrada oferecida por um neonato que é de, aproximadamente, 80 mmHg. Para simular essa condição fisiológica foi montado um circuito de teste com um reservatório com 1,5 L de sangue, posicionado a uma altura de 1,20 m do dispositivo de teste (Figura 5). Antes de preencher o reservatório com sangue, o tubo de comunicação com o dispositivo de teste é pinçado. Com o auxílio de um cronômetro, a pinça é liberada e o volume de sangue do reservatório que escoar pelo oxigenador é medido em uma proveta. Desse modo, pode-se determinar um fluxo médio sem o uso de uma bomba propulsora.

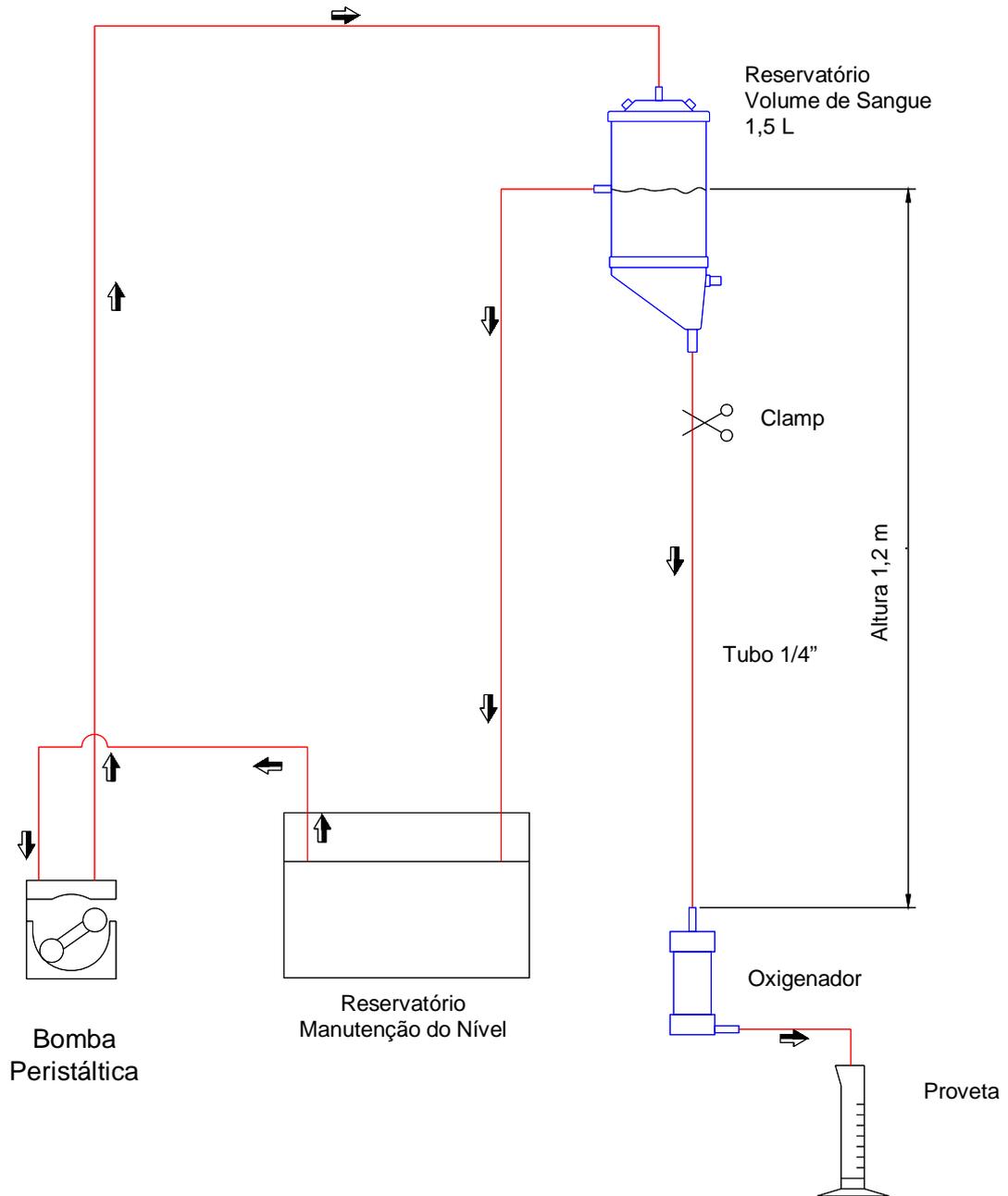


Figura 5: Esquema do sistema de circulação do sangue utilizado para medição do fluxo médio do oxigenador de membrana de baixa resistência para uso em neonato.

2.2.2. Teste de Transferência de O₂ e Remoção de CO₂

Estabelecido o fluxo médio de sangue quando o oxigenador de membrana de baixa resistência foi submetido a uma pressão fisiológica de 80 mmHg, foi feita a mensuração da taxa de transferência de O₂ e de remoção de CO₂. Esse teste de performance foi realizado após a estabilização do sangue, descrito no item 2.3. O circuito de teste, mostrado na Figura 4, foi preenchido com sangue para, em seguida, iniciar o teste com fluxo de 250 a 1500 mL/min, com incrementos de 250 mL/min. Simultaneamente, o fluxo de O₂ foi infundido na câmara de gás do oxigenador, sempre estabelecendo uma relação gás/sangue de 0,5:1, 1:1 e 2:1. A coleta de sangue para medição dos gases foi feita conforme mostrado.

A transferência de O₂ e de remoção de CO₂ foi calculada pelas equações 3.1 e 3.2, a partir dos dados obtidos das amostras de sangue coletadas durante cada teste.

$$\text{TransfO}_2 \equiv \{[(\text{SaO}_2 - \text{SvO}_2) * \text{Hb} * 1,34] + [(\text{PaO}_2 - \text{PvO}_2) * 0,00314]\} * \text{Q}_b * 10 \quad (3.1)$$

TransfO₂ ≡ transferência de oxigênio (mL/min)

SaO₂ ≡ Saturação de oxigênio em sangue arterial (na forma decimal)

SvO₂ ≡ Saturação de oxigênio em sangue venoso (na forma decimal)

Hb ≡ Hemoglobina (mL/dL)

1,34 ≡ Fator de correção (mL de O₂/gHb)

PaO₂ ≡ Pressão parcial de oxigênio em sangue arterial (mmHg)

P_{vO_2} \equiv Pressão parcial de oxigênio em sangue venoso (mmHg)
 0,00314 \equiv Fator de correção (mL de O_2 /dL/mmHg)
 Q_b \equiv Fluxo de sangue no oxigenador (L/min)

E a remoção de CO_2 é calculada pela fórmula:

$$\text{TransfCO}_2 \equiv \text{VCO}_2 \text{ entrada} - \text{VCO}_2 \text{ saída} \quad (3.2)$$

TransfCO_2 \equiv remoção de gás carbônico (mL/min)
 VCO_2 \equiv conteúdo de gás carbônico presente no sangue medido na entrada e na saída do oxigenador (mL de CO_2 /100 mL de sangue)

2.2.3. Gradiente de Pressão

O teste para medida do gradiente de pressão foi realizado utilizando o mesmo circuito montado para o teste de transferência de gás (Figura 4) e o gradiente de pressão (ΔP) foi calculado pela equação 3.3. Os dados foram coletados na entrada e na saída de sangue do protótipo, a cada 5 minutos, para a faixa de fluxo de 250 a 1500 mL/min.

$$\Delta P = P_e - P_s \quad (3.3)$$

P_e \equiv pressão na entrada do oxigenador
 P_s \equiv pressão na saída do oxigenador

2.3. Procedimento de Obtenção das Amostras de Sangue para os Testes *In Vitro*

2.3.1. Coleta das Amostras de Sangue

Para a realização dos testes *in vitro* foi utilizado sangue bovino, obtido em frigorífico inspecionado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) e de acordo com as Normas ISO 10993-4⁽³⁴⁾, pois variações na técnica de coleta podem provocar hemólise e, conseqüentemente, ativar a agregação das plaquetas. Isso pode ocorrer desde a coleta do sangue até o seu processamento.

2.3.2. Processamento das Amostras de Sangue

Após a coleta do sangue, a amostra foi levada para o Laboratório de Testes e Ensaios da Braile Biomédica e processada para o teste do oxigenador. O sangue foi filtrado em dispositivo com malha de 105 µm para retenção de partículas e restos celulares provenientes do processo de abatimento dos animais no frigorífico.

Posteriormente, uma amostra de 5 mL do sangue coletado foi utilizada para verificar a taxa de hematócrito do sangue a ser utilizada no teste do oxigenador. Para isso, foram utilizados tubos capilares e uma centrífuga de microhematócrito Eureka I (BioEng, SP). Quando necessário, o ajuste do hematócrito para 36% foi realizado diluindo-se solução fisiológica a 0,9% em uma concentração de 500 mL de solução fisiológica para cada 3 L de sangue.

As dosagens da saturação, da pressão parcial dos gases e do pH do sangue foram realizadas submetendo 1 mL de sangue a um aparelho analisador de gases sangüíneos Compact AVL-3 (AVL Medical Instruments, USA). A dosagem do pH, representada no relatório da gasometria pelo *base excess* (BE), quando diferente da faixa estabelecida pela Norma AAMI 7199:1996 – *Blood Gas Exchange*, uma solução de bicarbonato de sódio a 10% foi adicionada na amostra de sangue para neutralizar o pH. O volume de solução a ser adicionado foi calculado pela fórmula:

$$VBicarbonato = \frac{1,5 * BE * Vsangue}{1200}$$

VBicarbonato ≡ Volume de bicarbonato (mL)

BE ≡ *base excess* ≡ excesso de base

Vsangue ≡ Volume de sangue (mL)

Com esses parâmetros sanguíneos controlados, foi iniciado o processo de estabilização da amostra de sangue, no intuito de simular as condições fisiológicas. A padronização das condições fisiológicas do sangue seguiu a Norma AAMI 7199 que rege:

- Saturação de oxigênio no sangue venoso = $65 \pm 5\%$
- Temperatura do sangue = $36 \pm 1^\circ\text{C}$
- Hematócrito = $36 \pm 2\%$
- Pressão parcial de gás carbônico = $45 \pm 5 \text{ mmHg}$
- Excesso de base (BE) = $0 \pm 5 \text{ mmol/L}$

2.4. Calibração dos Aparelhos

Antes da realização dos testes *in vitro* e *ex vivo*, o aparelho de gasometria foi calibrado com as soluções padrão de dosagens de gases e pH, com o objetivo de aferir as mudanças dos parâmetros sanguíneos no decorrer dos testes e das cirurgias em animais.

A calibração da bomba peristáltica BEC-2000 (Braille Biomédica, Brasil) foi realizada pelo método estático a cada teste de um novo protótipo. O método de calibração foi feito da seguinte maneira: 1) um conjunto de tubos de 1/4" foi instalado na bomba peristáltica e o tubo de

saída da bomba colocado na posição vertical a 1 m de altura; 2) o circuito foi preenchido com água e os roletes liberados lentamente, girando-se o regulador no sentido horário, para medir a velocidade de queda da água no tubo. Em seguida, cada rolete foi ajustado, girando-o no sentido anti-horário, para diminuir a velocidade de queda até atingir o valor de 25,4 mm/min.

Os demais aparelhos como cronômetros, rotâmetros e sensores estavam dentro dos padrões de calibração estabelecidas pela Norma ISO pela qual a empresa foi certificada.

Para a realização dos ensaios de oxigenação sanguínea foram utilizados alguns equipamentos necessários para obtenção dos dados da transferência gasosa e do gradiente de pressão, tais como bomba peristáltica, aparelho de gasometria (Figura 6) e de medição do tempo de coagulação ativada (TCA), termômetros de coluna de mercúrio e sensores de temperatura e pressão, juntamente com os módulos condicionadores de sinais (Figura 7). Além desses aparelhos e instrumentos de medição, foram utilizados pinças, cronômetro, tubos de PVC, conectores 1/4" e reservatório de sangue venoso.



Figura 6: Aparelho de gasometria sangüínea.



Figura 7: Aparelho condicionador de sinal de pressão.

2.5. Testes *Ex Vivo*

Os experimentos *ex vivo* foram realizados no Biotério da Faculdade de Medicina e Enfermagem de São José do Rio Preto (FAMERP). Os animais receberam cuidados de acordo com as recomendações do *Committee of the Institute of Laboratory Animal Resources (ILAR) do National Research Council, Estados Unidos*⁽³⁵⁾.

Foram utilizados cinco carneiros da raça Santa Inês, pesando entre 5 a 33 Kg, provenientes do Biotério da FAMERP-São José do Rio Preto.

Os testes *ex vivo* do oxigenador foram realizados por meio do *shunt* arteriovenoso com a veia jugular interna e a artéria carótida esquerda, consideradas as mais adequadas para montagem do circuito de ECMO.

A veia jugular interna direita foi puncionada com *intracat* 14-18 para uso de medicação. Foram utilizados como pré-anestésicos Midazolam, por via venosa na dosagem de 0,4 mg/Kg (União Química Farmacêutica Nacional, Pouso Alegre, MG) e atropina 0,5 mg por via venosa (Ariston Ltda., São Paulo, SP). Em seguida, o carneiro foi transportado para sala cirúrgica, colocado na mesa, em posição supina, para indução anestésica com Tiopental sódico (Thionembutal, Abbot, São Paulo, SP) na dose de 0,2 mg/Kg e propofol (Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Itapira, SP) na dose de 10mg/Kg, ambos endovenosos. Após isso o animal

foi entubado com cânula endotraqueal (Rüsch, Alemanha) de calibre variando de 8 a 9 mm. Instalou-se respirador mecânico Samurai III modelo 674 (Takaoka, São Paulo, SP), sendo utilizado o agente anestésico inalatório Halotano (Cristália). Em seguida, as quatro patas foram fixadas à mesa cirúrgica por tirantes. Efetuou-se tricotomia na região cervical esquerda, torácica e inguinal direita. Os eletrodos para ecocardiograma e função cardíaca foram colocados na região torácica, enquanto o oxímetro teve o seu eletrodo colocado na língua ou na orelha do animal, sendo monitorados pelo equipamento modelo DX2010 (Dixtal Biomédica, São Paulo, SP).

A artéria femoral direita foi dissecada e puncionada com Angiocath 14-18 Fr (Becton, Dicknson Ind Cirúrgica Ltda, Juiz de Fora, MG) para medida da pressão arterial média por meio de monitor de pressão modelo BPM 2000 (Braile Biomédica S/A, São José do Rio Preto, SP). A artéria femoral direita foi utilizada também para coleta de amostras de sangue para dosagem gasométrica (sistêmica) e de hematócrito.

Foi feita incisão oblíqua no bordo superior do músculo esternocleidomastóideo esquerdo, identificando-se a veia jugular interna e a artéria carótida, que foram dissecadas e cateterizadas (Figura 8) (a artéria carótida com cânula aramada de 8 a 12 Fr e a veia jugular com cânula de PVC de 10 a 16 Fr, ambas da Braile Biomédica), nas quais foi instalado o

circuito do oxigenador de membrana, que permaneceu clampeado (Figura 9).

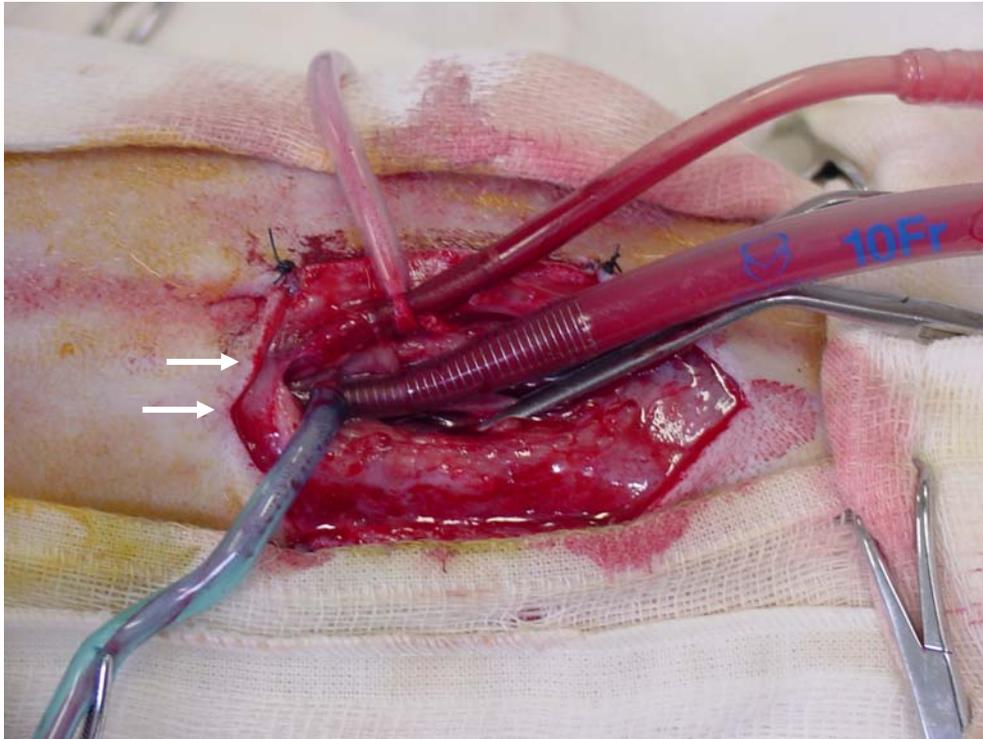


Figura 8: Incisão realizada no bordo superior do músculo esternocleidomastóideo esquerdo do carneiro. Nota-se canulação da artéria carótida com cânula aramada (10 Fr) e veia jugular interna com cânula de PVC (12 Fr).

O tempo de coagulação ativado (TCA) foi medido por o equipamento modelo MCA 2000 (Divisão de Bioengenharia da Fundação Adib Jatene, São Paulo, SP) e, em seguida, o animal foi heparinizado com dosagem de 3 mg de heparina por kg (Liquemine, Roche, São Paulo, SP).

Sensores foram colocados na entrada e na saída do oxigenador para a medição das pressões de entrada e de saída (em mmHg), a pressão e a temperatura esofágica foram medidas no mesmo equipamento, possibilitando o estudo do gradiente de pressão do dispositivo modelo 62009 (Braile Biomédica).

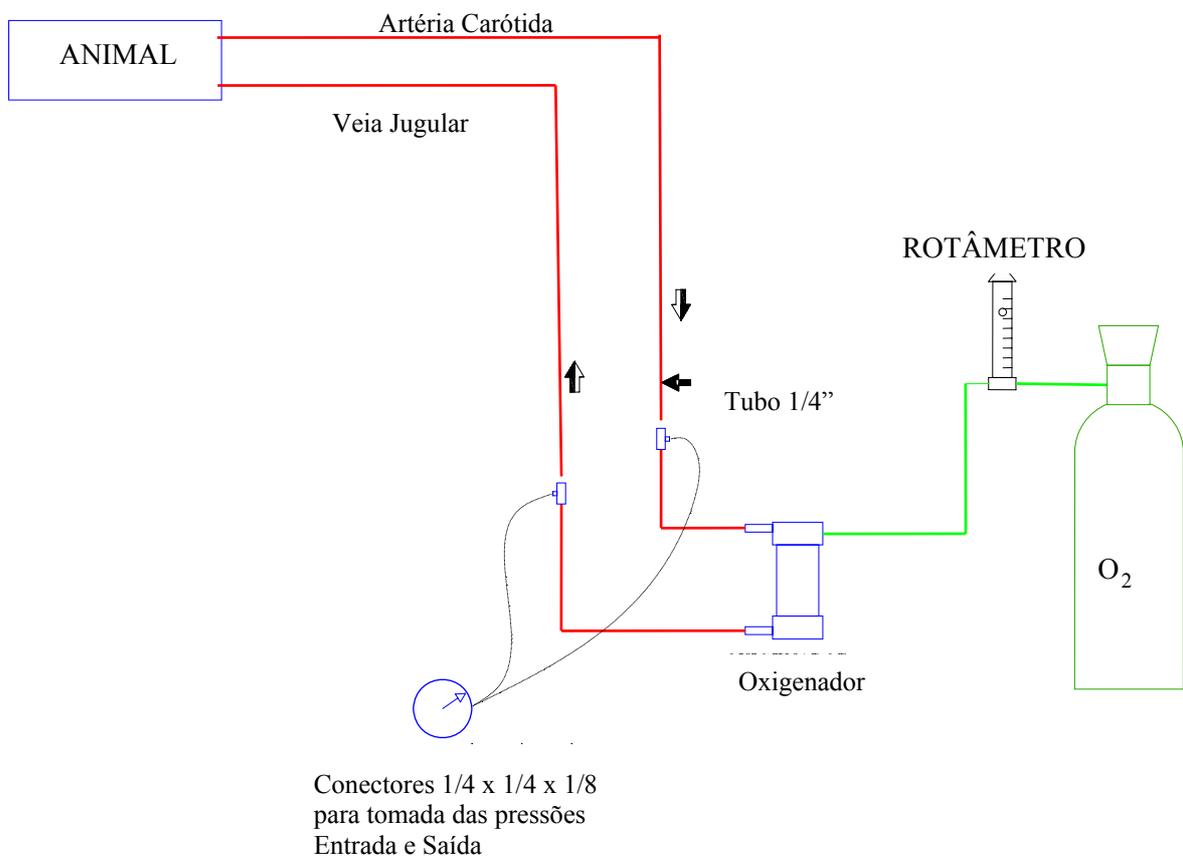


Figura 9: Esquema do circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência utilizado nos experimentos em carneiros.

A medida do fluxo de sangue pelo oxigenador foi feita por meio do pinçamento da cânula que leva o sangue para a veia jugular, tendo sido interposto entre esse pinçamento e o oxigenador um “Y” 1/4” x 1/4” x 1/4”,

por onde o sangue foi coletado em uma cuba durante 5 s (Figura 10). A quantidade de sangue na cuba foi medida em uma seringa de 20 mL e em seguida, o sangue foi devolvido ao circuito.

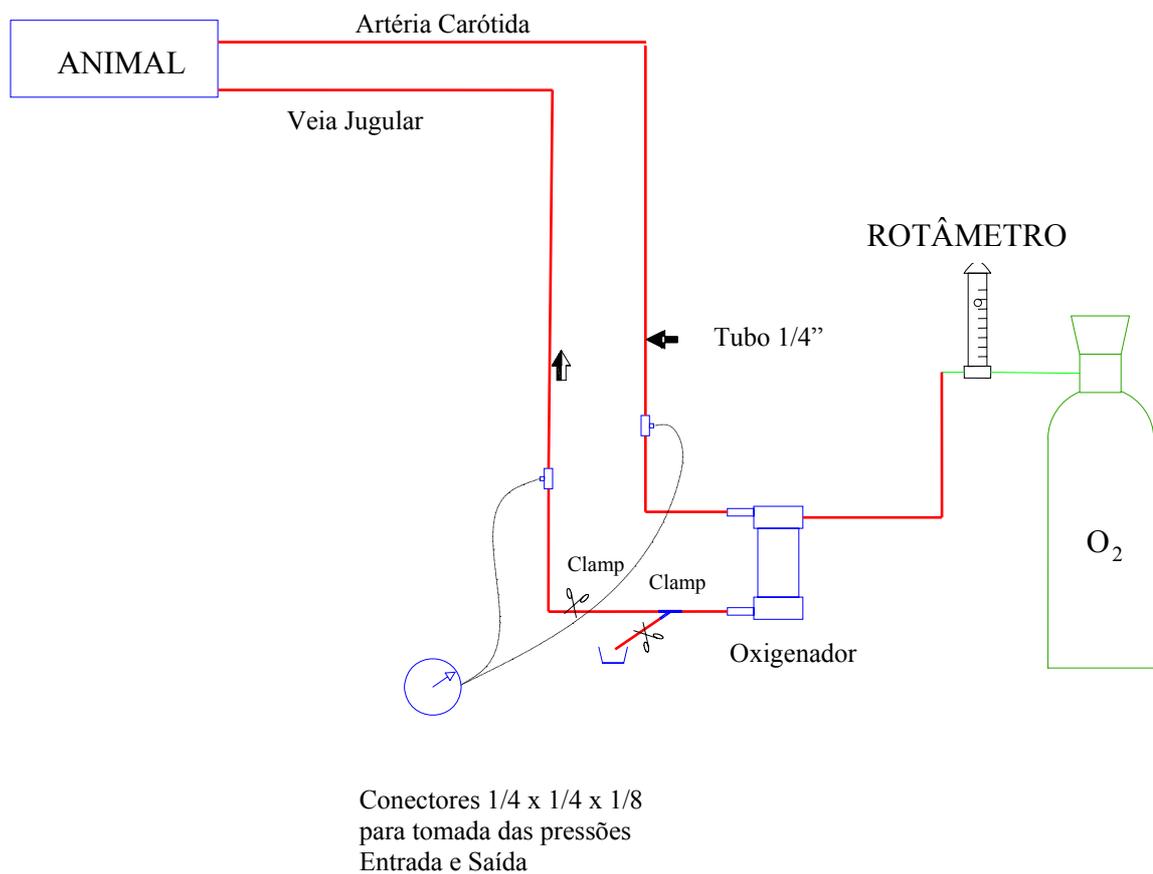


Figura 10: Esquema do circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência utilizado nos experimentos em carneiros, mostrando pinçamento da cânula que leva o sangue para a veia jugular e um “Y” 1/4” x 1/4” x 1/4” interposto entre esse pinçamento e o oxigenador para mensuração do fluxo de sangue pelo oxigenador.

A dosagem dos gases foi realizada com equipamento para análise de gases modelo Compact (AVL Medical Instruments, Graz, Áustria).

A taxa de hematócrito foi determinada em centrífuga de microhematócrito Eureka I (Bio Eng Ind. Com. Ltda).

Com o circuito do oxigenador ainda clampeado (Figura 11), foram mensurados todos os parâmetros hemodinâmicos, hematimétricos e gasométricos. Em seguida, o animal foi submetido à hipóxia e hipercapnia por meio da retirada do oxigênio do respirador mecânico utilizando-se ar atmosférico e redução da frequência respiratória.



Figura 11: Circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência instalado para teste experimental em carneiro. Note clampeamento das cânulas da artéria carótida e da veia jugular interna.

A cada 5 minutos foram dosados gases visando atingir valores de pO_2 venoso próximos a 60 ± 5 mmHg e de pCO_2 próximos a 45 ± 5 mmHg, que foram obtidos por meio da diminuição da frequência respiratória.

Uma vez obtidas as condições de hipóxia e hipercapnia necessárias, o circuito do oxigenador foi desclampeado iniciando-se a circulação extracorpórea (Figura 12). Foi administrado no oxigenador 0,5 L de oxigênio por minuto. A partir desse momento, foram retiradas amostras de 1 mL de sangue da artéria femoral (amostra sistêmica), da saída do oxigenador (amostra saída) e da veia jugular interna direita (amostra venosa), sendo dosados gases aos 15, 30 e 45 minutos. Concomitantemente, foram coletados dados da pressão arterial sistólica, diastólica e média, gradiente de pressão do oxigenador e fluxo de sangue por minuto que passava pelo oxigenador.



Figura 12: Circuito do oxigenador de membrana de baixa resistência em funcionamento – experimental em carneiro.

Aos 45 minutos também foram determinados a taxa de hematócrito da amostra sistêmica e o TCA da amostra venosa.

Após os primeiros 45 minutos, mudou-se a infusão de oxigênio no oxigenador passando de 0,5 para 1 L/min e todos os procedimentos anteriores foram repetidos para esse novo fluxo de oxigênio. Por ultimo, a infusão de oxigênio no oxigenador foi aumentada para 1,5 L/min, e repetiu-se os procedimentos anteriores.

3. RESULTADOS

3.1. Resultados dos Testes de Performance *In Vitro*

3.1.1. Fluxo Médio de Sangue

O fluxo médio de sangue obtido para o oxigenador de membrana de baixa resistência para pressões fisiológicas de entrada (80mmHg) foi 240 mL/min.

3.1.2. Transferência de Oxigênio e Remoção de Dióxido de Carbono

Os resultados *in vitro* da saturação de oxigênio (SO_2) e da pressão parcial de gás carbônico (pCO_2) do sangue, medidos logo na saída de sangue arterial do oxigenador (equivalente em termos mecânicos à função

do dispositivo testado), com fluxo de oxigênio de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min, mostraram excelente resposta, uma vez que, nos primeiros três minutos de teste, a SO_2 elevou-se de 65% para, aproximadamente, 99,5%. Os resultados da análise dos gases sanguíneos das amostras retiradas da saída de sangue arterial evidenciaram que, com o fluxo de oxigênio de 0,5 L/min, esse resultado de saturação já foi obtido.

Em termos de pCO_2 , os níveis inicialmente elevados de 45 ± 5 mmHg (condição inicial) mantiveram-se elevados com o fluxo de 0,5 L/min, mas houve redução importante a partir do segundo minuto de utilização do dispositivo com fluxo de 1,0 L de oxigênio por minuto e redução importante a partir do primeiro minuto, com fluxo de 1,5 L de oxigênio por minuto. Essa redução da pCO_2 foi progressiva ao longo do experimento chegando a valores de pCO_2 bastante baixos aos 15 min de utilização do oxigenador (Tabela 2, Figura 13).

Tabela 2: Comportamento evolutivo da SO_2 e da pCO_2 no sangue retirado da saída arterial do oxigenador de membrana de baixa resistência com fluxo de oxigênio de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min.

Tempo (min)	Fluxo de O_2 (L/min)					
	0,5		1,0		1,5	
	SO_2	pCO_2	SO_2	pCO_2	SO_2	pCO_2
1	94,3	51,1	94,3	38,2	94,7	27,9
2	95,9	50,9	95,9	31,0	98,5	22,9
3	99,5	51,4	99,5	24,8	99,6	20,5
4	99,9	49,0	99,8	23,4	99,9	18,5
5	99,9	48,4	99,9	22,5	99,9	17,8
6	99,9	44,9	99,9	19,8	99,9	15,9
7	99,9	41,9	99,9	18,7	100	13,0
8	99,9	42,9	99,9	17,6	100	12,0
9	99,9	43,4	99,9	14,8	100	9,8
...
15	99,9	36,3	100	10,8	100	6,4

SO_2 : Saturação de oxigênio; pCO_2 : pressão parcial de gás carbônico; O_2 : oxigênio.

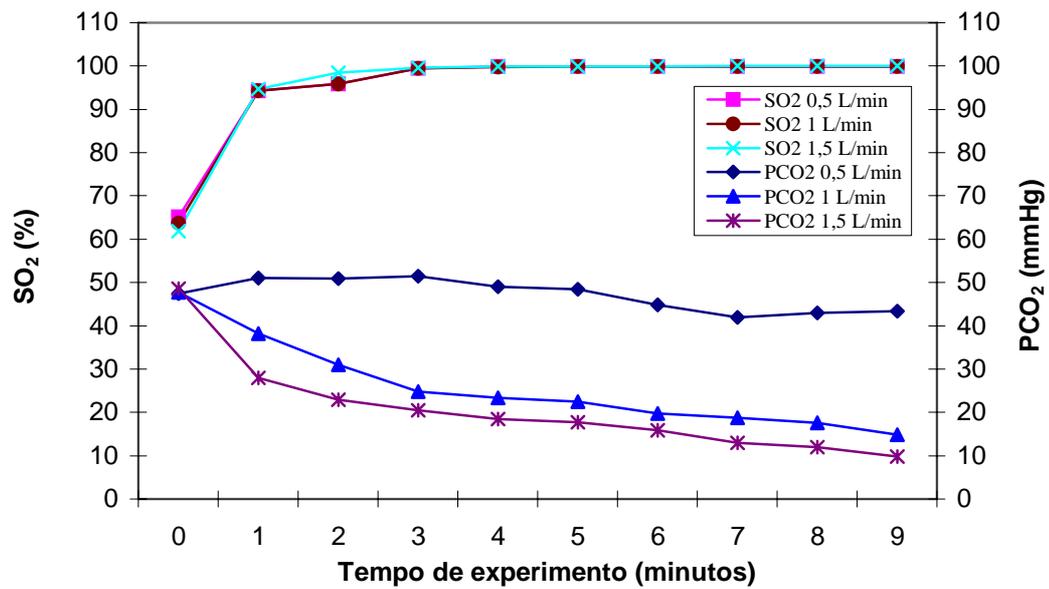


Figura 13: Comportamento da saturação de oxigênio e pressão parcial de dióxido de carbono nos tempos de 0 a 10 min, com fluxo de oxigênio no oxigenador de baixa resistência de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min.

3.1.3. Gradiente de Pressão do Oxigenador

No estudo *in vitro*, para medir o gradiente de pressão do oxigenador, foram utilizados fluxos médio de 100, 200 e 300 mL/min por meio do pinçamento parcial do tubo da entrada do oxigenador de baixa resistência, não havendo elevação do gradiente pressórico que pudesse influenciar os resultados considerados importantes do ponto de vista clínico, uma vez que o mesmo sempre se manteve em média abaixo de 4 mmHg. Quando o fluxo foi aumentado até 500 mL/min, o gradiente pressórico foi mantido com discreta elevação (Figuras 14 e 15).

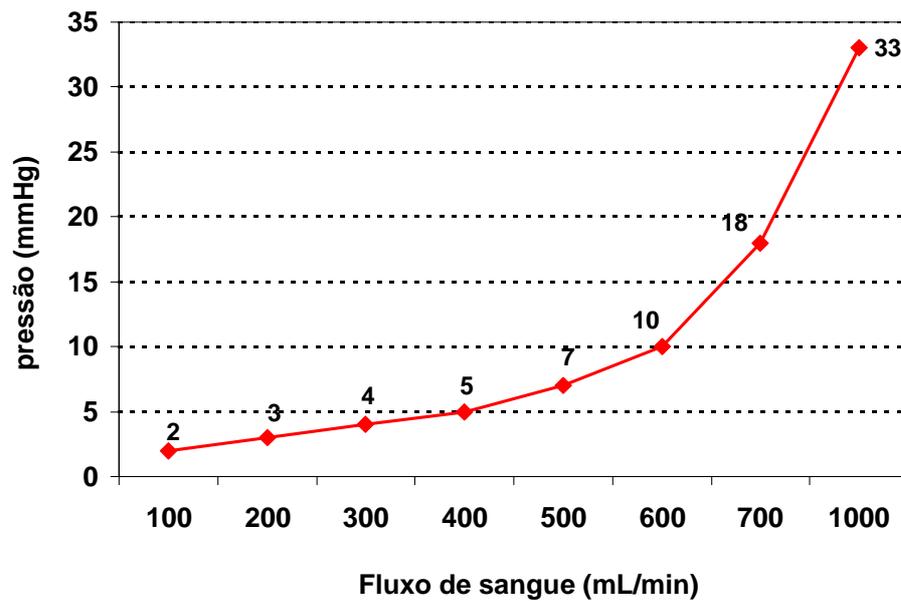


Figura 14: Comportamento do gradiente de pressão do oxigenador de baixa resistência com fluxo de sangue variando entre 100 e 1000 mL/min. (1ª tomada)

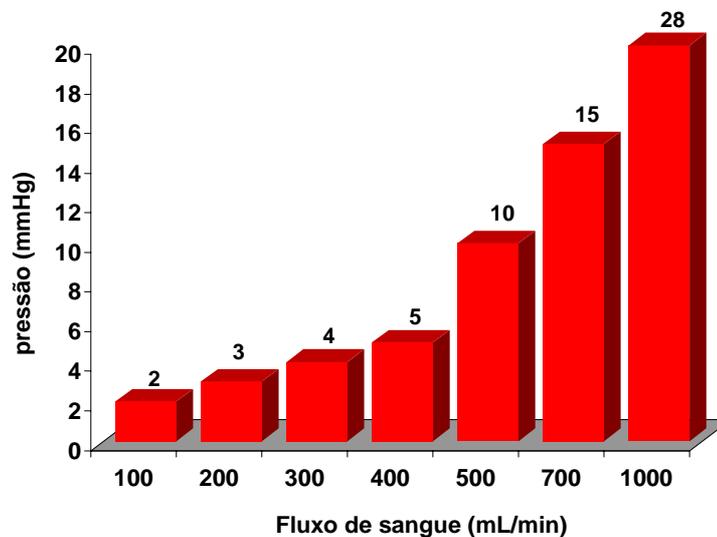


Figura 15: Comportamento do gradiente de pressão do oxigenador de baixa resistência com fluxo de sangue variando entre 100 e 1000 mL/min. (2ª tomada)

3.1.4. Medida do *priming*

O *priming* obtido foi de 70 mL.

3.2. Resultados dos Testes de Performance *Ex Vivo*

Os resultados serão apresentados para cada animal com relação à saturação de O₂, pO₂, pCO₂ no sangue sistêmico, na saída do oxigenador e no sangue venoso com fluxos de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min.

No momento seguinte serão apresentados os resultados entre os experimentos realizados em carneiros.

3.2.1. Experimento 1

O Experimento 1 foi realizado com carneiro de 33 Kg de massa corporal.

3.2.1.1. Saturação de Oxigênio (SaO₂)

Em condições normais anestésicas, a saturação de oxigênio do sangue arterial (SaO₂) do animal era de 99,9%. Após o animal passar pelo processo de produção experimental de hipóxia, a SaO₂ passou para 90,1%. Os níveis de SaO₂ encontram-se na Figura 16. Observa-se leve melhora em

todas as situações de fluxo de oxigênio, principalmente com 1,0 e 1,5 L/min.

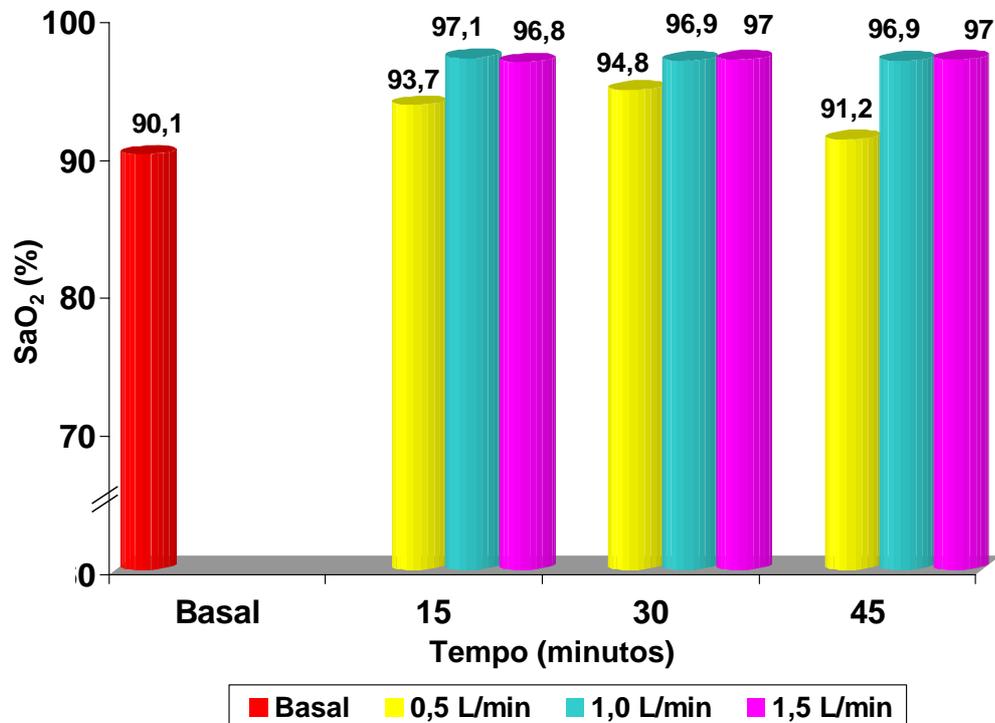


Figura 16: Comportamento da saturação de oxigênio do sangue arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (Experimento 1).

Na saturação de O₂ na saída do oxigenador (SsO₂) foram constatados os mesmos resultados, ou seja 99,9%, nos tempos de 15, 30 e 45 min, com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min, indicando boa performance mecânica do oxigenador (Figura 17).

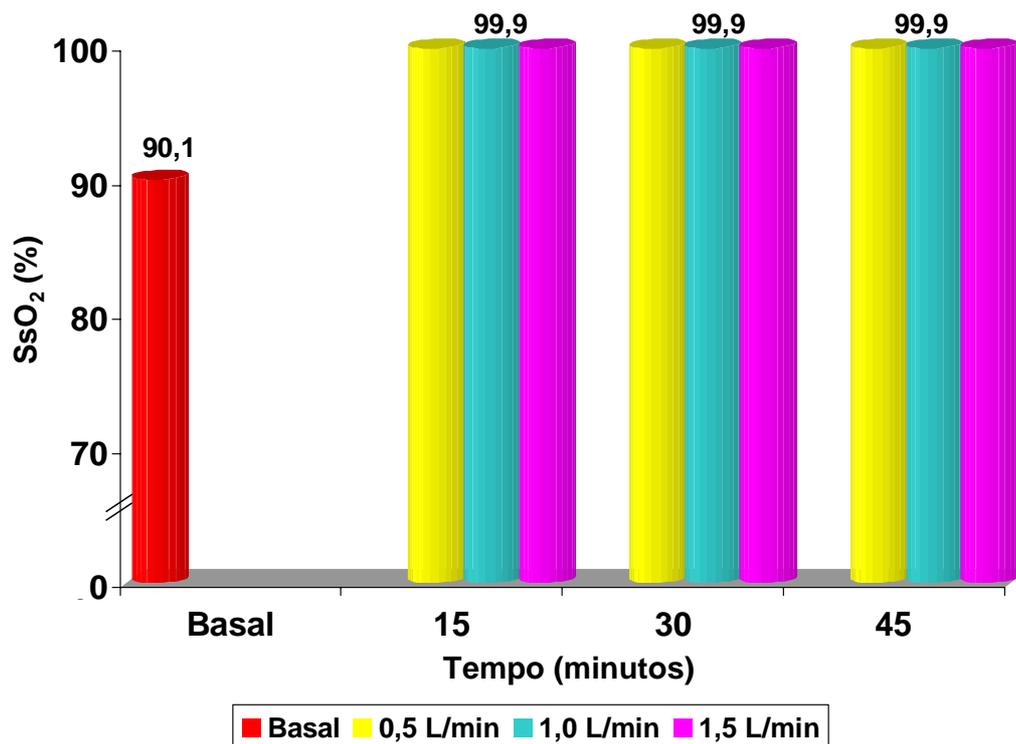


Figura 17: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1).

3.2.1.2. Pressão de Oxigênio (pO₂)

Sob anestesia, a PaO₂ era de 492,4 mmHg. Após o animal ser submetido à hipoxia e hipercapnia por retirada do O₂ do respirador e diminuição da frequência respiratória, chegou-se a uma PaO₂ de 49 mmHg. O TCA inicial era de 120 s e, após heparinização (3mg/Kg), passou para 543 s. Nesse instante o oxigenador foi acionado no circuito.

A Figura 18 mostra o comportamento da PaO_2 com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min nos tempos de 15, 30 e 45 min, em amostras de sangue (0,5 mL) coletadas na artéria femoral direita, representando a situação sistêmica do animal (PaO_2). Nota-se melhora na oxigenação nos diferentes fluxos de oxigênio. Do ponto de vista clínico, com 1 e 1,5 L/min, o ganho de pO_2 sistêmica foi satisfatório.

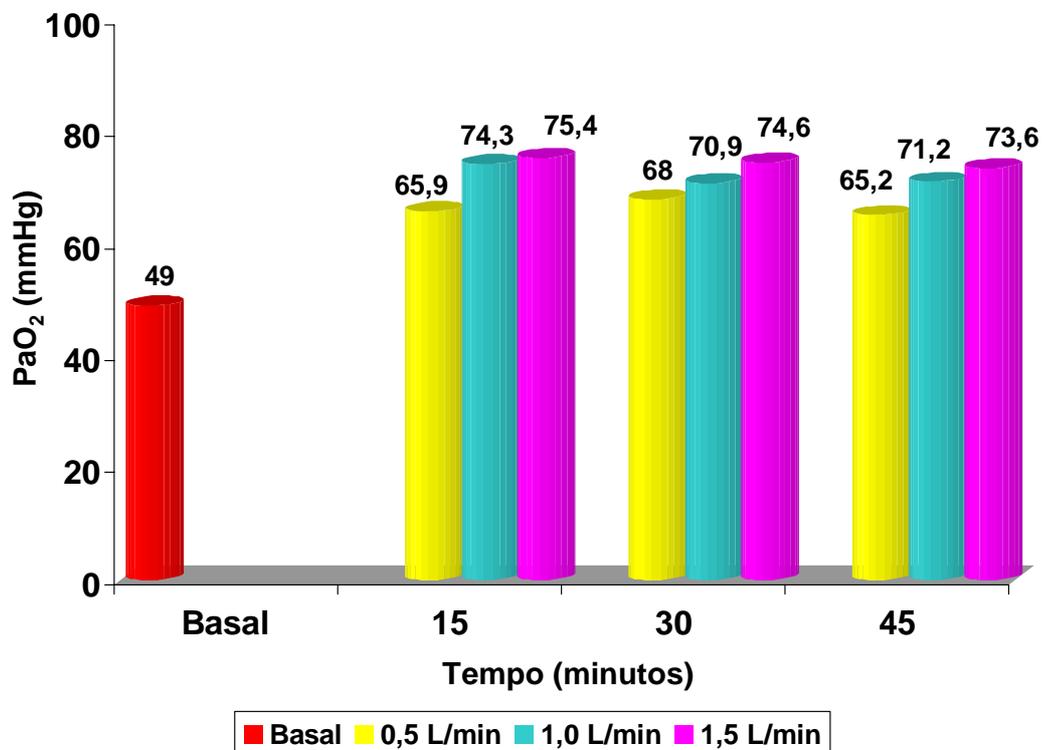


Figura 18: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1).

Os resultados obtidos com relação a PsO_2 na saída do oxigenador encontram-se na Figura 19. O menor valor foi 281,8 mmHg e o maior 411

mmHg, sendo ambos superiores aos valores obtidos na PaO_2 , que variaram de 65,2 a 75,4 mmHg, traduzindo boa performance mecânica do oxigenador.

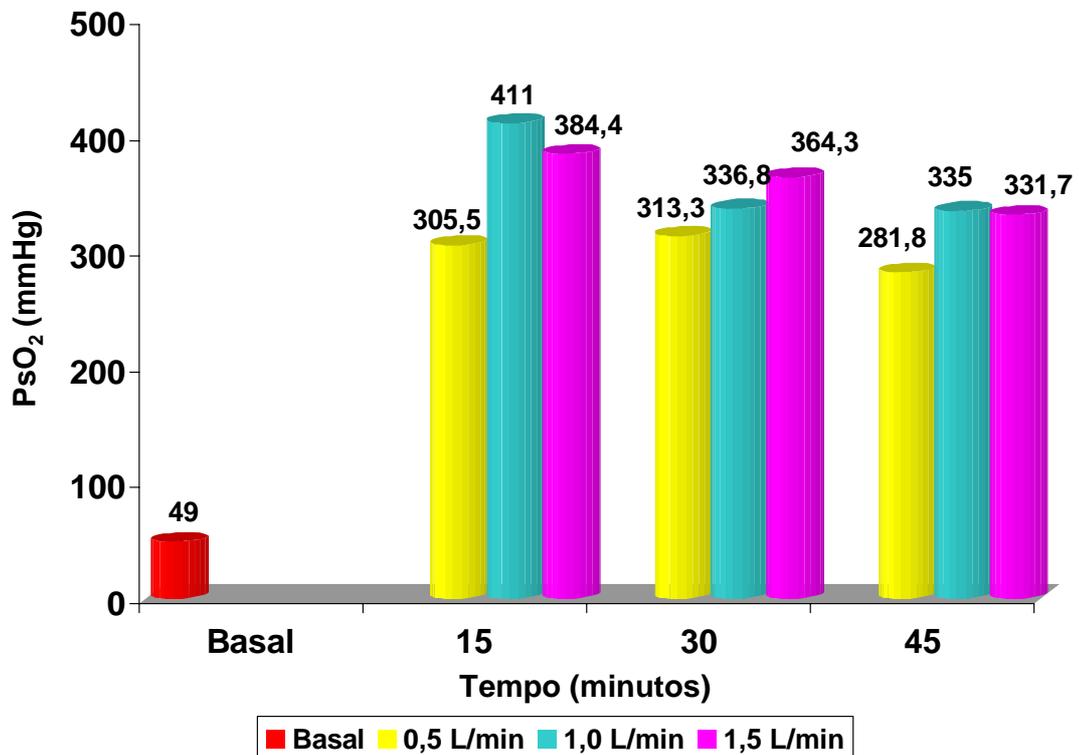


Figura 19: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1).

3.2.1.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO_2)

Sob anestesia a $PaCO_2$ era 36 mmHg, após a hipóxia e hipercapnia passou para 45 mmHg. A Figura 20 mostra comportamento da $PaCO_2$ com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min nos tempos de 15,

30 e 45 min, em amostras de sangue (0,5 mL) coletadas na artéria femoral direita, representando a situação sistêmica do animal (PaCO_2). Constata-se que com fluxo de 0,5 L/min não houve melhora de PaCO_2 , enquanto que com 1,0 e 1,5 L/min houve redução dos valores atingindo níveis clínicos satisfatórios.

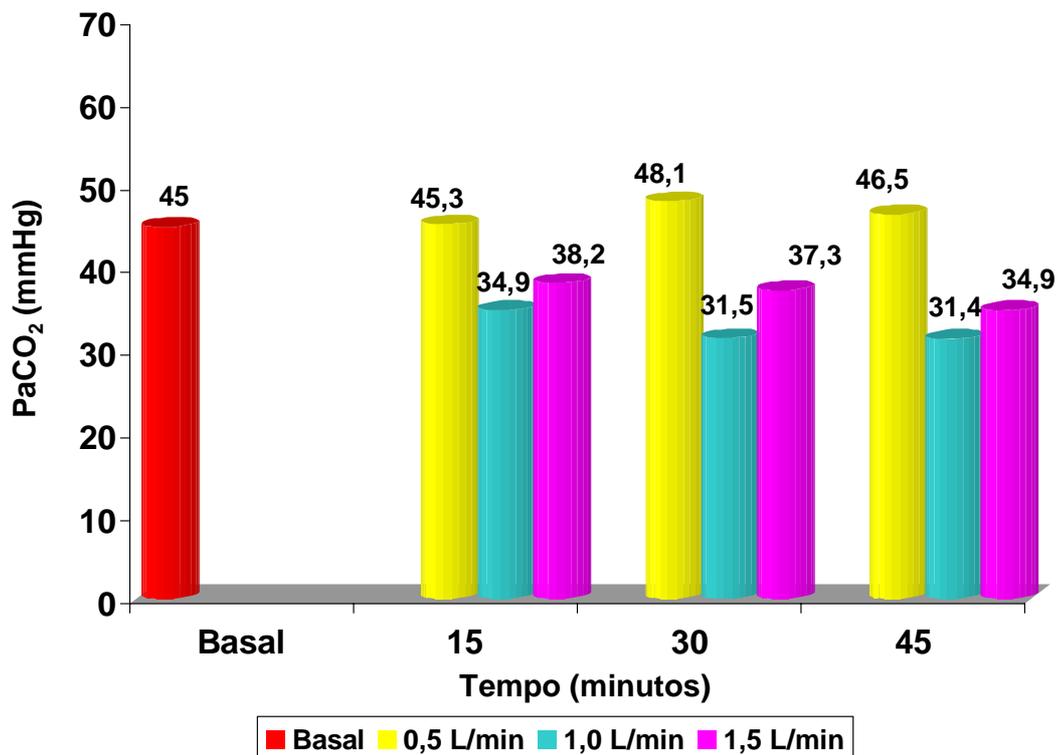


Figura 20: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1).

Os resultados da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador (PsCO_2) estão na Figura 21. Houve redução acentuada com fluxos de 1,0 e 1,5 L/min.

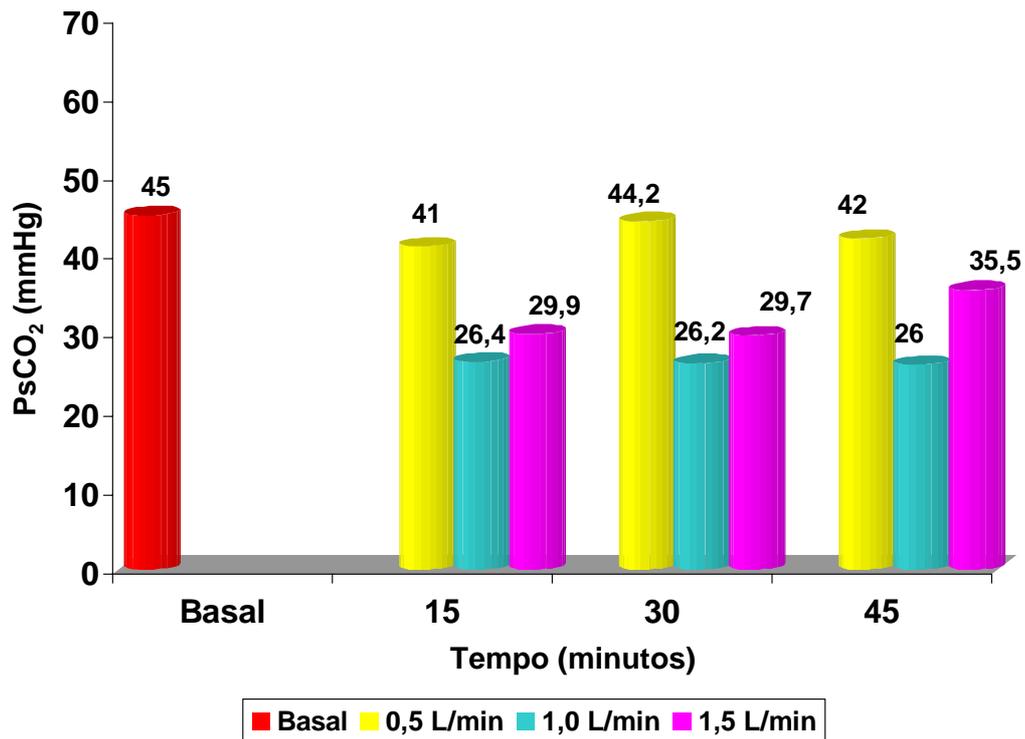


Figura 21: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 1).

3.2.2. Experimento 2

O Experimento 2 foi realizado com ovelha de 22 Kg de massa corporal.

3.2.2.1. Saturação de Oxigênio (SO₂)

Sob anestesia, a tomada da saturação de oxigênio arterial (SaO₂) foi 99,9%. Após o animal passar por hipóxia e hipercapnia, a SaO₂ passou para 85,5%. Os níveis de SaO₂ nos tempos de 15, 30 e 45 min em todas as situações de fluxo de oxigênio no oxigenador variaram de 96,8 a 98% (Figura 22), indicando boa performance clínica do oxigenador.

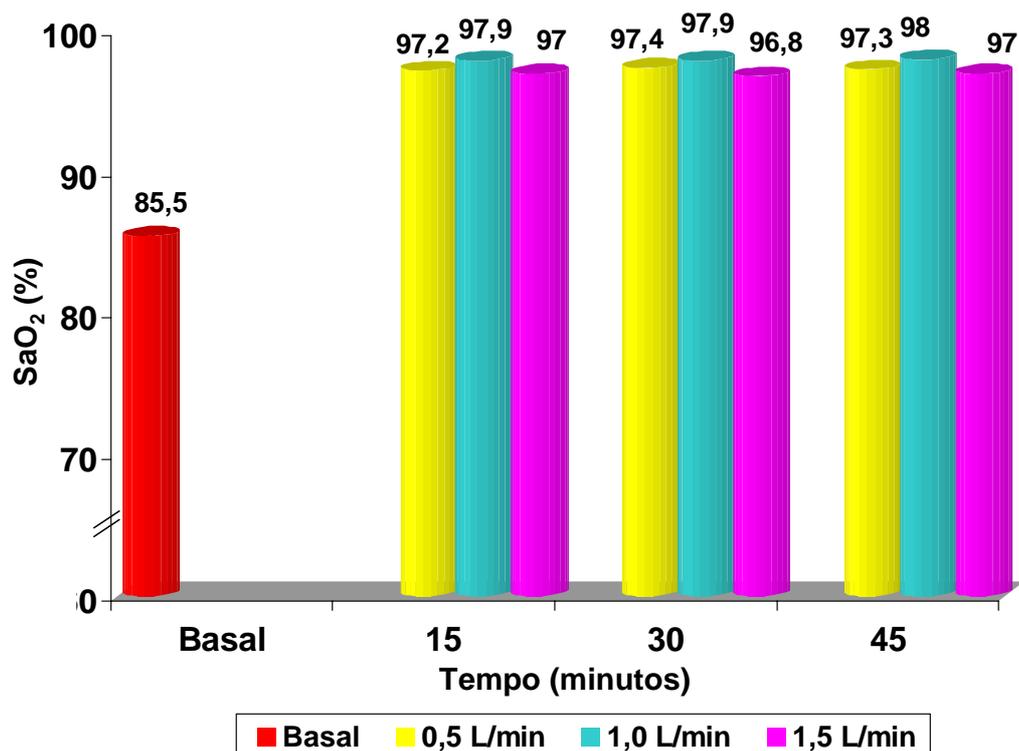


Figura 22: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

Com relação à saturação de oxigênio na saída do oxigenador, os valores variaram de 99,9% a 100% (Figura 23), demonstrando excelente desempenho mecânico do oxigenador.

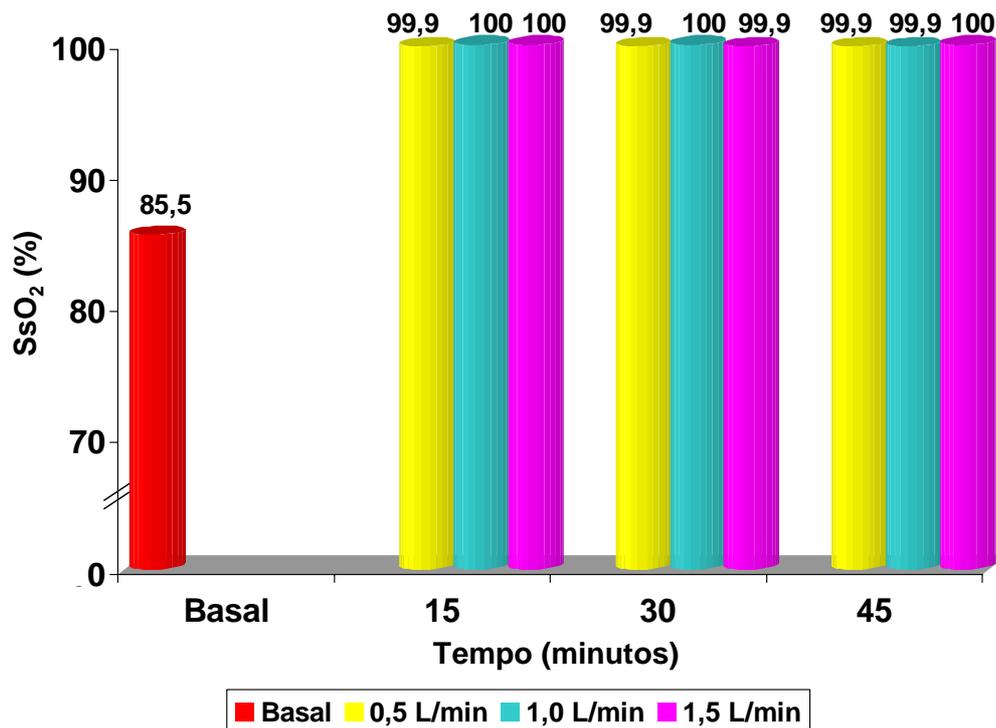


Figura 23: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

Sob condições anestésicas, a tomada da saturação de oxigênio venoso (SvO₂) foi 94,4%. Após o animal passar por hipóxia e hipercapnia, a SvO₂ passou para 66,1%. Os resultados obtidos estão na Figura 24. Nota-se ganho considerável nos níveis de SvO₂ em todos os tempos e situações de fluxo de oxigênio, revelando boa performance clínica do oxigenador.

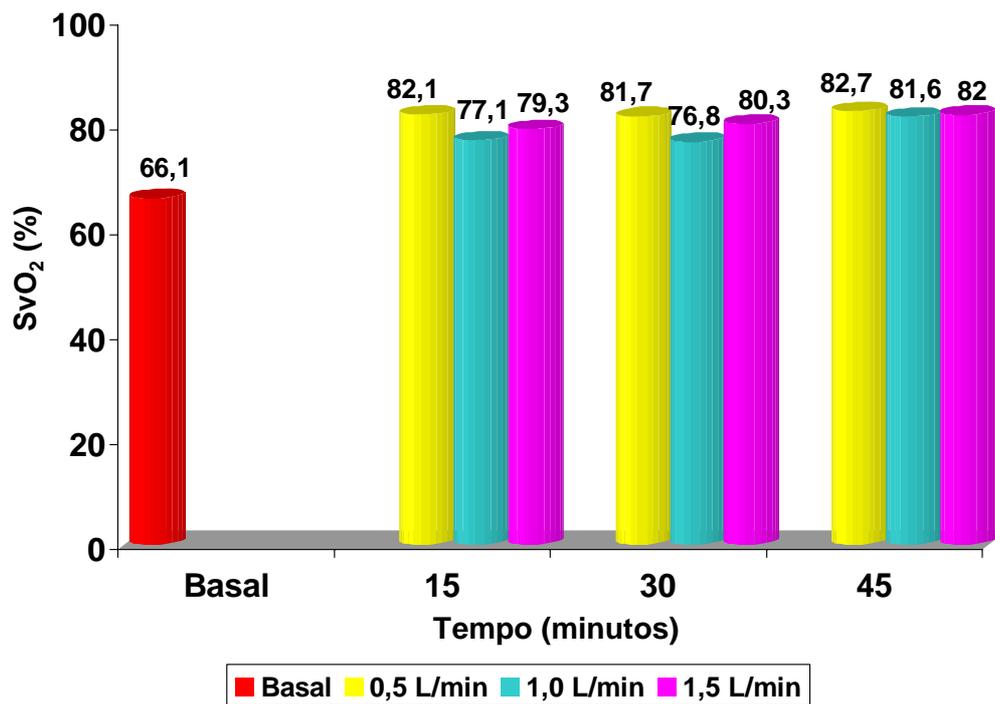


Figura 24 Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

3.2.2.2. Pressão de Oxigênio (pO₂)

Sob anestesia, a PaO₂ era de 545,1 mmHg. Após o animal ser submetido à hipóxia e hipercapnia por retirada do O₂ do respirador e diminuição da frequência respiratória, chegou-se a uma PaO₂ de 53 mmHg. O TCA inicial era 75 s e, após heparinização (3mg/Kg), passou para 535 s. Nesse instante o oxigenador foi acionado no circuito.

A Figura 25 mostra o comportamento da PaO_2 representando a situação sistêmica do animal. Do ponto de vista clínico, houve melhora na oxigenação nos diferentes fluxos de oxigênio.

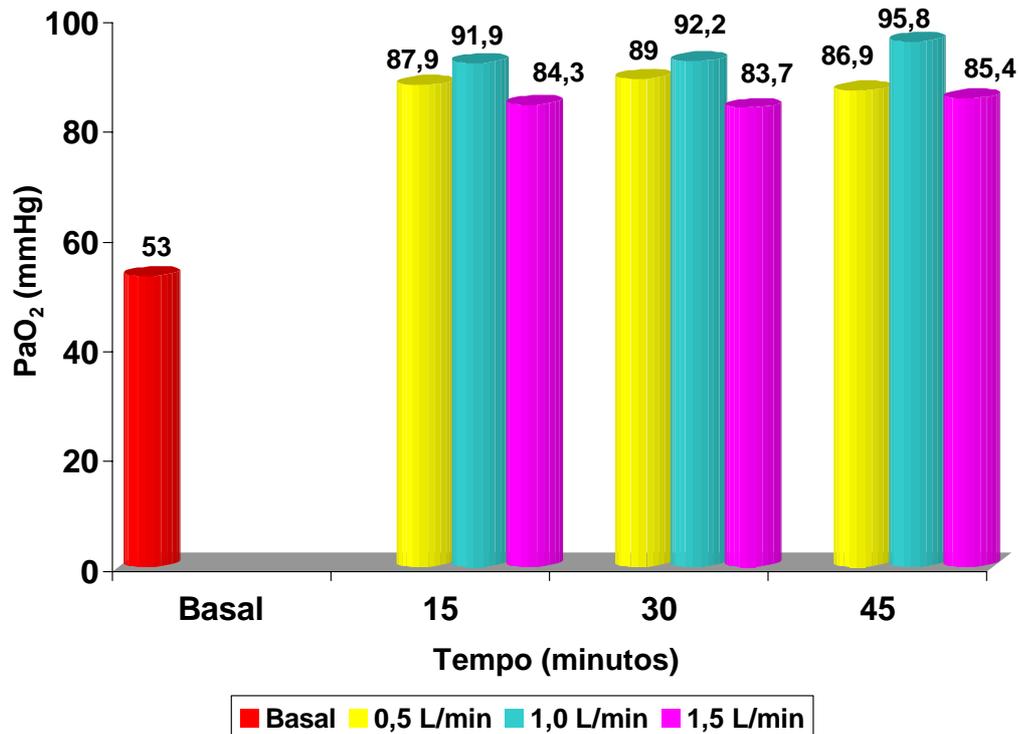


Figura 25: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

Os resultados obtidos com relação à pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador (PsO_2) mostraram performance mecânica do oxigenador plenamente satisfatória (Figura 26).

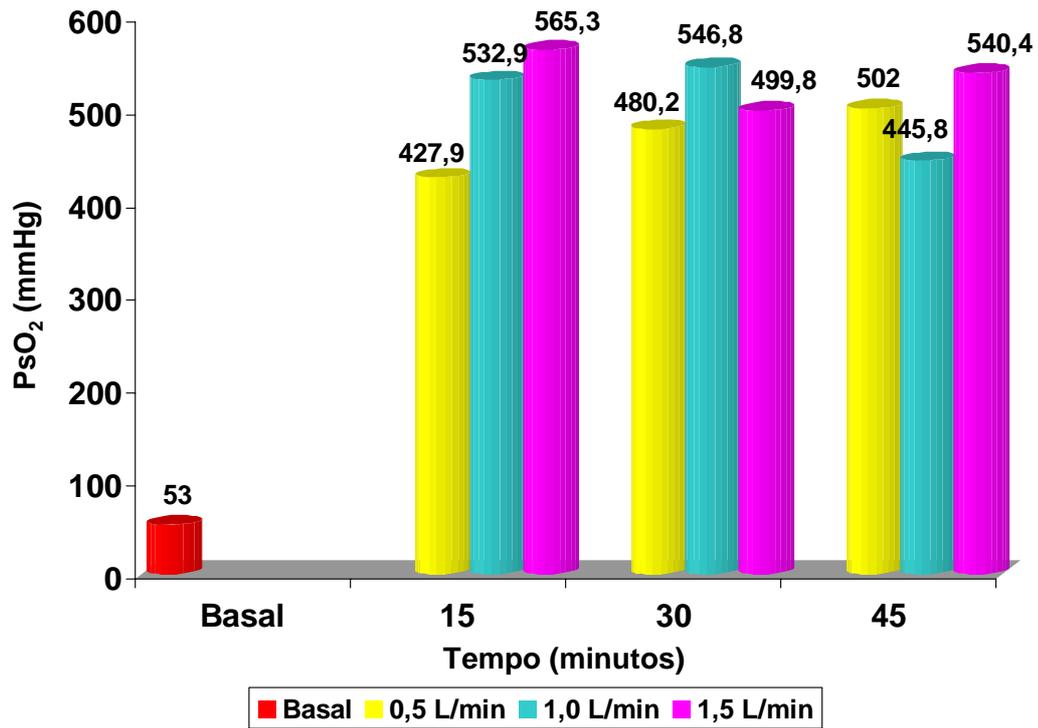


Figura 26: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

Sob anestesia, a pressão parcial de oxigênio venoso (PvO₂) era 70,7 mmHg. Após o animal ser submetido à hipóxia e hipercapnia por retirada do O₂ do respirador e diminuição da frequência respiratória, chegou-se a uma PvO₂ de 32,3 mmHg, portanto abaixo dos limites de normalidade (Figura 27). Houve normalização clínica com a utilização do oxigenador.

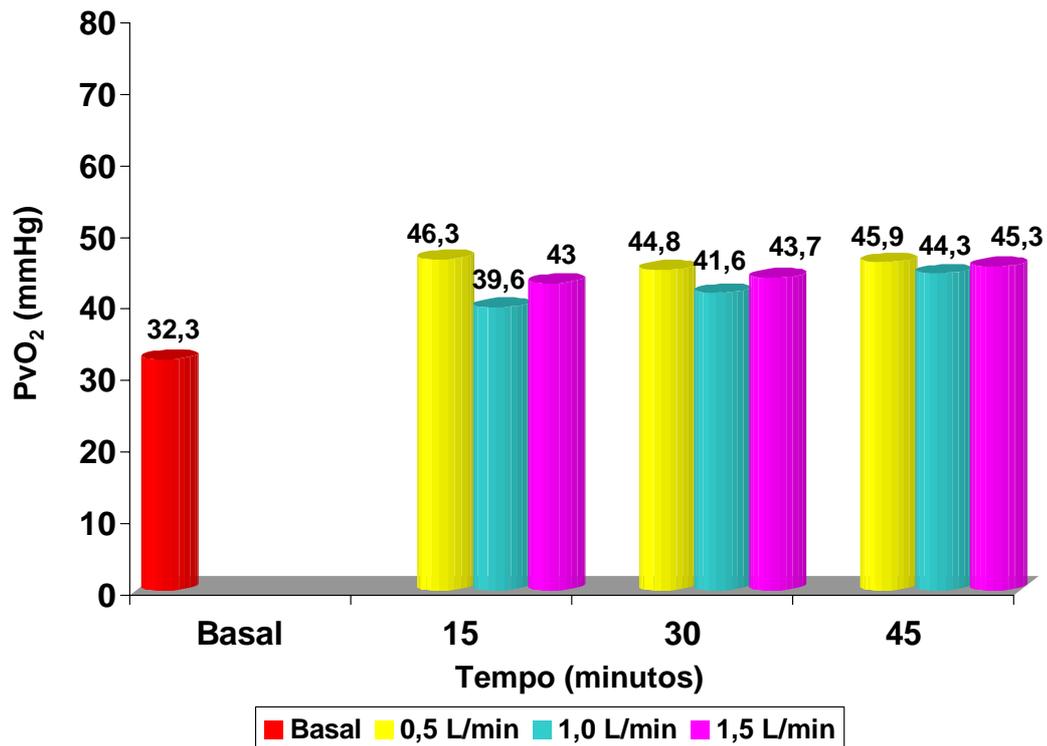


Figura 27: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

3.2.2.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO₂)

Sob anestesia, a PaCO₂ era 37,1 mmHg (normal), após hipóxia e hipercapnia passou para 56,8 mmHg. O comportamento da PaCO₂, representando a situação sistêmica do animal, encontra-se na Figura 28. Observa-se diminuição dos níveis de PaCO₂ em todas as situações de fluxo, notadamente com 1,0 L/min.

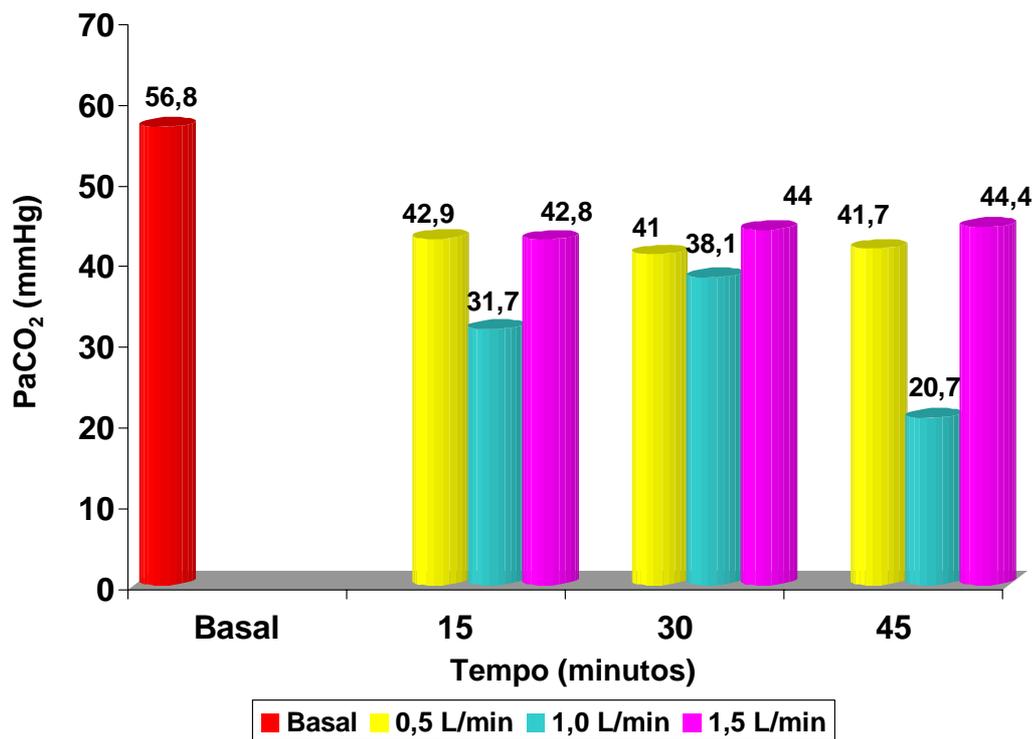


Figura 28: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

Os resultados da pCO₂ na saída do oxigenador estão na Figura 29.

Houve redução acentuada em todas as situações de fluxo, indicando boa performance mecânica do oxigenador.

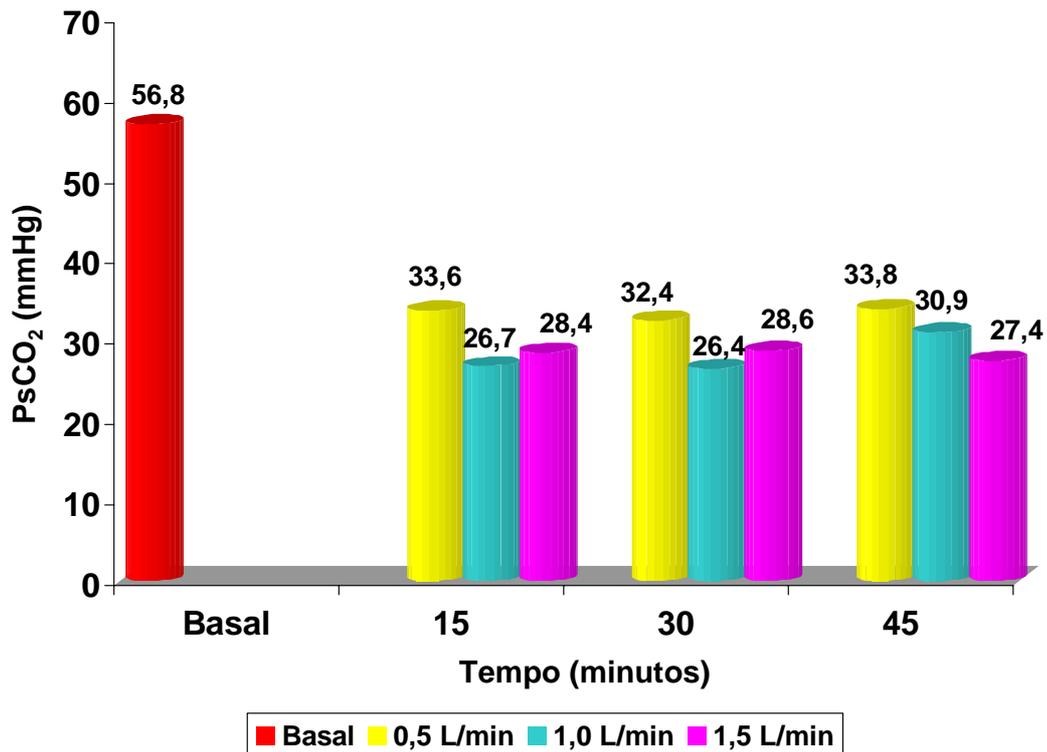


Figura 29: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

Sob anestesia, a pressão parcial de CO₂ venoso era 38,5 mmHg, com hipóxia e hipercapnia passou para 54,7 mmHg, estando, portanto acima da normalidade. Observa-se na Figura 30 normalização clínica.

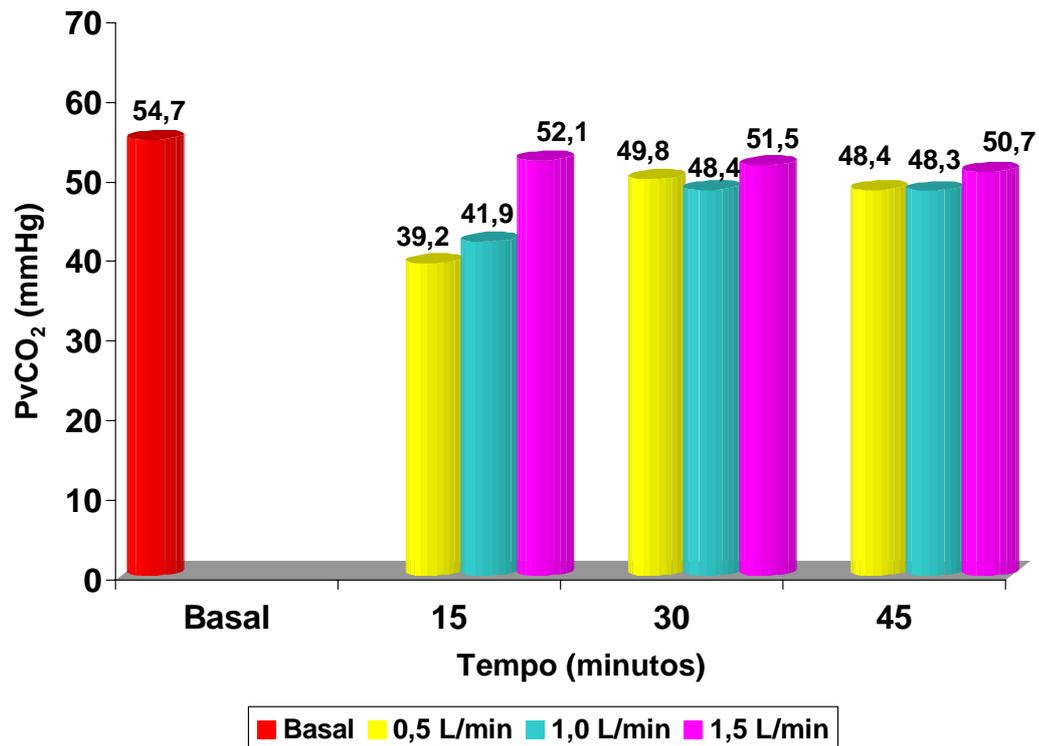


Figura 30: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 2).

3.2.3. Experimento 3

O teste denominado Experimento 3 foi realizado com ovelha de 15 Kg de massa corporal.

3.2.3.1. Saturação de Oxigênio (SO₂)

Sob anestesia, a tomada da saturação de oxigênio arterial (SaO₂) foi 100,0%. Após o animal ser submetido à hipóxia e hipercapnia, a SaO₂ passou para 85,1%. Os níveis de SaO₂ nos tempos de 15, 30 e 45 min, em todas as situações de fluxo de oxigênio no oxigenador, variaram de 98,2 a 98,7% (Figura 31), indicando boa performance clínica.

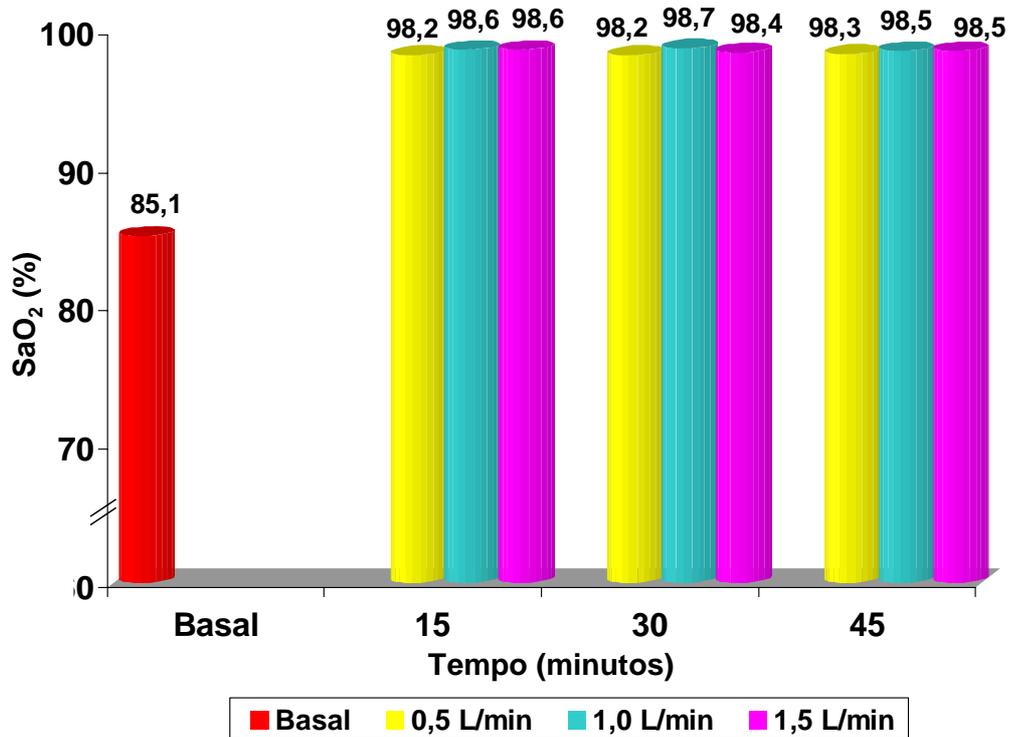


Figura 31: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

Com relação à saturação de oxigênio na saída do oxigenador, os valores variaram de 99,9% a 100% (Figura 32), demonstrando excelente desempenho mecânico do oxigenador.

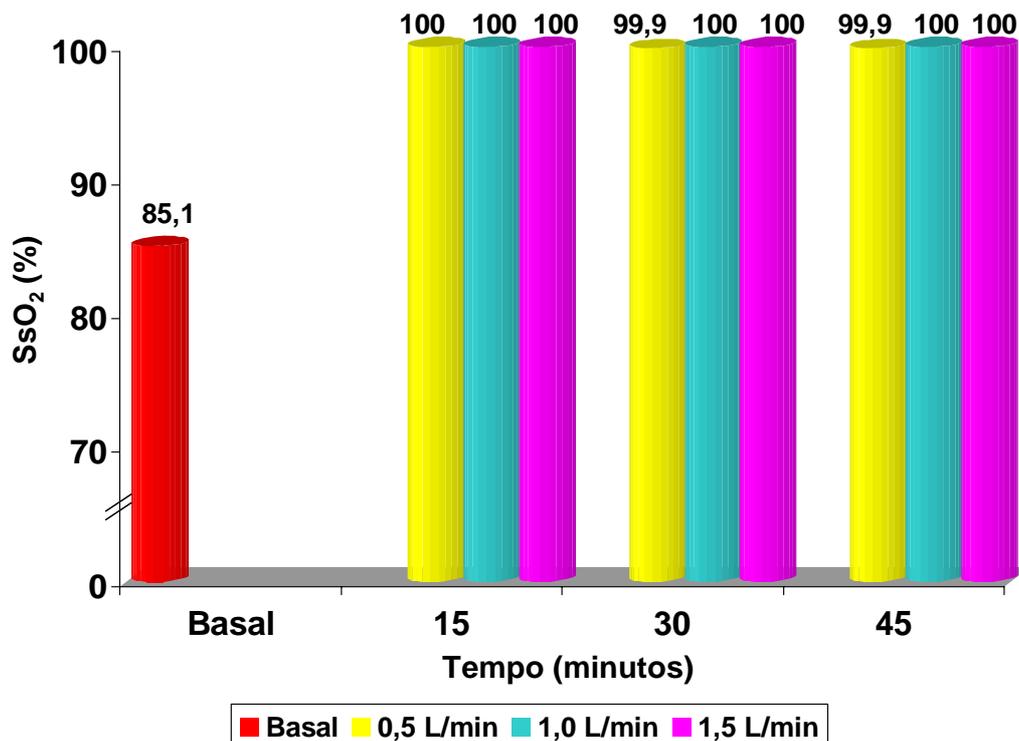


Figura 32: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

Sob condições anestésicas, a tomada da saturação de oxigênio venoso (SvO_2) foi 97,5%. Após hipóxia e hipercapnia, a SvO_2 passou para 67,6%. Os resultados obtidos estão na Figura 33. Nota-se ganho considerável nos níveis de SvO_2 em todos os tempos e situações de fluxo de oxigênio, revelando boa performance clínica.

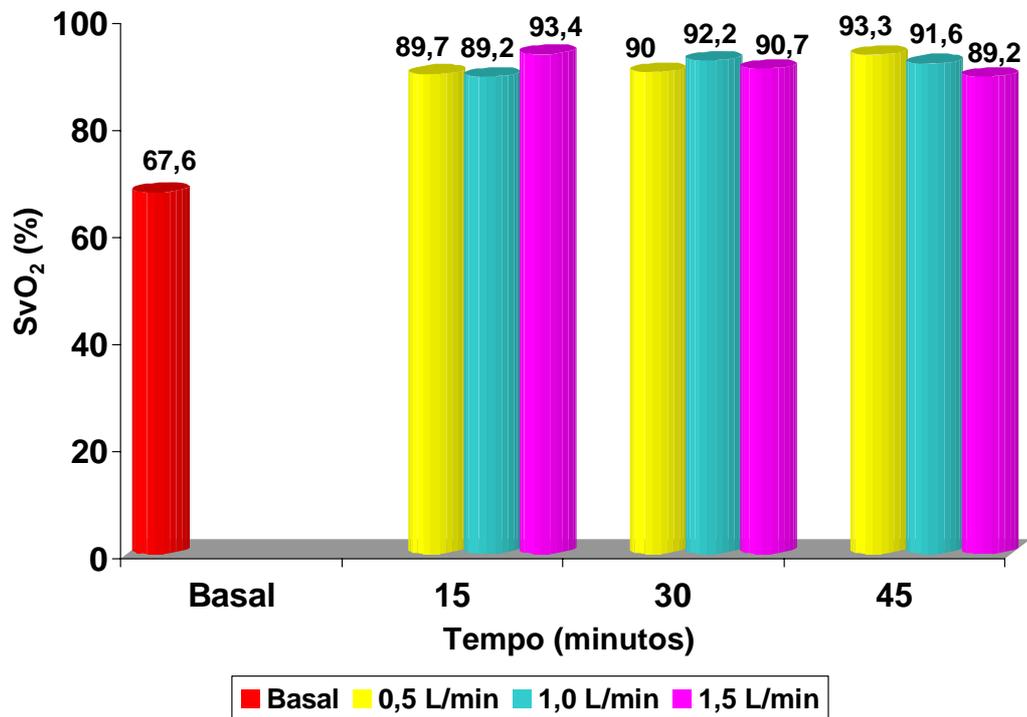


Figura 33: Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

3.2.3.2. Pressão de Oxigênio (pO₂)

Sob anestesia, a PaO₂ era 567,7 mmHg. Após hipóxia e hipercapnia, chegou-se a uma PaO₂ de 50 mmHg. O TCA inicial era 135s e, após heparinização (3mg/Kg), passou para 719 s. Nesse instante o oxigenador foi acionado no circuito.

O comportamento dos níveis de PaO₂ encontra-se na Figura 34. Observa-se acentuada melhora clínica demonstrada pelo aumento nos níveis de PaO₂ em todos os tempos e situações de fluxo.

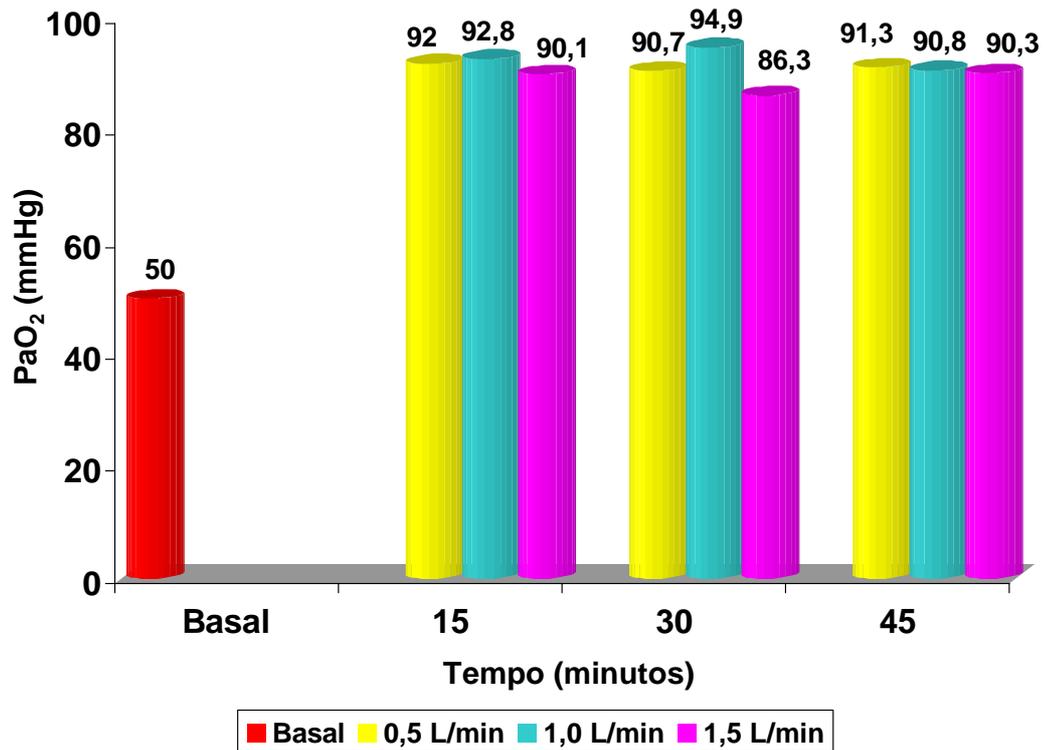


Figura 34: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

Com relação à pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador (PsO₂), os resultados obtidos mostraram desempenho mecânico do oxigenador plenamente satisfatório (Figura 35).

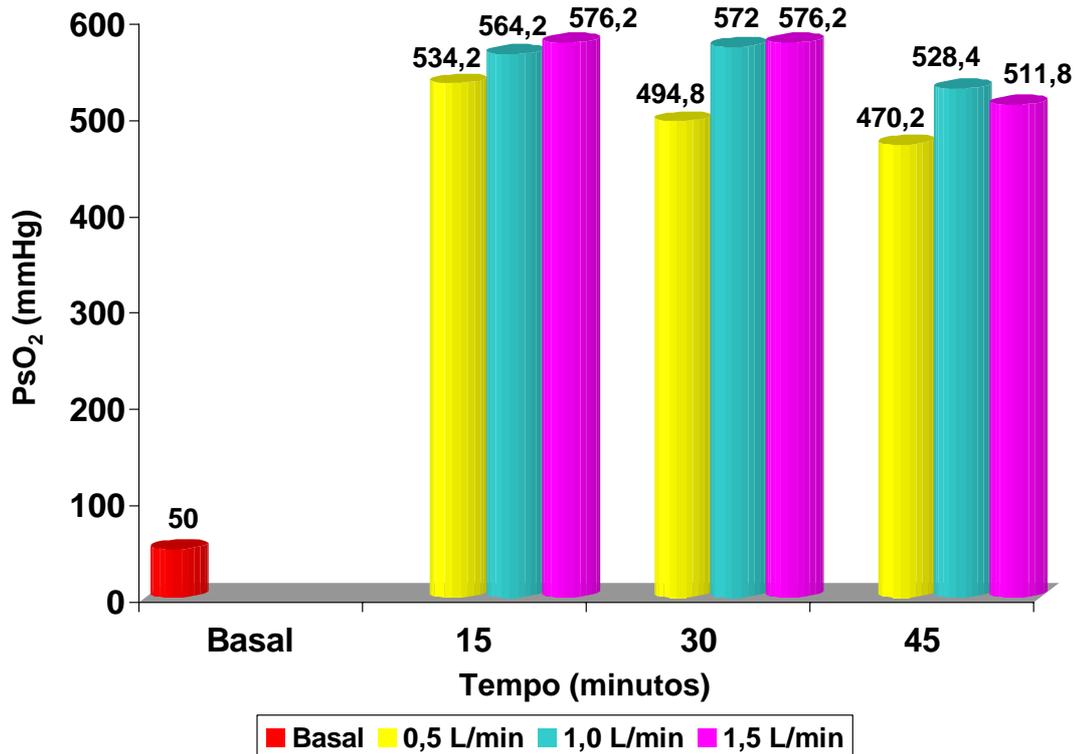


Figura 35: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

Sob anestesia, a pressão parcial de oxigênio venoso (PvO₂) era 114,5 mmHg. Após hipóxia e hipercapnia por retirada do O₂ do respirador e diminuição da frequência respiratória, chegou-se a uma PvO₂ de 39,6 mmHg. O comportamento dos níveis de PvO₂ está na Figura 36. Verifica-se melhora clínica indicada pelo aumento nos níveis de PvO₂ em todos os tempos e situações de fluxo.

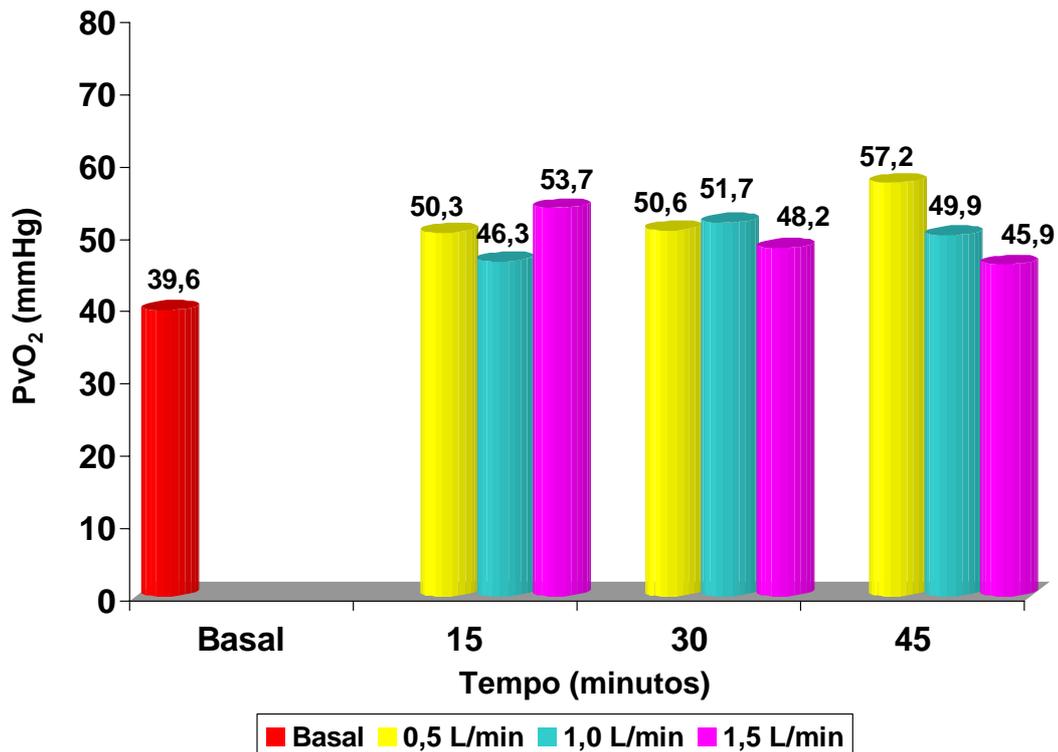


Figura 36: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

3.2.3.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO₂)

Sob anestesia, a pressão parcial de dióxido de carbono arterial (PaCO₂) era 36,0 mmHg e, após hipóxia e hipercapnia, passou para 59,3 mmHg. O comportamento da PaCO₂, representando a situação sistêmica do animal, encontra-se na Figura 37. Observa-se diminuição dos níveis de PaCO₂ em todas as situações de fluxo, notadamente com 1,0 e 1,5 L/min.

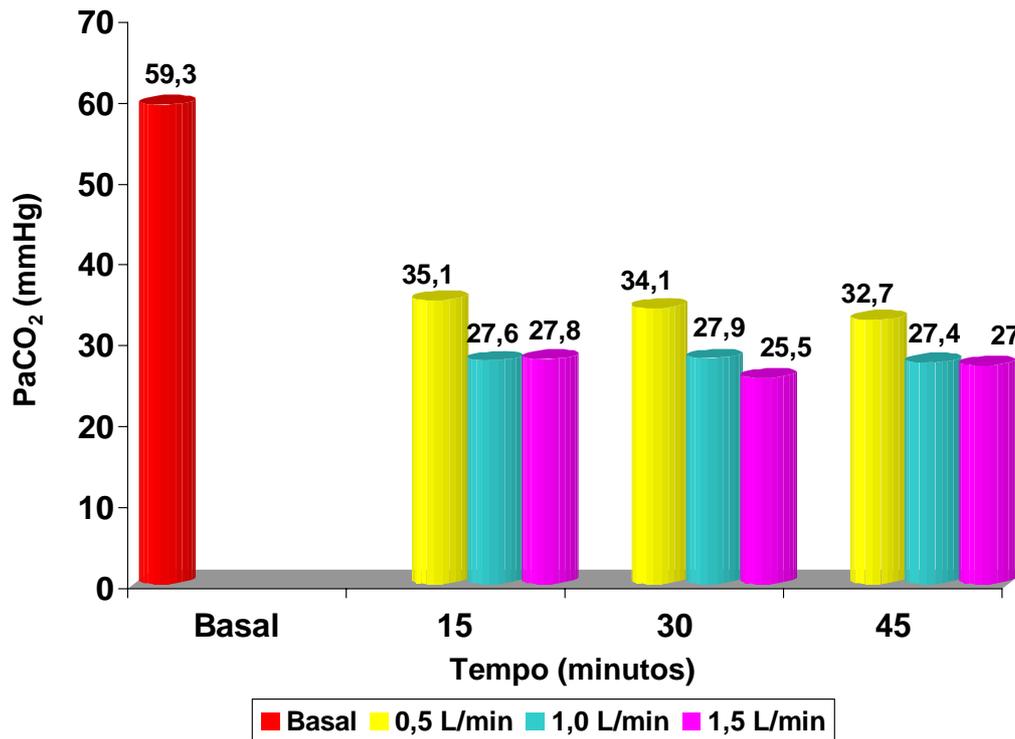


Figura 37: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

Os resultados da pCO₂ na saída do oxigenador estão na Figura 38. Observa-se redução acentuada em todas as situações de fluxo, notadamente com 1,0 e 1,5 L/min, indicando bom desempenho mecânico do oxigenador.

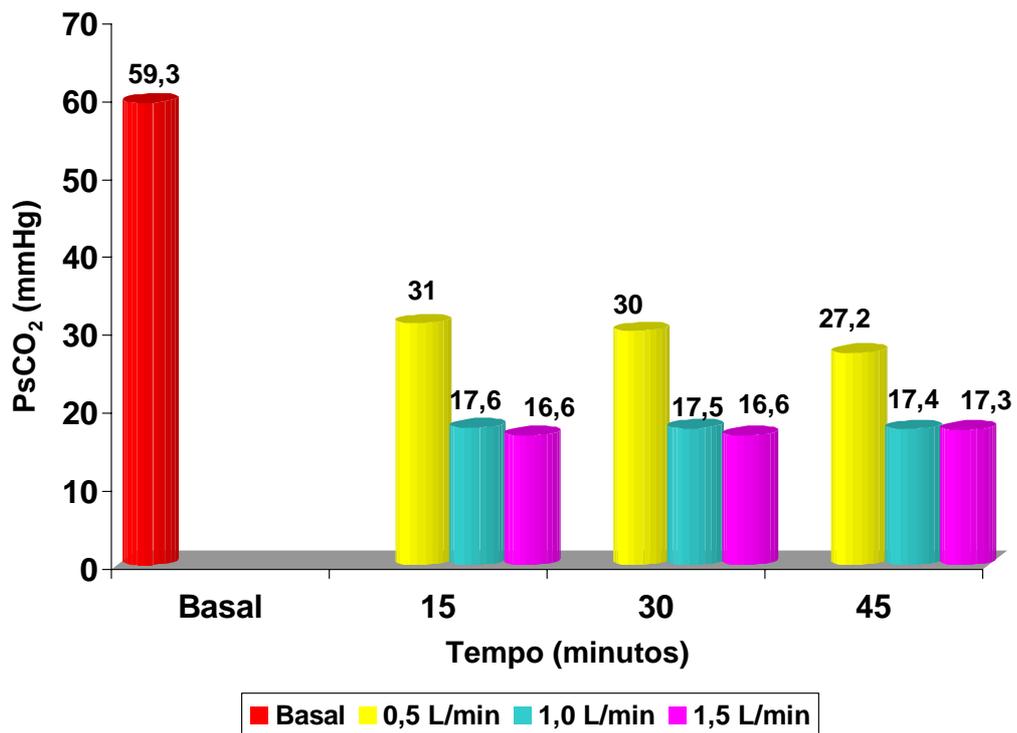


Figura 38: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

Sob anestesia, a pressão parcial de CO₂ venoso era 40,6 mmHg, com hipóxia e hipercapnia passou para 53,6 mmHg, portanto acima da normalidade. Nota-se na Figura 39 normalização clínica.

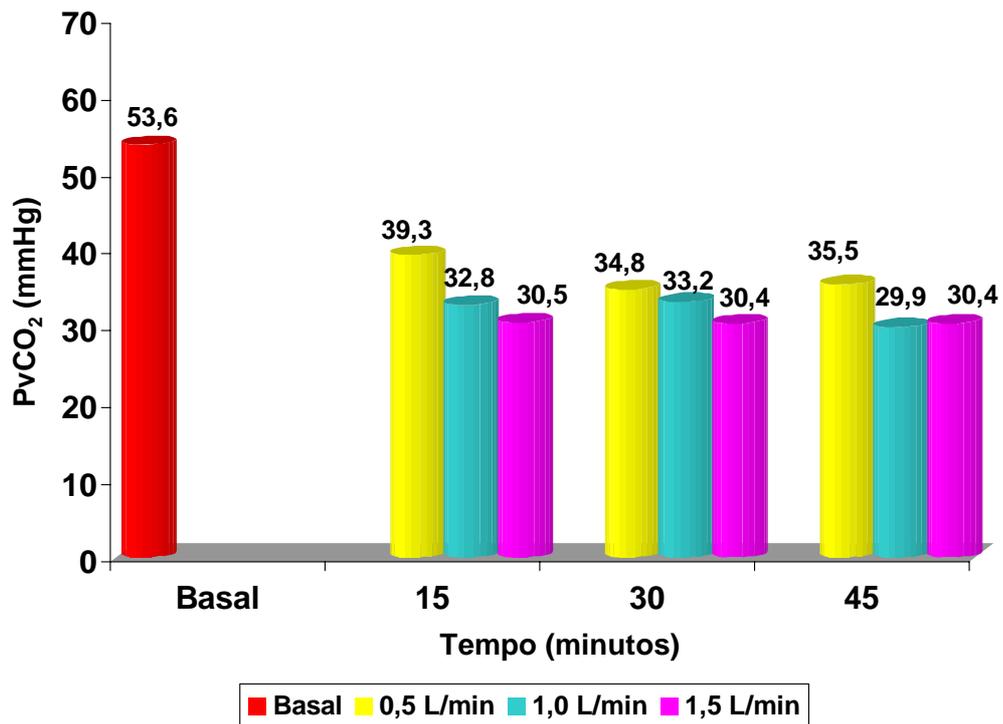


Figura 39: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 3).

3.2.4. Experimento 4

O teste denominado Experimento 4 foi realizado com ovelha de 9,5 Kg de massa corporal.

3.2.4.1. Saturação de Oxigênio (SO₂)

Sob anestesia, a tomada da saturação de oxigênio arterial (SaO₂) foi 99,9%. Após o animal passar por hipóxia e hipercapnia, a SaO₂ passou para 81,3%. Os níveis de SaO₂ nos tempos de 15, 30 e 45 min, em todas as situações de fluxo de oxigênio no oxigenador, variaram de 94,1 a 96,6% (Figura 40), indicando boa performance clínica.

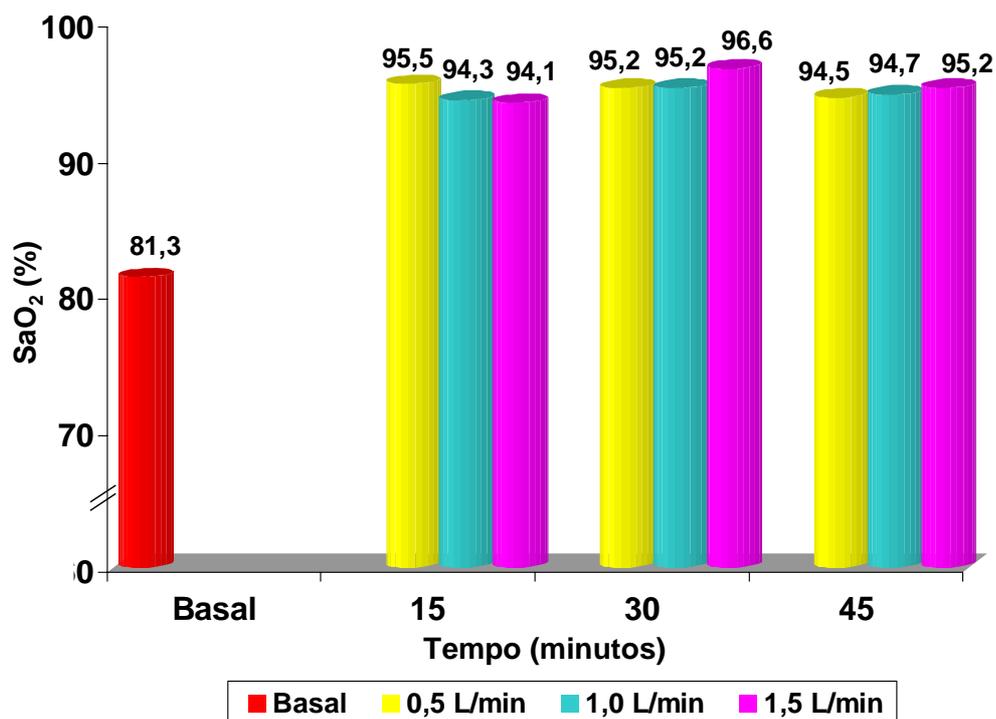


Figura 40: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

Com relação à saturação de oxigênio na saída do oxigenador, os valores variaram de 99,2% a 99,6% (Figura 41), demonstrando excelente desempenho mecânico do oxigenador.

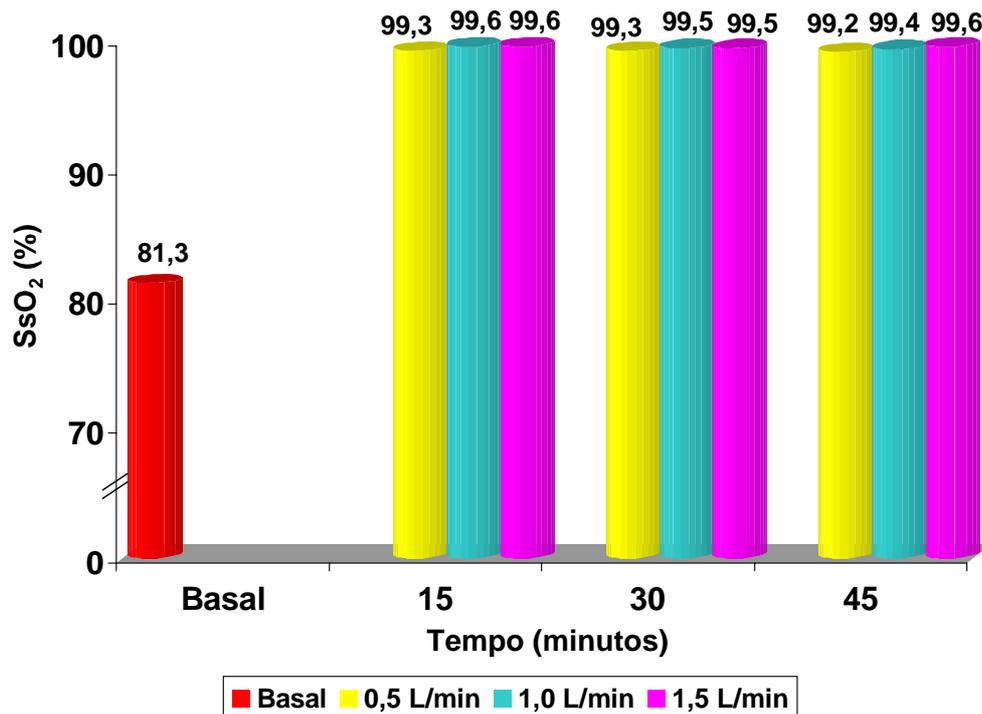


Figura 41: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

Sob condições anestésicas, a tomada da saturação de oxigênio venoso (SvO₂) foi 98%. Após hipóxia e hipercapnia, a SvO₂ passou para 69,9%. Os resultados obtidos estão na Figura 42. Nota-se ganho considerável nos níveis de SvO₂ em todos os tempos e situações de fluxo de oxigênio, revelando boa performance clínica.

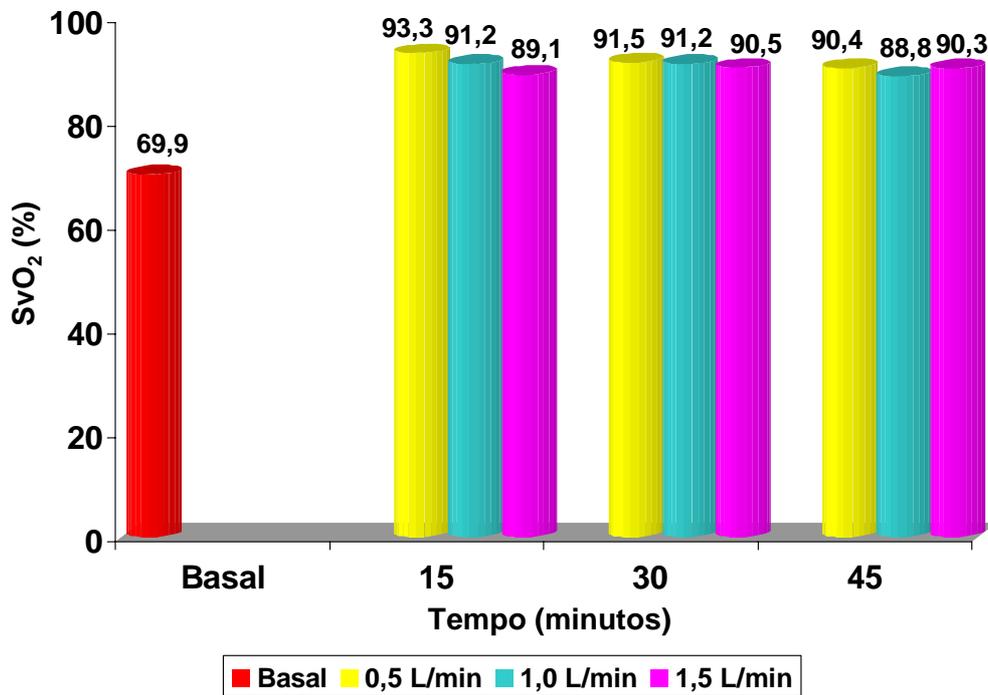


Figura 42: Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

3.2.4.2. Pressão de Oxigênio (pO₂)

Sob anestesia, a PaO₂ era 461,1 mmHg. Após hipóxia e hipercapnia, chegou-se a uma PaO₂ de 52,5 mmHg. O TCA inicial era 114s e, após heparinização (3 mg/kg), passou para 844 s. Nesse instante, o oxigenador foi acionado no circuito.

O comportamento dos níveis de PaO_2 está na Figura 43. Observa-se melhora clínica demonstrada pelo aumento nos níveis de PaO_2 em todos os tempos e situações de fluxo.

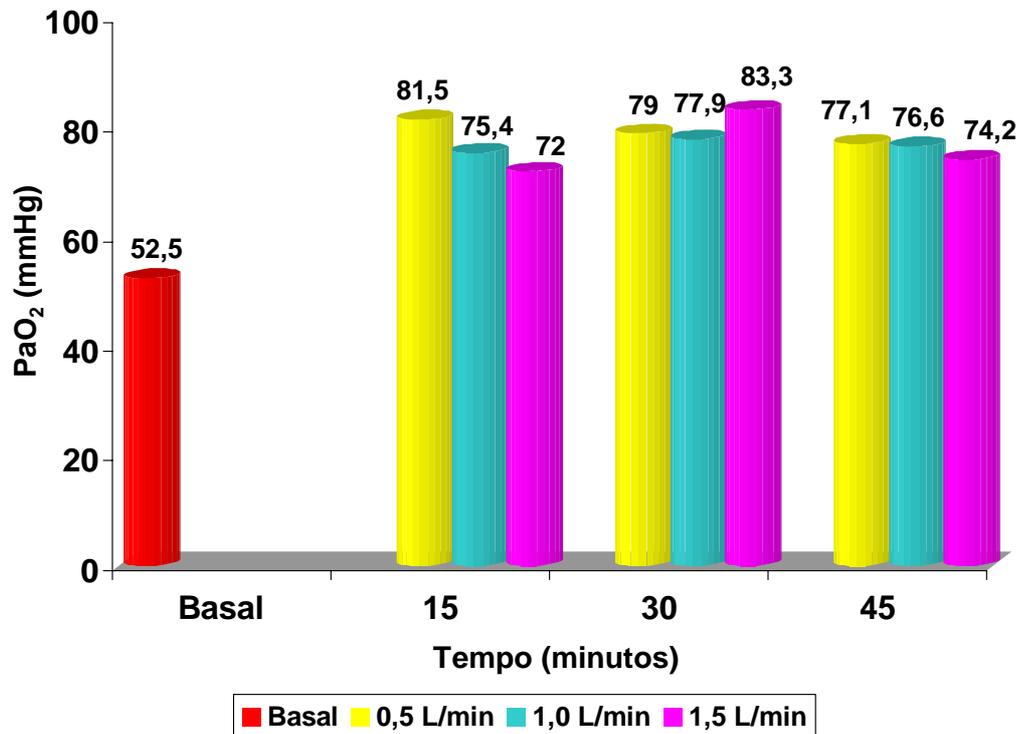


Figura 43: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

Os resultados obtidos, com relação à pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador (PsO_2), mostraram performance mecânica inferior aos dos experimentos anteriores (Figura 44).

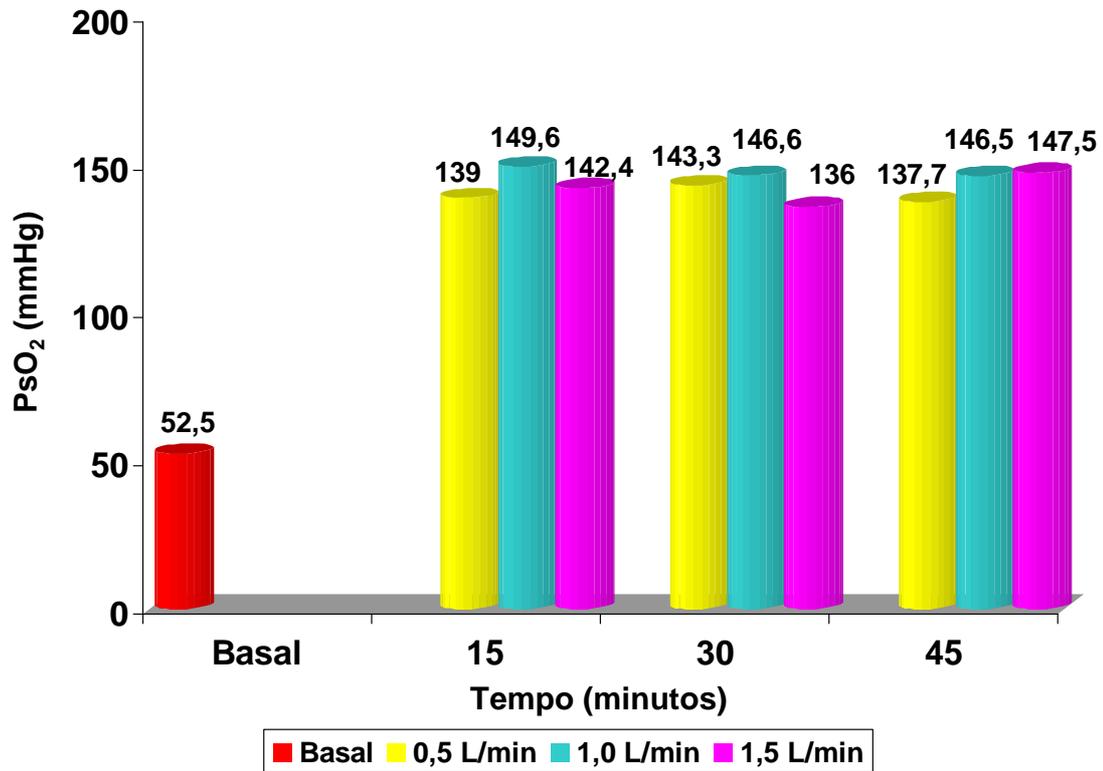


Figura 44: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

Sob anestesia, a pressão parcial de oxigênio venoso (PvO₂) era 95,6 mmHg. Após o animal ser submetido à hipóxia e hipercapnia por retirada do O₂ do respirador e diminuição da frequência respiratória, chegou-se a uma PvO₂ de 47,7 mmHg, observando-se melhora clínica (Figura 45).

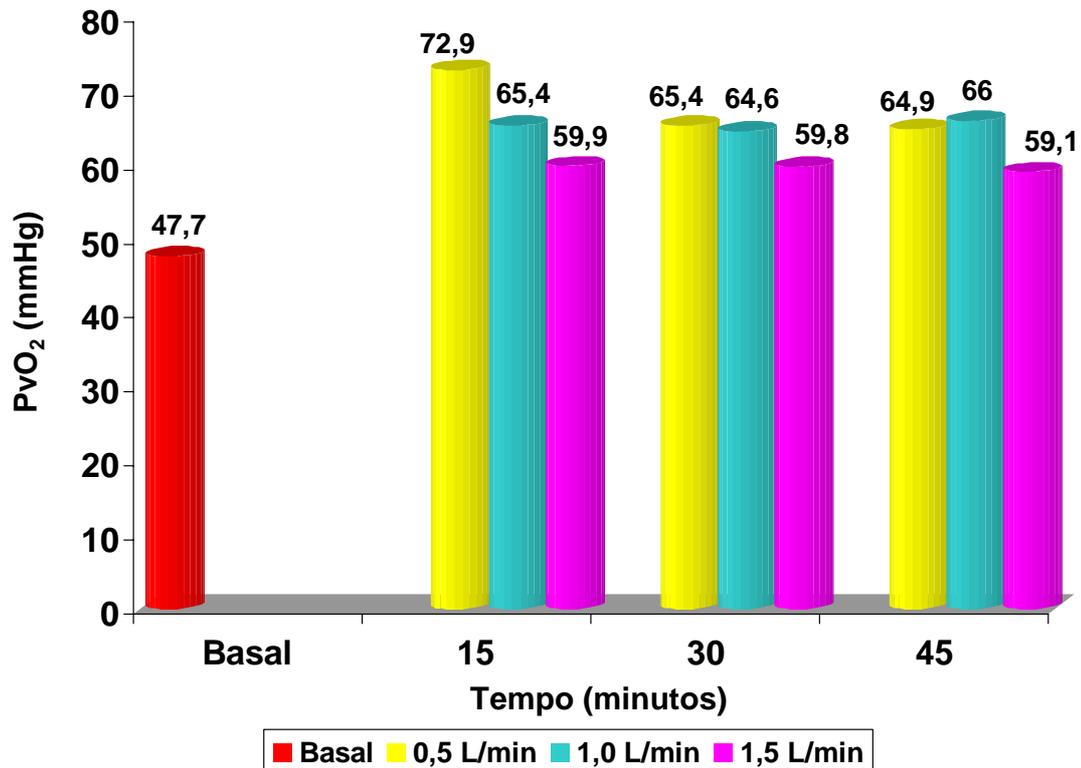


Figura 45: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

3.2.4.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO₂)

Sob anestesia, a PaCO₂ era 31,5 mmHg (normal) e, após hipóxia e hipercapnia, passou para 68,3 mmHg. O comportamento da PaCO₂, representando a situação sistêmica do animal, encontra-se na Figura 46. Observa-se diminuição dos níveis de PaCO₂ em todas as situações de fluxo.

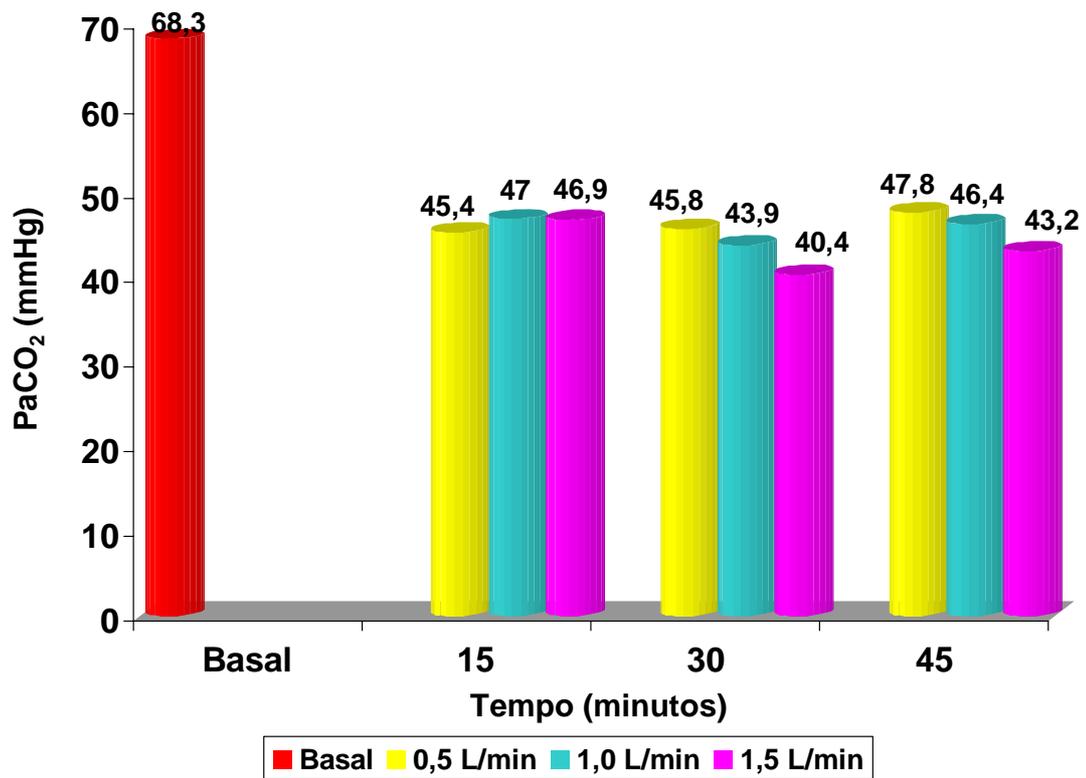


Figura 46: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

Os resultados da pCO₂ na saída do oxigenador estão na Figura 47.

Houve redução acentuada em todas as situações de fluxo, notadamente com 1,0 e 1,5 L/min, indicando boa performance mecânica do oxigenador.

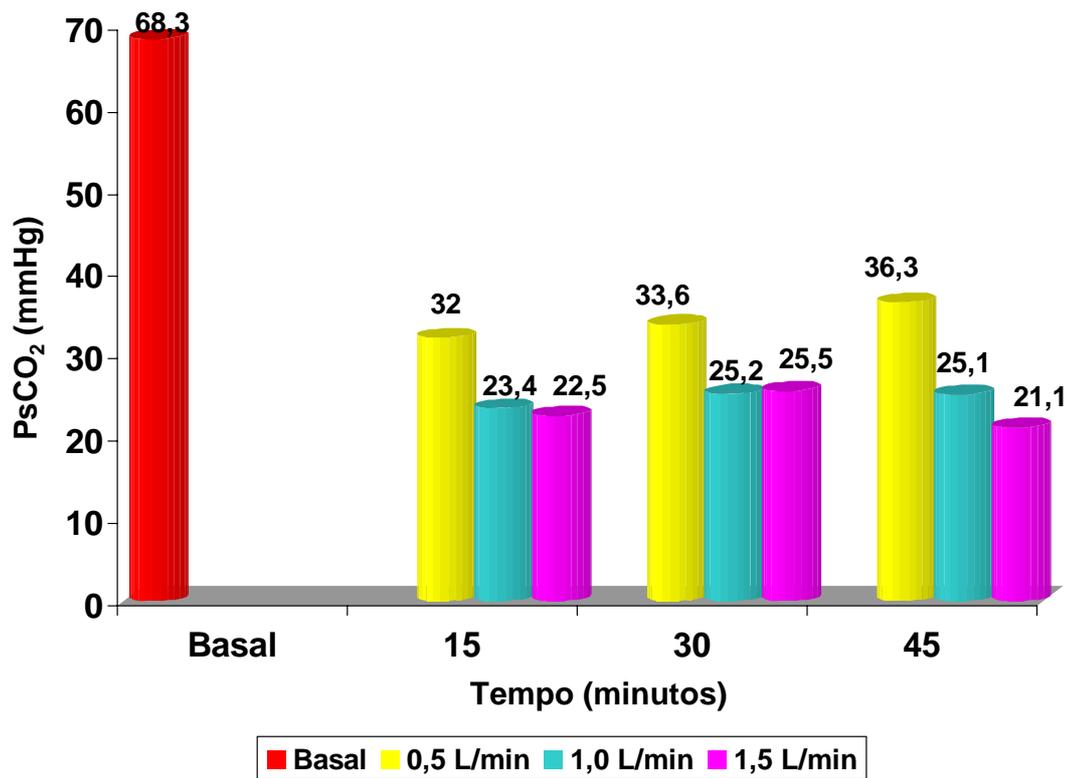


Figura 47: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

Sob anestesia, a pressão parcial de CO₂ venoso era 37 mmHg, com hipóxia e hipercapnia passou para 84,6 mmHg, portanto acima da normalidade. Nota-se na Figura 48 normalização clínica.

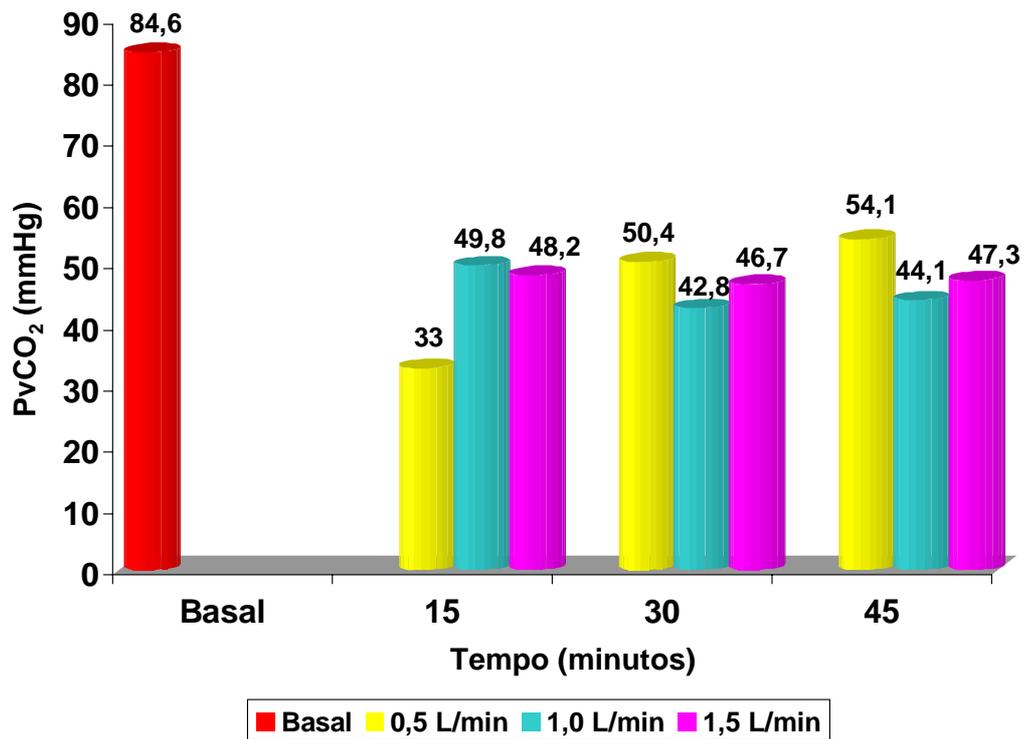


Figura 48: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 4).

3.2.5. Experimento 5

O teste denominado Experimento 5 foi realizado com ovelha de 5 Kg de massa corporal.

3.2.5.1. Saturação de Oxigênio (SO₂)

Sob anestesia, a tomada da saturação de oxigênio arterial (SaO₂) era 100%. Após o animal passar por hipóxia e hipercapnia, a SaO₂ passou para 63,3%. Os níveis de SaO₂ nos tempos de 15, 30 e 45 min em todas as situações de fluxo de oxigênio no oxigenador variaram de 98,7 a 99,4% (Figura 49), indicando excelente performance clínica.

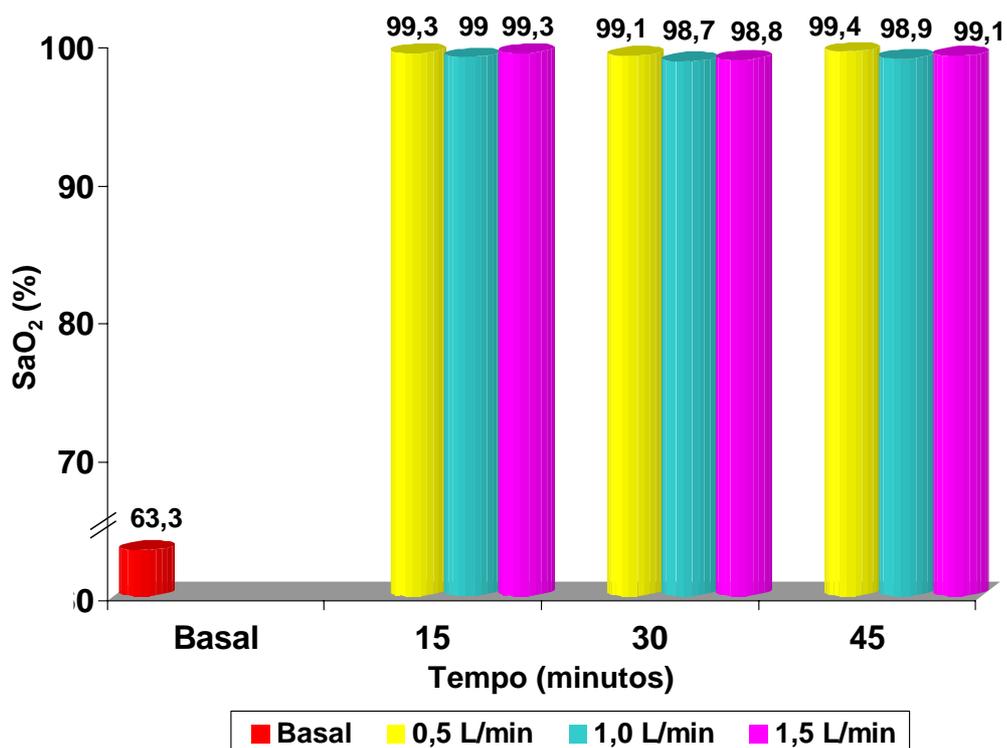


Figura 49: Comportamento da saturação de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

Com relação à saturação de oxigênio na saída do oxigenador, os valores variaram de 99,9 a 100% (Figura 50), demonstrando excelente desempenho mecânico do oxigenador.

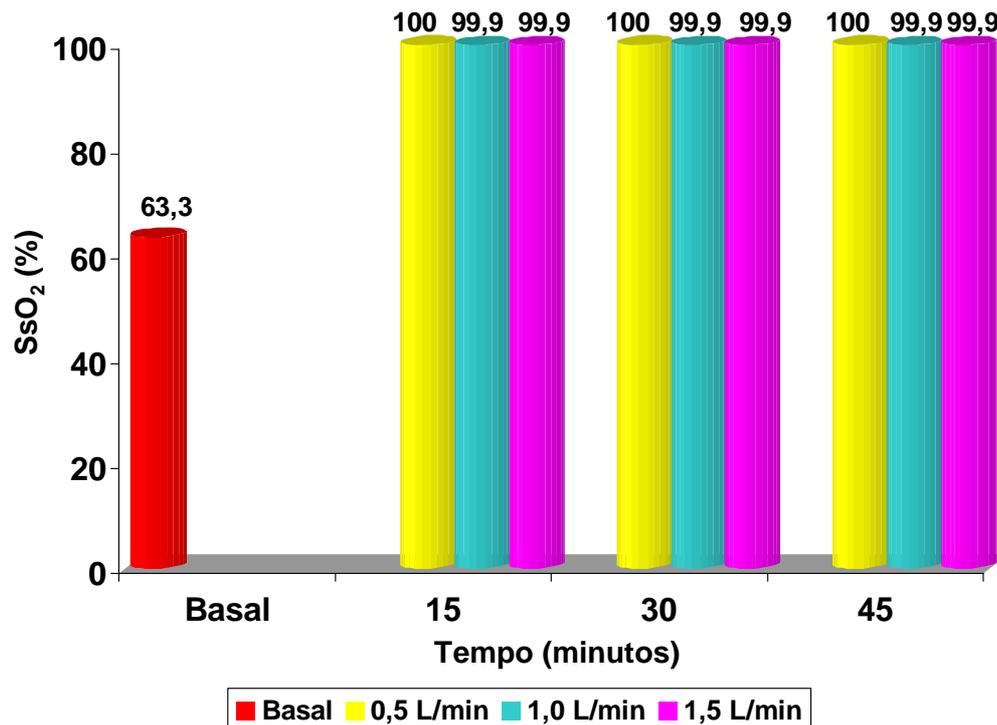


Figura 50: Comportamento da saturação de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

Sob condições anestésicas, a tomada da saturação de oxigênio venoso (SvO₂) foi 96,8%. Após hipóxia e hipercapnia, a SvO₂ passou para 47,5%. Os resultados obtidos estão na Figura 51. Nota-se ganho considerável nos níveis de SvO₂ em todos os tempos e situações de fluxo de oxigênio, revelando boa performance clínica.

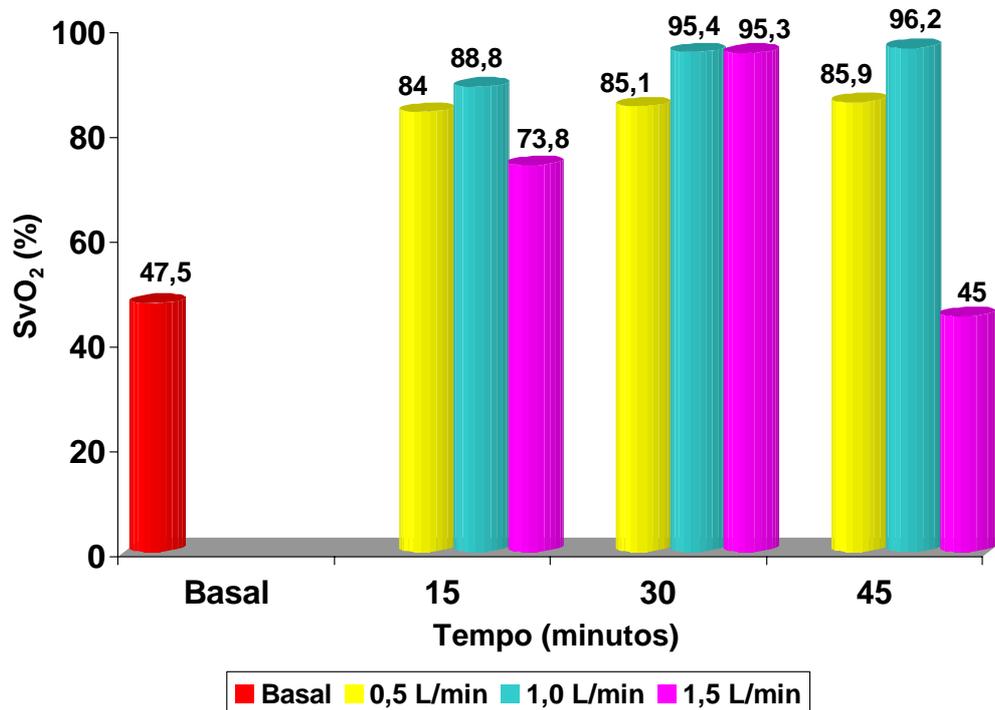


Figura 51: Comportamento da saturação de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

3.2.5.2. Pressão de Oxigênio (pO₂)

Sob anestesia, a PaO₂ era 550,8 mmHg. Após hipóxia e hipercapnia, chegou-se a uma PaO₂ de 37,2 mmHg. O TCA inicial era 107s e, após heparinização (3 mg/kg), passou para 421 s. Nesse instante, o oxigenador foi acionado no circuito.

O comportamento dos níveis de PaO_2 está na Figura 52. Observa-se excelente melhora clínica demonstrada pelo aumento nos níveis de PaO_2 em todos os tempos e situações de fluxo.

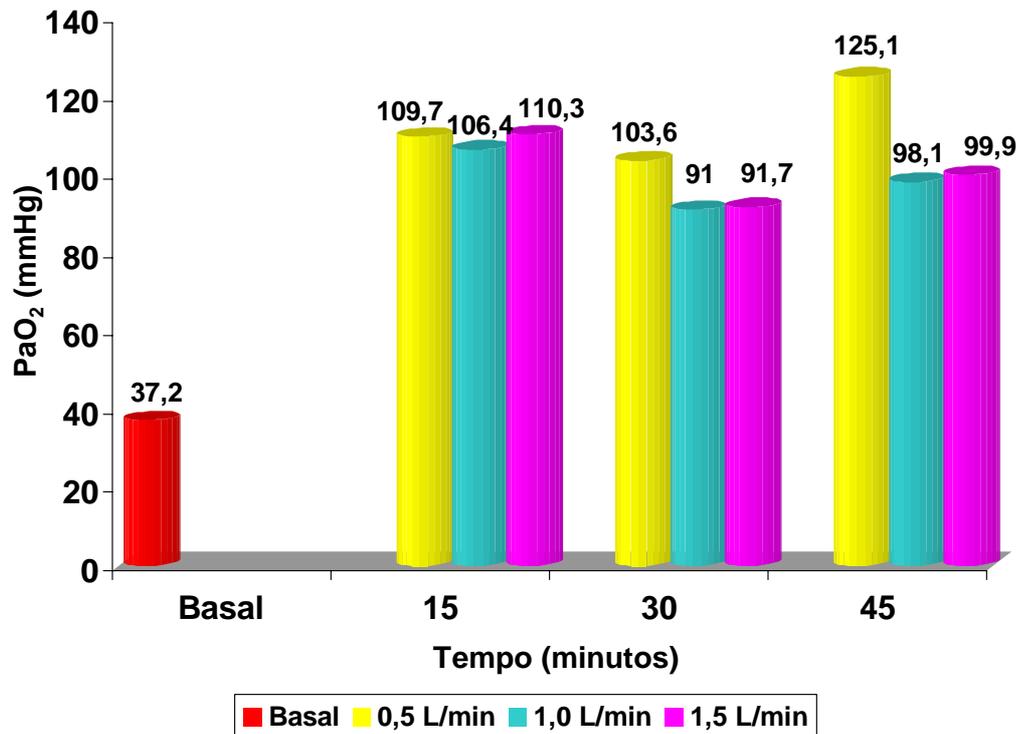


Figura 52: Comportamento da pressão parcial de oxigênio arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

Com relação à pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador (PsO_2), os resultados obtidos mostraram uma performance mecânica do oxigenador plenamente satisfatória (Figura 53).

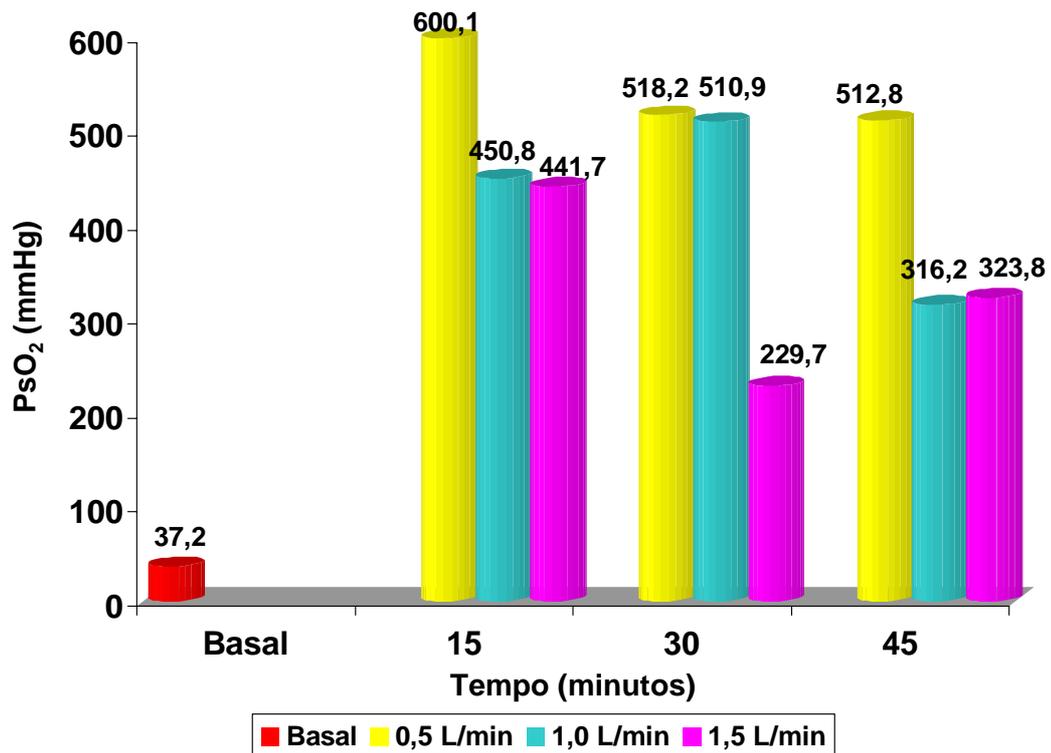


Figura 53: Comportamento da pressão parcial de oxigênio na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

Sob anestesia, a pressão parcial de oxigênio venoso (PvO₂) era 90,1 mmHg. Após o animal ser submetido à hipóxia e hipercapnia por retirada do O₂ do respirador e diminuição da frequência respiratória, chegou-se a uma PvO₂ de 30,8 mmHg, observando-se melhora clínica (Figura 54).

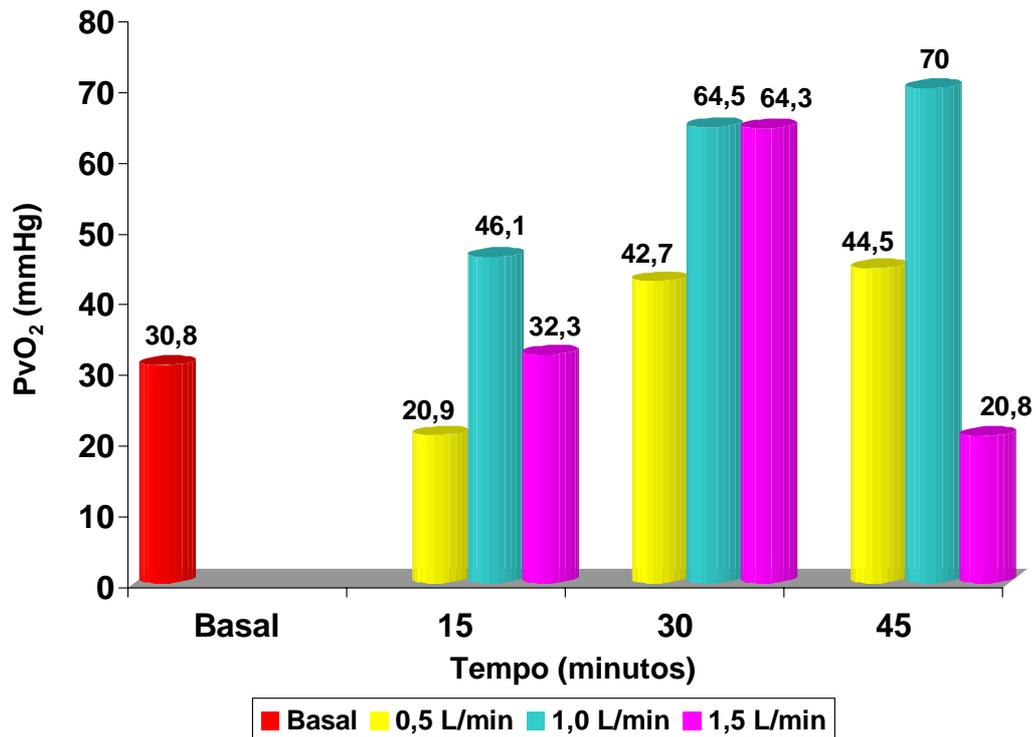


Figura 54: Comportamento da pressão parcial de oxigênio venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

3.2.5.3. Pressão de Dióxido de Carbono (pCO₂)

Sob anestesia, a PaCO₂ era 21,8 mmHg, após hipóxia e hipercapnia passou para 61,4 mmHg. O comportamento da PaCO₂, representando a situação sistêmica do animal, encontra-se na Figura 55. Observa-se acentuada diminuição dos níveis de PaCO₂ em todas as situações de fluxo.

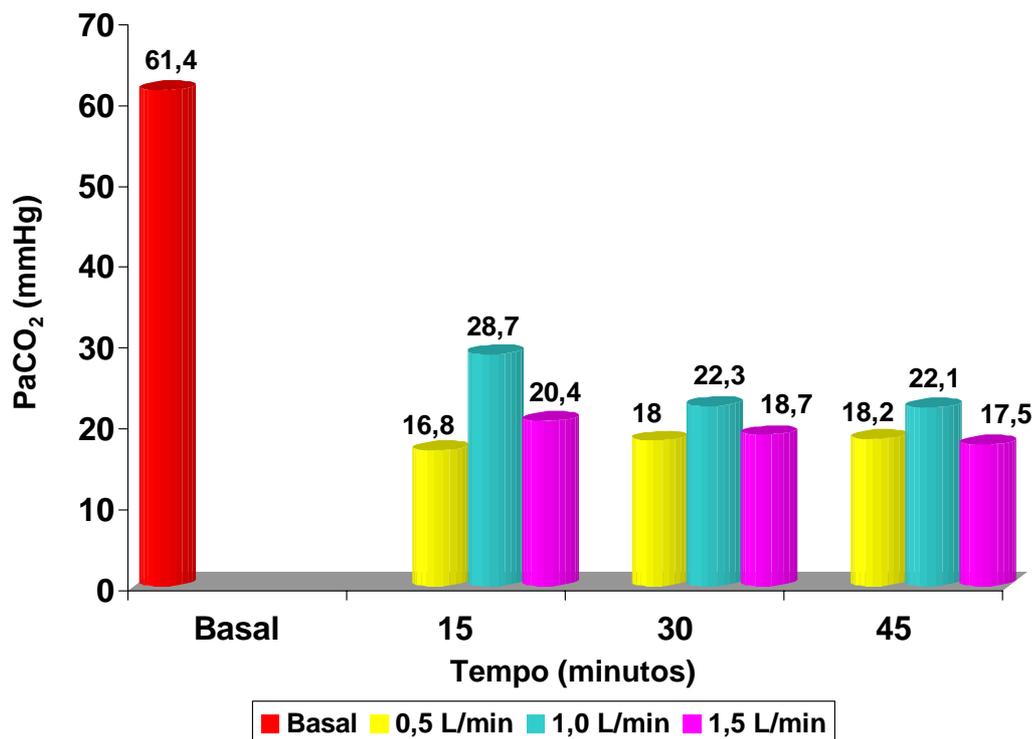


Figura 55: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono arterial nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

Os resultados da pCO₂ na saída do oxigenador estão na Figura 56.

Observa-se redução acentuada em todas as situações de fluxo, indicando boa performance mecânica do oxigenador.

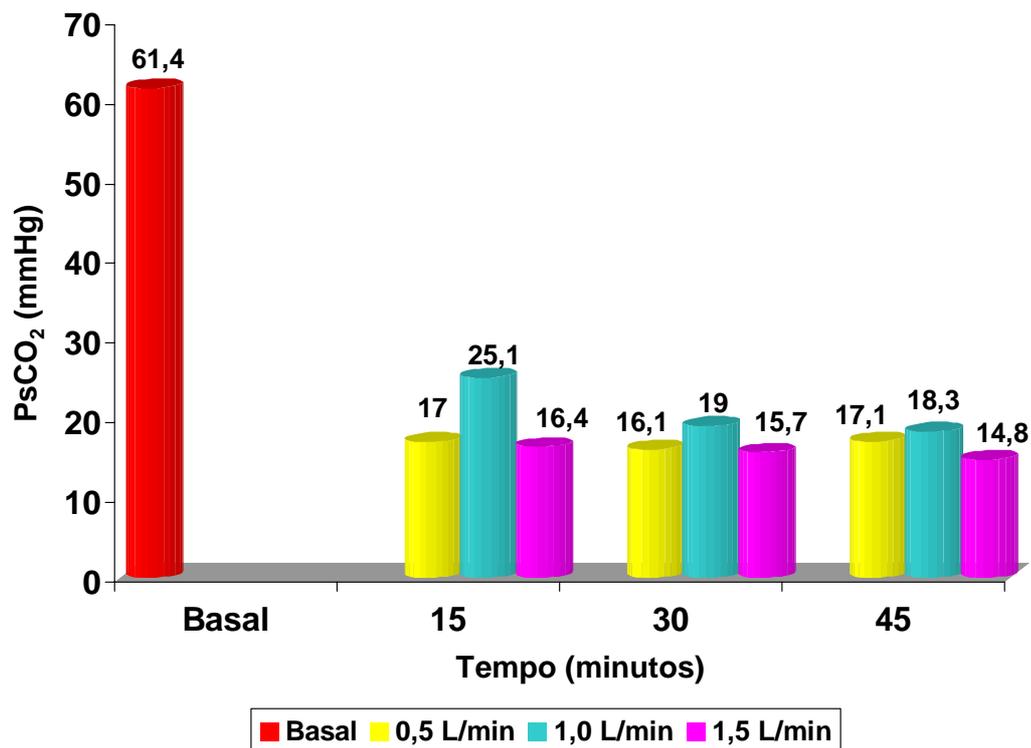


Figura 56: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono na saída do oxigenador nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

Sob anestesia, a pressão parcial de CO₂ venoso era 21,8 mmHg, com hipóxia e hipercapnia passou para 50,1 mmHg, portanto acima da normalidade. Nota-se na Figura 57 diminuição acentuada em todos os fluxos com normalização clínica.

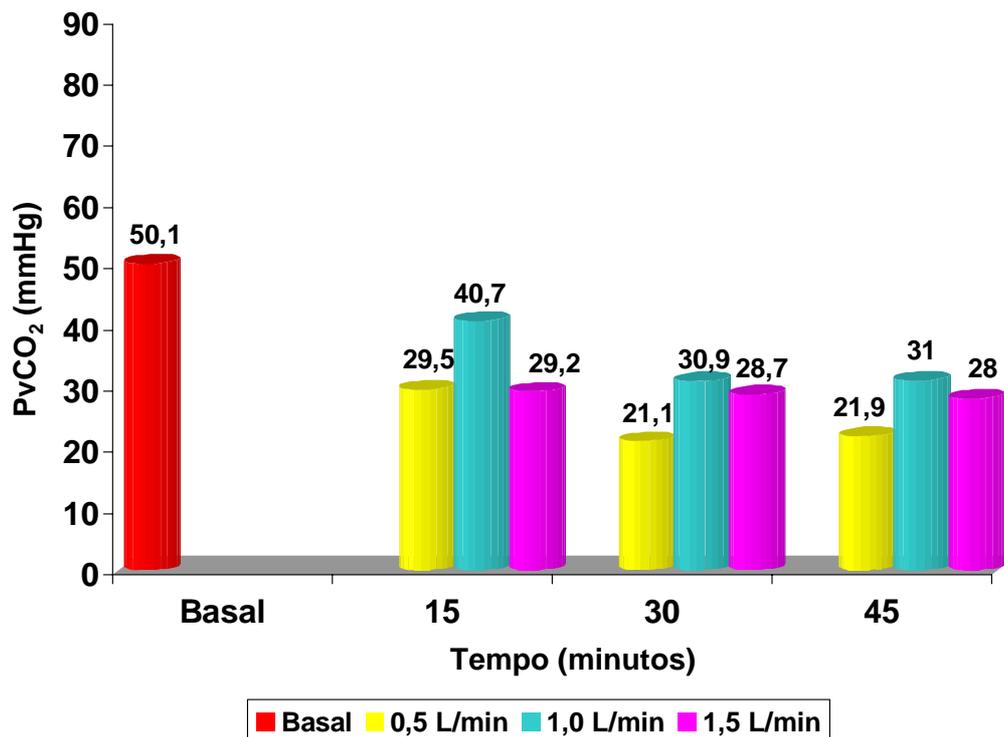


Figura 57: Comportamento da pressão parcial de dióxido de carbono venoso nos tempos de 15, 30 e 45 min com fluxo de oxigênio no oxigenador de 0,5, 1,0 e 1,5 L/min (experimento 5).

3.3. Fluxo Ideal de Sangue através do Oxigenador

Com base nos dados da tabela 3 o fluxo sanguíneo através do oxigenador variou de 238,9 mL/min (carneiro 3) a 281,1 mL/min (carneiro 1), com média de 257,5 mL/min. As volemias, calculadas na base de 7% do peso corporal, variaram de 350 mL (carneiro 5) a 2310 mL (carneiro 1), com média de 1183 mL. Foi verificado que, com diminuição progressiva da volemia (carneiros com pesos progressivamente menores) e, por outro lado,

praticamente manutenção do fluxo sanguíneo pelo oxigenador, houve desempenho progressivamente melhor do oxigenador. O fluxo proporcional em relação à volemia variou de 12,2% (carneiro 1) a 69,8% (carneiro 5). Considerando-se que os melhores desempenhos clínicos em relação à PaO₂, PaCO₂ e SaO₂ foram nos carneiros 3, 4 e 5, como já mostrado anteriormente, pode-se estabelecer o limite de corte em cerca de 20% da volemia, como fluxo ideal necessário para bom desempenho do oxigenador (Tabela 3).

Tabela 3: Volemias, fluxos sanguíneos médios e proporção em relação à volemia nos cinco carneiros estudados.

Animal	Volemia (mL)	Fluxo Sanguíneo Médio pelo Oxigenador (mL/min)	Proporção Fluxo Oxigenador / Volemia (%)
1	2310	281,1	12,2
2	1540	271,1	17,6
3	1050	238,9	22,8
4	665	252,2	37,9
5	350	244,4	69,8

3.4. Comportamento do Hematócrito

Com base nos dados seriados do hematócrito, pode-se verificar que variou de 21% a 17% no carneiro 1, de 36% a 33% no carneiro 2, de 31% a 25% no carneiro 3, de 14% a 12% no carneiro 4 e de 27% a 26% no carneiro 5. As quedas proporcionais do hematócrito foram respectivamente de 19,0%, 8,3%, 19,4%, 14,3% e 3,7% mostrando que mesmo após 9 horas de experimento total ou cerca de 6 horas de uso do oxigenador, em média, não ocorreu hemólise significativa, valendo lembrar que nenhum carneiro recebeu transfusão sangüínea (Tabela 4).

Tabela 4: Comportamento seriado do hematócrito (Htc) ao longo do experimento e sua queda relativa ao valor inicial.

Htc Inicial	Intermediário 1	Intermediário 2	Htc Final	Queda Relativa (%)
21	19	17	17	19,0
36	32	33	33	8,3
31	25	25	25	19,4
14	14	14	12	14,3
27	26	26	26	3,7

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, o método utilizado para produção da hipoxemia e hipercapnia foi a diminuição progressiva da frequência de disparo do respirador associada à suspensão da administração de oxigênio, mantendo-se apenas ar ambiente, até que as condições iniciais preconizadas fossem alcançadas (método por asfixia). Essa técnica foi escolhida porque a intenção, por questões éticas, era manter o animal vivo após o experimento. A utilização de ácido oléico por via endovenosa, como fizeram Chapman *et al.*⁽²³⁾ e Gomes *et al.*⁽²⁶⁾ para produção de insuficiência respiratória, é bastante eficaz, mas lesa os pulmões de forma irreversível, obrigando ao sacrifício do animal ao final do experimento. O método por asfixia tem respaldo na literatura, tendo sido empregado por Rashkind *et al.*⁽³⁶⁾ e Ohtake *et al.*⁽²²⁾ entre outros. Foi possível obter valores baixos de PO₂ e SO₂ compatíveis com a situação clínica de insuficiência respiratória com

necessidade de suporte, além de aumento considerável da PCO_2 , constatando a validade do método.

Na literatura, a via de acesso vascular para instalação do circuito utilizada em estudos clínicos recentes é artéria femoral para saída e veia femoral contralateral para entrada^(13,27,37).

Pela praticidade, no presente estudo utilizamos a artéria carótida esquerda para retirada do sangue em direção ao oxigenador e a veia jugular interna homolateral para reintrodução. A expectativa, porém, é que na prática diária possam ser utilizadas, em neonatos, a artéria umbilical e a veia umbilical ou, em crianças maiores, a artéria e veia femoral. O acesso femoral já foi empregado por Liebold *et al.*^(13,27) e Bein *et al.*⁽³⁷⁾ em pacientes com insuficiência respiratória grave que não responderam aos métodos convencionais de suporte ventilatório.

Um dos aspectos a considerar refere-se à heparinização do circuito. Utilizamos heparinização total mantendo a TCA acima de 480s para evitar trombose⁽²⁾. Em estudos clínicos realizados por Liebold *et al.*^(13,27), a TCA variou de 120 a 150s. Entretanto, esses autores, algumas vezes, necessitaram de substituição do oxigenador em decorrência de entupimento das fibras do oxigenador por trombos. Na presente pesquisa isso nunca foi necessário, lembrando-se que a fundamentação deste estudo era a avaliação mecânica e funcional do oxigenador. Na aplicação clínica dever-se-á

considerar os riscos prováveis de complicação hemorrágica com a adoção de TCAs elevados.

O fluxo de entrada do oxigênio no oxigenador foi de 0,5 L/min, 1,0 L/min e 1,5 L/min, tanto *in vitro* quanto *ex vivo*. Na avaliação *in vitro*, qualquer um desses fluxos foi adequado para melhorar PO₂ e SO₂, porém o fluxo de 0,5 L/min não foi suficiente para reduzir PCO₂. Já *ex vivo*, os resultados foram satisfatórios independente do fluxo utilizado. A comparação com trabalhos experimentais não foi possível devido às diferenças de protocolo, circuito, modelo experimental e tipo de oxigenador.

O oxigenador demonstrou excelente performance mecânica, o que pode ser verificado pelos valores de PO₂, PCO₂ e SatO₂ do sangue na saída do oxigenador. Vale a pena destacar a evolução documentada no experimento 4, no qual a performance para melhora de PO₂ no sangue da saída do oxigenador foi bem inferior ao observado nos quatro animais restantes.

Para explicar os resultados referentes ao comportamento da pressão parcial de oxigênio no experimento 4, que resultou ser inferior na avaliação da sua saída do oxigenador, há de se considerar dois aspectos inter-relacionados: a) a oxigenação molecular da hemoglobina; b) a condição anêmica do animal submetido ao experimento.

A oxigenação molecular da hemoglobina é realizada por meio de etapas sequenciais⁽³⁸⁾. Na primeira etapa o oxigênio fixa-se ao ferro do grupo heme de uma globina alfa; essa fixação é lenta devido à baixa afinidade pelo oxigênio da primeira globina alfa. Nesse momento, a molécula de Hb (α^{O_2} , α/β , β) movimenta-se e expõe átomos de hidrogênio, fato que permite que a oxigenação da outra globina alfa (segunda etapa: α^{O_2} , α^{O_2}/β , β) ocorra com maior afinidade.

A seguir, com as duas globinas alfa oxigenadas, a conformação molecular da hemoglobina altera-se completamente com a exposição de moléculas de 2,3 difosfoglicerato (2,3 DPG), naturalmente acomodada entre as duas globinas beta, para fora da molécula de hemoglobina. A saída do 2,3 DPG permite rápida oxigenação seqüencial das globinas beta; primeiro uma (terceira etapa: α^{O_2} , α^{O_2}/β^{O_2} , β) e depois a outra (quarta etapa: α^{O_2} , α^{O_2}/β^{O_2} , β^{O_2}). Pelo fato das moléculas de hemoglobina estarem solubilizadas e próximas entre si no interior do eritrócito – em média cerca de 270 milhões de moléculas de hemoglobina por eritrócito – a oxigenação entre elas é altamente cooperativa.

Essa cooperação positiva caracteriza-se pelo aumento da probabilidade de outras moléculas de oxigênio ligarem-se a outras moléculas de hemoglobina. Numa visão mais abrangente entre os eritrócitos circulantes, caracterizada pela troca de gases entre os eritrócitos

e em especial ao oxigênio, a cooperatividade está relacionada com o número de eritrócitos em exposição⁽³⁹⁾.

A anemia, caracterizada pela diminuição da concentração de hemoglobina, e muitas vezes acompanhada também pela redução dos eritrócitos, tem influência na baixa cooperatividade da oxigenação das moléculas de hemoglobina. Esse fato traduz-se em menor pressão de oxigênio, quer seja arterial ou venoso.

Do ponto de vista clínico, a melhora de PO_2 e SO_2 e a redução de PCO_2 no sangue arterial sistêmico (artéria femoral do carneiro) foram evidentes nos cinco experimentos. Foi possível observar uma tendência para melhores resultados com pesos inferiores a 10,0 kg. Traduzindo-se essas relações em termos de fluxo sanguíneo e volemia total, os melhores resultados apareceram com proporção fluxo sanguíneo no oxigenador/volemia de 20% ou maior, podendo-se estabelecer esse limite de corte como fluxo ideal necessário para bom desempenho do oxigenador.

Em termos de complicações destaca-se a ausência de intercorrências relacionadas à parte técnica do procedimento. Apesar de não ter sido o objetivo do presente estudo, não houve evidências de trauma sanguíneo significativo. A utilização do gradiente de pressão arteriovenoso para impulsionar o sangue através do sistema, seguramente é um ponto positivo

nesse sentido. A facilidade técnica para instalação do circuito também deve ser destacada.

5. CONCLUSÕES

Os testes de performance *in vitro* e desempenho *ex vivo*, realizados com o oxigenador de membrana de baixa resistência ao fluxo, para uso em circulação extracorpórea arteriovenosa, sem o auxílio de bomba propulsora, mostraram resultados suficientes para concluir que tais dispositivos são capazes de fornecer Oxigênio e retirar gás Carbônico do sangue em quantidades suficientes para manter tais parâmetros em níveis aceitáveis, quando a ventilação está prejudicada.

Perspectiva Futura

Destes resultados fica implícita a possível aplicação do dispositivo em recém-nascidos e crianças até 10 kg, em situação de insuficiência respiratória grave, parcialmente assistidos por ventilação mecânica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alpard SK, Zwischenberger JB. Adult extracorporeal membrane oxygenation for severe respiratory failure. *Perfusion* 1998;13:3-15.
2. Souza MHL, Elias DO. Fundamentos de circulação extracorpórea. Rio de Janeiro: Centro Editorial Alfa Rio; 1995.
3. Potts WJ, Riker WL, DeBord R, Andrews CE. An experimental study of respiration maintained by homologous lungs. *J Lab Clin Med* 1951;38:281-5.
4. Gibbon JH. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minnesota Med* 1954;37:171-80.
5. Kolff WJ, Effler DB, Groves LK, Peereboom G, Moraca PP. Disposable membrane oxygenator (heart-lung machine) and its use in experimental surgery. *Cleveland Clin Quart* 1956;23:69-97.
6. Kolff WJ, Berk Jr HT, ter Welle M, van der LEY AJ, van Dijk EC, van Noordwijk J. The artificial kidney: a dialyser with a great area. 1944. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1959-65.
7. Clowes Jr GHA, Neville WE. The membrane oxygenator. In: Allen JG, editor. *Extracorporeal circulation*. Springfield: Charles C. Thomas; 1958, p. 81-100.
8. Marx TI, Snyder WE, St. John AD, Moeller CE. Diffusion of oxygen into a film of whole blood. *J Appl Physiol* 1960;15:1123-9.

9. Heiss KF, Bartlett RH. Extracorporeal membrane oxygenation: an experimental protocol becomes a clinical service. *Adv Pediatr* 1989;36:117-35.
10. Weber TR, Connors RH, Tracy Jr TF, Bailey PV, Stephens C, Keenan W. Prognostic determinants in extracorporeal membrane oxygenation for respiratory failure in newborns. *Ann Thorac Surg* 1990;50:720-3.
11. Bartlett RH, Gazzaniga AB, Wetmore NE, Rucker R, Huxtable RF. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) in the treatment of cardiac and respiratory failure in children. *Trans Am Soc Artif Int Organs* 1980;26:578-81.
12. Bartlett RH, Roloff DW, Cornell RG, Andrews AF, Dillon PW, Zwischenberger JB. Extracorporeal circulation in neonatal respiratory failure: a prospective randomized study. *Pediatrics* 1985;76:479-87.
13. Liebold A, Reng CM, Philipp A, Pfeifer M, Birnbaum DE. Pumpless extracorporeal lung assist: experience with the first 20 cases. *Eur J Cardio-thoracic Surg* 2000;17:608-13.
14. Moscardini AC, Godoy MF, Braile DM, Godoy JMP, Soares MJ, Brandi AC, SL Ramin. Oxigenação extracorpórea por membrana e alterações hematológicas em estudo experimental. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2002;24: 97-104.
15. De Puydt LE, Schuit KE, Smith SD. Effect of extracorporeal membrane oxygenation on neutrophil function in neonates. *Crit Care Med* 1993;21: 1324-7.
16. Graulich J, Walzog B, Marcinkowski M, Bauer K, Kossel H, Fuhrmann G, et al. Leukocyte and endothelial activation in a laboratory model of extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Pediatr Res* 2000;48:679-84

17. Faulkner SC, Chipman CW, Baker LL. Trouble shooting the extracorporeal membrane oxygenator circuit and patient. *J Extra-Corpor Technol* 1993;24:120-9.
18. Adrian K, Mellgren K, Skogby M, Friberg LG, Mellgren G, Wadenvik H. Cytokine release during long-term extracorporeal circulation in an experimental model. *Artif Organs* 1998;22:859-63.
19. Zapol WM, Snider MT, Hill JD, Fallat R, Bartlett R, Edmunds H, et al. Extracorporeal membrane oxygenation in severe acute respiratory failure: a randomized prospective study. *J Am Med Assoc* 1979;242:2193-9.
20. Steltzer H, Krafft P, Fridrich P, Hammerle F. Severity and outcome of ARDS: the present place of extracorporeal lung assist (ECLA). *Int J Artif Org* 1995;18:607-10.
21. Bartlett RH. Extracorporeal life support registry. *ASAIO J* 1997;43:104-7.
22. Ohtake S, Kawashima Y, Hirose H, Matsuda H, Nakano S, Kaku K, et al. Experimental evaluation of pumpless arteriovenous ECMO with polypropylene hollow fiber membrane oxygenator for partial respiratory support. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1983;29:237-41.
23. Chapman J, Adams M, Geha AS. Hemodynamic response to pumpless extracorporeal membrane oxygenation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;99:741-50.
24. Kasama A, Katada M, Kaya K, Ohmura M, Tahara H, Ohara T. A simple method of extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)--3. The effects of pumpless ECMO (arterio-venous shunt) on arterial blood gas easured for 24 hours. *Masui* 1990;39:162-7.

25. Nishimura O. Experimental study of pumpless ECMO during 24 hours using extracapillary blood flow type polypropylene membrane oxygenator. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*. 1990;38:999-1005.
26. Gomes WJ, Beppu OS, Palma JH, Perfeito JA, Biscegli JF, Buffolo E. Respiração artificial com oxigenador de membrana extracorpórea em posição artério-venosa sem bomba: estudo experimental. *Arq Bras Cardiol* 1993;61:93-7.
27. Liebold A, Philipp A, Kaiser M, Merk J, Schmid FX, Birnbaum DE. Pumpless extracorporeal lung assist using an arterio-venous shunt: applications and limitations. *Minerva Anesthesiol* 2002;68:387-91.
28. Awad J, Rao TJ, Deslauriers J, Martin L, Lautier A, Guidoin R. Cardiopulmonary dynamics during pumpless arteriovenous bypass for respiratory assistance. *Int J Artif Organs* 1990;13:672-80.
29. Andrews AF, Toomasian J, Oram A, Bartlett RH. Total respiratory support with venovenous (VV) ECMO. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*. 1982;28:350-3.
30. Griffith BP, Borovetz HS, Hardesty RL, Hung T, Bahnson HT. Cardiopulmonary dynamics during arteriovenous perfusion: cardiac output, pulmonary arterial resistance, and right ventricular stroke work. *Ann Thorac Surg* 1980;29:49-56.
31. Borovetz HS, Griffith BP, Hung TK. Arteriovenous perfusion with the pulmonary assist membrane oxygenator. *Int J Artif Organs* 1978;1:232-8.
32. Bohr DF. The pulmonary hypoxic response: state of the field. *Chest* 1977;71:244-6.

33. Griffith BP, Borovetz HS, Hardesty RL, Hung T, Bahnson HT. Arteriovenous ECMO for neonatal respiratory support: a study in perigestational lambs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979;77:595-601.
34. Seyfert UT, Biehl V, Schenk J. In vitro hemocompatibility testing of biomaterials according to the ISO 10993-4. *Biomolecular Engineering* 2002;19:91-6.
35. Committee on Care and Use of Laboratory Animals - Institute of Laboratory Animal Resources - Commission on Life Sciences - National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, 1996, 125 p.
36. Rashkind WJ, Freeman A, Klein D, Toft RW. Evaluation of a disposable plastic, low volume, pumpless oxygenator as a lung substitute. *J Pediatr* 1965;66:94-102.
37. Bein T, Prasser C, Philipp A, Müller T, Weber F, Schlitt HJ, et al. Pumpless extracorporeal lung assist using arterio-venous shunt in severe ARDS: experience with 30 cases. *Anaesthesist* 2004;53:813-819.
38. Lehninger AL. *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier; 1995.
39. Salway JG. *Metabolism at glance*. Oxford: Blackwell Publishing; 2004.