

Hemólise na circulação extracorpórea: correlação com tempo e procedimentos realizados

Hemolysis in extracorporeal circulation: relationship between time and procedures

Francisco Ubaldo Vieira Junior¹, Nilson Antunes², Reinaldo Wilson Vieira², Lúcia Madalena Paulo Álvares³, Eduardo Tavares Costa⁴

DOI: 10.5935/1678-9741.20120095

RBCCV 44205-1420

Resumo

Introdução: A circulação extracorpórea (CEC) é indispensável para a maioria das operações cardíacas, mas causa danos significantes ao sangue, dentre eles a hemólise.

Objetivo: Quantificar as taxas de hemólise em diferentes tempos nas operações para revascularização do miocárdio com uso de CEC.

Métodos: Foram medidas as taxas de hemólise de 22 pacientes em 6 tempos distintos durante a revascularização do miocárdio com uso de CEC: T0 - antes do início da CEC, T1 - 5 minutos após o início da CEC, T2 - com 30 minutos de CEC, T3 - imediatamente antes do despinçamento da aorta, T4 - imediatamente antes da passagem do volume residual para o paciente e T5 - 5 minutos após o término da passagem do volume residual para o paciente. Foram calculadas as taxas de hemólise entre os intervalos de tempo: T0-T1; T1-T2; T2-T3; T3-T4 e T4-T5.

Resultados: Os primeiros 5 minutos após a CEC demonstraram maior taxa de hemólise ($P = 0,0003$) em comparação às outras taxas calculadas, representando 29%

da hemólise total até T4 (imediatamente antes da passagem do volume residual para o paciente).

Conclusão: Não foram observadas variações significantes nas taxas de hemólise durante a aspiração na raiz da aorta ($P > 0,38$) nem com o procedimento utilizado para a passagem do volume residual de sangue no circuito para os pacientes.

Descritores: Circulação extracorpórea. Hemólise. Sangue.

Abstract

Introduction: Extracorporeal circulation (EC) is very important in cardiac surgery but causes significant damage to the blood, including hemolysis.

Objective: To quantify the rate of hemolysis at different times during EC in elective coronary artery bypass grafting.

Methods: We measured rates of hemolysis of 22 patients at 6 different times during myocardial revascularization during EC: T0 - before the start of EC, T1 - five minutes after of the EC initiation, T2 - 30 minutes of EC, T3 - immediately before

1. Doutor; Instituto Federal de São Paulo (Professor) - Todos os envolvidos tiveram a mesma contribuição.

2. Doutor; Universidade Estadual de Campinas.

3. Enfermeira Perfusionista.

4. Doutor; University of London.

Endereço para correspondência:

Francisco Ubaldo Vieira Jr

Rua Alexander Fleming, 105 – Cidade Universitária Zeferino Vaz – Campinas, SP, Brasil – CEP 13083-970.

E-mail: fubaldo@terra.com.br

Abreviaturas, acrônimos & símbolos

CEC	Circulação extracorpórea
HLp	Hemoglobina livre no plasma
Ht	Hematócrito
PVC	Polivinilclorido
RPM	Rotações por minuto
Tx	Taxa de hemólise
TxG	Taxa de hemólise global

the aortic unclamping, T4 - immediately before passage of the residual volume to the patient and T5 - five minutes after the passage of the residual volume to the patient. Rates of

hemolysis were calculated between the intervals of time: T0-T1; T1-T2; T2-T3; T3-T4 and T4-T5.

Results: The first 5 minutes after the EC showed the highest rate of hemolysis ($P = 0.0003$) compared to the others calculated rates, representing 29% of the total haemolysis until T4 (Immediately before passage of the residual volume to the patient).

Conclusion: There were no significant changes in the rate of hemolysis during the suction in the aortic root ($P > 0.38$), nor with the procedure used for the passage of the residual volume of blood in the circuit to the patient.

Keywords: Extracorporeal circulation. Hemolysis. Blood.

INTRODUÇÃO

A circulação extracorpórea (CEC) é a tecnologia que possibilitou o grande avanço da cirurgia cardíaca. Embora seja uma técnica imprescindível para correções da maior parte das doenças cardíacas que necessitam de correção cirúrgica, ainda traz consigo particularidades intrínsecas que promovem dano ao organismo. Dentre essas alterações destacamos a lesão aos elementos figurados do sangue, em especial a hemólise.

A hemólise é encontrada em todos os procedimentos cirúrgicos que utilizem circuitos extracorpóreos, como demonstrado em vários estudos que identificam níveis crescentes de hemoglobina livre no plasma e diminuição dos níveis de haptoglobina durante e após a CEC [1].

A hemólise pode ocorrer de três formas distintas: por seleção natural do baço, por desequilíbrio físico-químico (geralmente patológico), ou pela exposição das células a condições não-fisiológicas de solitação mecânica [2].

No caso de CEC, a hemólise acontece por solitação mecânica, seja pelo efeito de trauma direto pela passagem do sangue pelos roletes ou pela exposição a diferentes superfícies sobre diferentes velocidades.

Os aspectos hemolíticos têm sido estudados por diversos pesquisadores, na tentativa de entender e isolar os fatores causadores da hemólise [2-5]. Experimentalmente, as hemácias podem ser danificadas durante o fluxo por dois fatores atuando ao mesmo tempo: o nível de tensão de cisalhamento e o tempo de exposição da célula a essa tensão [2,6,7]. Em fluxos com tensão de cisalhamento alta e tempo de exposição relativamente baixo, espera-se baixa taxa de hemólise. Por outro lado, encontraremos taxa de hemólise alta quando o fluxo apresentar baixa tensão de cisalhamento, mas com tempo de exposição suficientemente longo. Por isso, um dos requisitos básicos para desenvolvimento de bomba cardíaca é um

compromisso ótimo entre tensão de cisalhamento e tempo de exposição.

Na bomba de CEC dois roletes excursionam dentro de um leito rígido (caçapa), comprimindo um tubo flexível para promover o deslocamento de fluido (sangue). O ajuste das bombas de roletes é um fator importante nas taxas de hemólise. A calibração é a técnica de ajuste da distância entre o rolete e o leito rígido (oclusão), e tem como finalidade determinar o ponto onde o rolete apenas colapsa internamente o tubo, sem comprimir suas paredes.

O método estático ou medida de velocidade de queda é o mais utilizado no Brasil [8] e consiste em observar a queda de uma coluna líquida, representando a resistência contra a qual a bomba irá trabalhar. Convencionalmente, a oclusão é ajustada para permitir uma velocidade de queda de 2,5 cm/min, a partir de uma coluna de aproximadamente 1.000 mm de solução fisiológica. Contudo, poucos profissionais usam efetivamente a metodologia preconizada na literatura [6]. Essa técnica também apresenta dificuldades operacionais para uso em centro cirúrgico aliada à falta de reprodutibilidade quando realizada com tubos de silicone [3,9].

A hemodiluição é desejável em CEC e hematócritos entre 20% a 30% são aceitos como adequados para manutenção de fornecimento de oxigênio para os tecidos e por promoverem efeito protetor, impedindo o contato entre as hemácias e lise ao passar pelos roletes.

Estudos demonstram que a aspiração, durante procedimentos envolvendo CEC, é responsável por hemólise importante [10,11] e que a pressão negativa e a exposição do sangue ao ar, quando atuando isoladamente, não produzem hemólise, mas sim com a combinação dos dois fatores [12].

As peculiaridades de cada serviço nos procedimentos de CEC também podem influenciar nas taxas de hemólise (aspiração na raiz da aorta para prevenção de embolia

aérea e a passagem do volume residual do sistema de CEC para o paciente).

O objetivo deste estudo foi quantificar as taxas de hemólise em diferentes tempos associados a procedimentos de CEC em operações para revascularização do miocárdio.

MÉTODOS

Este trabalho mediu o grau de hemólise durante a CEC em operações para revascularização do miocárdio em hospital público do estado de São Paulo – Brasil. Este estudo foi previamente submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição, tendo sido aprovado sob o nº 0749.0.146.000-08.

Foram analisados 22 pacientes adultos no período de março a agosto de 2010. Foram incluídos na pesquisa pacientes maiores de 18 anos, sem restrição ao gênero, a serem submetidos à revascularização do miocárdio isolada. Foram excluídos portadores de problemas cognitivos, pacientes grávidas e pacientes que se recusaram a assinar o consentimento informado.

Foi utilizada para a movimentação do sangue uma bomba de roletes tipo “De Bakey” (um módulo bomba arterial, dois módulos bomba aspiradores e um módulo bomba de cardioplegia sanguínea), e oxigenação foi realizada com o auxílio de um oxigenador de membrana, todos fabricados por Braile Biomédica Ltda.

A tubulação usada em todas as cirurgias foi de polivinilclorido (PVC) com 3/8 polegada de diâmetro interno arterial e 1/2 polegada de diâmetro interno para a drenagem venosa e 1/4 polegada de diâmetro interno para os aspiradores. Foi utilizado tubo de silicone com 1/2 polegada de diâmetro interno para movimentação do sangue pela bomba de roletes. No circuito de CEC, utilizou-se o filtro do reservatório venoso do oxigenador com capacidade de filtração de partículas maiores que 100 micrômetros e, na linha arterial, um filtro de 40 micrômetros, fabricados por Braile Biomédica Ltda.

A lavagem do circuito extracorpóreo foi realizada utilizando-se solução de ringer lactato, que foi desprezado após efetiva circulação, sendo substituído por novo volume da mesma solução, conforme técnica padronizada.

A formação do prime levou em conta o valor do hematócrito prévio do doente, calculando hemodiluição entre 25% e 30%. O prime foi composto por ringer lactato com albumina ou misto (ringer lactato + albumina + concentrado de hemácias), quando os cálculos de hemodiluição demonstrassem hematócrito abaixo do desejado.

Ao final da CEC, o volume residual do oxigenador e circuito arterial foi transferido para o reservatório venoso, pela inversão da tubulação do leito rígido (caçapa) do rolete arterial da bomba de roletes e, infundido na flebotomia da

veia safena magna, que foi cateterizada depois de retirada da mesma no campo cirúrgico. Para tanto, foi utilizado o circuito de cardioplegia com prévia ligação realizada com a tubulação de saída do reservatório venoso. O sangue foi aspirado do reservatório venoso e bombeado pelo rolete de cardioplegia, passando pelo reservatório de cardioplegia até atingir a rede venosa do paciente. Essa infusão não ultrapassou o fluxo de 200 ml/min.

A bomba de roletes foi ajustada conforme o seguinte procedimento: o circuito da bomba foi preenchido, realizada a retirada de ar, retirada de volume e substituição para formação do prime. Com a bomba parada, a linha arterial e a linha de cardioplegia foram pinçadas. Foi mantida aberta apenas a linha de recirculação que comunica a câmara de oxigenação com o reservatório venoso, que tem comprimento de aproximadamente 50 cm. O rolete A foi posicionado no local de maior oclusão, verticalmente ao centro do leito rígido. O ajuste foi realizado permitindo queda do líquido na velocidade de 15 cm/min pela linha de recirculação. O procedimento foi repetido para o rolete B.

Durante o procedimento, foram coletadas 6 amostras de sangue de 3 ml cada, nos seguintes tempos: T0 - antes do início da CEC, T1 - 5 minutos após o início da CEC, T2 - com 30 minutos de CEC, T3 - imediatamente antes do despinçamento da aorta, T4 - imediatamente antes da passagem do volume residual para o paciente e T5 - 5 minutos após o término da passagem do volume residual para o paciente.

Durante as coletas foram registrados os valores de: hematócrito, hemoglobina, temperatura nasofaríngea, pressão arterial superior e rotação da bomba arterial.

A hemoglobina livre no plasma (HLp) foi calculada pelo método de Drabkin & Austin [13] com o auxílio de um espectrofotômetro Bioplus 200F (Bioplus, São Paulo, Brasil).

O hematócrito (Ht) foi medido simultaneamente à retirada das amostras de sangue para gasometria (Radiometer ABL3, Copenhagen) e os dados relativos à medida da HLp no instante t foram “corrigidos” para a hemodiluição de acordo com a fórmula:

$$HLp = \frac{HLp(t) \cdot Ht_{base}}{Ht(t)}$$

Equação 1

O valor de Htbase foi considerado a média do hematócrito de todos os pacientes (27,8%).

Foram calculadas as taxas de hemólise (Tx) para os intervalos de tempo descritos abaixo:

$$Tx1 = \frac{HLp1 - HLp0}{T1 - T0}$$

Equação 2. Primeiros 5 minutos de CEC

$$Tx2 = \frac{HLp2 - HLp1}{T2 - T1}$$

Equação 3. 25 minutos de CEC

$$Tx3 = \frac{HLp3 - HLp2}{T3 - T2}$$

Equação 4. Tempo decorrido para procedimentos

$$Tx4 = \frac{HLp4 - HLp3}{T4 - T3}$$

Equação 5. Aspiração na raiz da aorta (uso intensivo de aspirador no momento de liberação da pinça da aorta)

$$Tx5 = \frac{HLp5 - HLp4}{T5 - T4}$$

Equação 6. Passagem de volume residual (manobra de bomba de roletes)

$$TxG = \frac{HLp4 - HLp0}{T4 - T0}$$

Equação 7. Taxa de hemólise global (período de CEC)

$$TxG_1 = \frac{HLp4 - HLp0}{T4 - T0}$$

Equação 8. Taxa de hemólise global dos pacientes que receberam concentrado de hemácias (n = 8)

$$TxG_2 = \frac{HLp4 - HLp0}{T4 - T0}$$

Equação 9. Taxa de hemólise global dos pacientes que não receberam concentrado de hemácias (n = 14)

Foram registrados os pacientes que receberam concentrado de hemácias durante os procedimentos cirúrgicos, bem como o tempo de armazenamento do concentrado no banco de sangue.

Analise estatística

Foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para verificação de normalidade dos dados e a análise de variância foi calculada pelo método de Kruskal-Wallis. A diferença entre os grupos foi calculada pelo método de Student-Newman-Keuls. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparação entre médias. Em todas as análises, o valor $P < 0,05$ foi considerado como estatisticamente significativo.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os dados demográficos dos 22

pacientes, tempo médio de CEC, temperatura média corpórea e hematócrito durante as cirurgias.

A Tabela 2 lista a média dos seis tempos medidos durante a CEC, os respectivos valores calculados de hemoglobina livre no plasma e as taxas de hemólise.

Tabela 1. Dados demográficos dos 22 pacientes e tempo de circulação extracorpórea, temperatura média corpórea e hematócrito. Valores expressos como média e desvio padrão.

Idade (anos)	60 ± 9
Área corpórea (m ²)	1,8 ± 0,2
Gênero (M/F)	11/11
Tempo CEC (min)	83,5 ± 23,5
Temperatura (°C)	35,3 ± 0,4
Hematócrito (%)	27,8 ± 2,7

Tabela 2. Tempos registrados durante a CEC com respectivas medidas de hemoglobina livre no plasma e taxas de hemólise. Valores listados como média ± desvio padrão.

Tempo (min)					
T0	T1	T2	T3	T4	T5
0 ± 0	5,0 ± 0,3	30,5 ± 2,4	64,5 ± 24,3	86,0 ± 31,2	97,0 ± 20,9
HLp (mg/dl)					
HLp0	HLp1	HLp2	HLp3	HLp4	HLp5
8,2 ± 2,5	23,2 ± 7,2	32,8 ± 10,2	48,5 ± 20,4	58,4 ± 23,2	51,5 ± 19,2
Taxa de hemólise (mg/dl/min)					
Tx1	Tx2	Tx3	Tx4	Tx5	TxG
2,9 ± 1,7	0,4 ± 0,4	0,4 ± 0,5	0,6 ± 0,8	- 0,7 ± 1,0	0,6 ± 0,2

Oito pacientes receberam concentrado de hemácias durante o procedimento cirúrgico com tempo de permanência em banco de sangue antes do uso de 1,1 ± 0,4 dias. Cada paciente recebeu apenas uma bolsa de concentrado com 338 ± 22 ml. A taxa de hemólise geral dos pacientes que receberam concentrado de hemácias (TxG1) foi de 0,6 ± 0,2 (mg/dl/min). Nos quatorze pacientes que não receberam concentrado de hemácias, a taxa de hemólise geral (TxG2) foi de 0,6 ± 0,3 (mg/dl/min). Não houve diferenças estatísticas entre os grupos ($P > 0,82$).

A Tabela 3 demonstra a comparação entre as taxas médias de hemólise (ANOVA) entre os cinco grupos com respectivos valores de probabilidade (P -valor). Os dados não apresentaram distribuição normal ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

Está bem definido que os procedimentos cirúrgicos que utilizem CEC promovem dano aos elementos figurados do sangue, em especial às hemácias, identificando níveis crescentes de hemoglobina livre no plasma e diminuição dos níveis de haptoglobina durante e após a CEC [1].

Operações cardíacas com uso de CEC expõem o sangue a uma solicitação física importante, promovendo destruição de células do sangue, com destaque para a hemólise.

A hemólise acontece por inúmeros fatores, que podem ou não estar associados: bomba de roletes sobre oclusão excessiva [14], forças de cisalhamento [2,6,7,15], interface ar-sangue e pressão negativa [12] e superfícies artificiais [14].

Esse trabalho procurou identificar as taxas de hemólise em operações para revascularização do miocárdio com uso de CEC, utilizando o método de calibração estática adaptado às condições do serviço. Essa adaptação foi realizada pela limitação operacional de seu uso em centro cirúrgico e por não ser uma técnica que tenha repetitividade quando usada com tubos de silicone como demonstrado em recentes estudos [3,9]. Também procurou identificar a influência do uso do aspirador de forma mais

Tabela 3. Comparações das taxas de hemólise entre os grupos: Tx1, Tx2, Tx3, Tx4 e Tx5.

Grupos	P -valor
Tx1 e Tx2	< 0,0001
Tx1 e Tx3	< 0,0001
Tx1 e Tx4	0,0003
Tx1 e Tx5	< 0,0001
Tx2 e Tx3	0,78
Tx2 e Tx4	0,38
Tx2 e Tx5	0,0003
Tx3 e Tx4	0,55
Tx3 e Tx5	< 0,0001
Tx4 e Tx5	< 0,0001

intensa (no momento do despinçamento da aorta, com a finalidade de retirar o ar da câmara ventricular esquerda) e da passagem do volume residual do circuito de CEC, nas taxas de hemólise.

A taxa de hemólise Tx1 foi calculada considerando a evolução da hemólise durante os primeiros 5 minutos de CEC e foi a taxa mais alta dentre os intervalos medidos (Tabela 3).

Durante o início da CEC, a hemodiluição é feita com o auxílio do reservatório venoso onde é armazenado o prime. De forma simultânea, o sangue começa a ser drenado para o reservatório venoso e o prime é infundido ao paciente, pelo acionamento da bomba arterial, até que haja uma mistura completa de prime e sangue. Esse procedimento inicial prevê uma pequena fração de tempo onde o sangue passa pelos roletes sem estar diluído. Esse procedimento favorece a quebra das células vermelhas do sangue. Outra consideração importante é que algumas hemácias, já fragilizadas ou envelhecidas e com suas membranas menos flexíveis, ao serem solicitadas mecanicamente pela ação dos roletes são quebradas, aumentando ainda mais as taxas de hemólise.

Diversos trabalhos demonstraram a grande influência do uso de aspiradores de sangue na hemólise [10-12], sendo considerado por alguns a maior causa de destruição das hemácias quando realizada conjuntamente ar-sangue.

Em artigo publicado em 1958, McCaughan et al. [16] demonstraram que a aspiração de ar misturado com sangue contribuía para maior elevação dos níveis de hemólise quando comparado à aspiração intermitente de sangue sem essa interface. Pohlmann et al. [12] demonstraram em estudo in vitro que a hemólise não é causada por exposição ao ar ou pressão negativa isolados, mas pela combinação desses fatores. O aumento da hemólise está diretamente relacionado com o aumento da pressão negativa aplicada na interface gás-sangue.

Em recente estudo, Vieira et al. [17], estudando a espessura da parede do tubo de silicone utilizado na caçapa dos roletes, verificaram que maiores espessura de parede promovem maior força de sucção e, conseqüentemente, maiores pressões de aspiração e tubos de menor espessura apresentaram limitação de fluxo a partir de 60 rotações por minuto (RPM). Nesse caso, a hemólise pode ocorrer nas duas situações acima descritas. A primeira pelo excesso de rotação, possibilitando trauma mecânico provocado por maior rotação, sem aumento respectivo de fluxo. O segundo caso são as elevadas diferenças de pressão proporcionadas por uma espessura de parede maior, o que acarreta tensões de cisalhamento mais acentuadas.

As taxas Tx2, Tx3 e Tx4 não mostraram diferenças quanto às taxas de hemólise. Havia uma expectativa de que a Tx4, associada ao uso intensivo de aspirador, tivesse uma taxa maior de hemólise quando comparada às taxas Tx2 e Tx3, mas isso não foi observado.

Uma hipótese para a igualdade das taxas Tx4, quando comparadas às taxas Tx2 e Tx3, foi que as medidas de Tx4 se caracterizaram principalmente pela aspiração contínua da raiz da aorta. A cânula foi submersa quase totalmente e durante a aspiração a interface ar-sangue foi reduzida. Essa explicação encontra respaldo nos resultados obtidos por Pohlmann et al. [12], contudo, independente de não haver controlado a espessura dos tubos nas caçapas dos aspiradores, esperávamos maior hemólise pela intensidade de uso dos aspiradores, o que não se verificou.

Outro ponto de interesse do estudo foi avaliar a influência da passagem do volume residual de sangue na hemólise. A taxa Tx5 foi calculada entre os instantes: imediatamente antes da passagem do volume residual para o paciente (T4) e 5 minutos após o término da passagem do volume residual para o paciente (T5).

A taxa Tx5 medida foi negativa ($-0,7 \pm 1,0$) durante o intervalo de tempo compreendido entre T5 e T4, com média calculada dos 23 pacientes de $16,3 \pm 3,3$ minutos (média \pm desvio padrão). Nesse intervalo, houve recuperação nas taxas de hemólise realizada pelo organismo. Os resultados não indicaram aumento nas taxas de hemólise em consequência do procedimento de passagem do volume residual.

Alguns autores destacam que a transfusão de células vermelhas armazenadas durante mais de 2 semanas

está associada com o aumento de complicações pós-operatórias e redução da sobrevivência a curto prazo e a longo prazo após cirurgia cardíaca [18]. Outros autores destacam que o tempo de armazenamento das hemácias não é um fator de risco para mortalidade precoce e tardia em pacientes que se submetem à cirurgia de revascularização do miocárdio [19].

No nosso estudo, o grupo que recebeu concentrado de hemácias entre um e dois dias de armazenamento em banco de sangue ($n = 8$) e o grupo que não recebeu concentrado de hemácias ($n = 14$) não apresentaram diferenças ($P > 0,70$) nas taxas de hemólise globais (TxG).

CONCLUSÃO

Os 5 primeiros minutos de CEC demonstraram maior taxa de hemólise ($P = 0,0003$) e corresponderam a 29% do total de hemólise medida até a passagem do volume residual para os pacientes.

A aspiração na raiz da aorta para prevenção de embolia aérea não demonstrou variações significantes nas taxas de hemólise ($P > 0,38$).

Não foram observadas variações nas taxas de hemólise com o procedimento utilizado para a passagem do volume de sangue residual no circuito para os pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Vercaemst L. Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: a review in search of a treatment algorithm. *J Extra Corpor Technol.* 2008;40(4):257-67.
2. Sutura SP, Mehrjardi MH. Deformation and fragmentation of human red blood cells in turbulent shear flow. *Biophys J.* 1975;15(1):1-10.
3. Vieira FU Jr, Costa ET, Vieira RW, Antunes N, Petrucci O Jr, Oliveira PP. The effect on hemolysis of the raceway profile of roller pumps used in cardiopulmonary bypass. *ASAIO J.* 2012;58(1):40-5.
4. Vieira Jr. FU, Vieira RW, Antunes N, Oliveira PPM, Petrucci Jr O, Carmo MR, et al. Considerações sobre calibração de bombas de roletes. *Rev Bras Eng Biom.* 2010;26(1):25-32.
5. Tamari Y, Lee-Sensiba K, Leonard EF, Tortolani AJ. A dynamic method for setting roller pumps nonocclusively reduces hemolysis and predicts retrograde flow. *ASAIO J.* 1997;43(1):39-52.
6. Leverett LB, Hellums JD, Alfrey CP, Linch EC. Red blood cell damage by shear stress. *Biophys J.* 1972;12(3):257-73.

7. Blackshear PL, Blackshear GL. Mechanical hemolysis. In: Handbook of bioengineering. 2a ed. Vol. 1. New York:Mc Graw-Hill;1987.
8. Vieira Jr. FU, Antunes N, Medeiros Jr. JD, Vieira RW, et al. Os Perfusionistas brasileiros e o ajuste do rolete arterial: Comparação entre a calibração estática e dinâmica. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2011; 26(2): 205-212.
9. Vieira FU Jr, Vieira RW, Antunes N, Petrucci O Jr, Oliveira PP, Silveira Filho LM, et al. The influence of the residual stress in silicone tubes in the calibration methods of roller pumps used in cardiopulmonary bypass. ASAIO J. 2010;56(1):12-6.
10. Edmunds LH Jr, Saxena NC, Hillyer P, Wilson TJ. Relationship between platelet count and cardiotomy suction return. Ann Thorac Surg. 1978;25(4):306-10.
11. Claugue CT, Blackshear PL Jr. A low-hemolysis blood aspirator conserves blood during surgery. Biomed Instrum Technol. 1995;29(5):419-24.
12. Pohlmann JR, Toomasian JM, Hampton CE, Cook KE, Annich GM, Bartlett RH. The relationships between air exposure, negative pressure, and hemolysis. ASAIO J. 2009;55(5):469-73.
13. Drabkin DL, Austin JH. Spectrophotometric studies. I. Spectrophotometric constant for common hemoglobin derivatives in human, dog and rabbit blood. J Biol Chem. 1932;98:719-33.
14. Hirose T, Burman SO, O'Connor RA. Reduction of perfusion hemolysis by use of atraumatic low-pressure suction. J Thorac Cardiovasc Surg. 1964;47:242-7.
15. Kameneva MV, Burgreen GW, Kono K, Repko B, Antaki JF, Umezumi M. Effects of turbulent stresses upon mechanical hemolysis: experimental and computational analysis. ASAIO J. 2004;50(5):418-23.
16. McCaughan JS Jr, McMichael H, Schuder JC, Kirby CK. An evaluation of various devices for intracardiac suction. ASAIO Trans. 1958;4:130-42.
17. Vieira Jr FU, Antunes N, Costa ET. Comparação entre aspiradores de sangue combinados com tubos de silicone usados em circulação extracorpórea. Rev Ciência Tecnologia. 2012;15(26):65-76.
18. Koch CG, Li L, Sessler DI, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T, et al. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. N Engl J Med. 2008;358(12):1229-39.
19. van Straten AH, Soliman Hamad MA, van Zundert AA, Martens EJ, ter Woort JF, de Wolf AM, et al. Effect of duration of red blood cell storage on early and late mortality after coronary artery bypass grafting. J Thorac Cardiovasc Surg. 2011;141(1):231-7.