Universidade de São Paulo
Instituto de Física

Estudo da distribuição de luz vermelha e infravermelha em sangue humano diluído para circulação extracorpórea

Ana Carolina de Magalhães

Dissertação de mestrado apresentada
ao Instituto de Física para a obtenção do
título de Mestre em Ciências

Orientadora: Prof.^a Dra. Elisabeth M. Yoshimura

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Elisabeth M. Yoshimura – IFUSP

Prof. Dr. Mikiya Muramatsu – IFUSP

Prof. Dr. Marcos Roberto da Rocha Gesualdi - UFABC

São Paulo
2011

FICHA CATALOGRÁFICA
Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação
do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Magalhães, Ana Carolina de

Estudo da distribuição de luz vermelha e infravermelha
em sangue humano diluído para circulação extracorpórea
– São Paulo, 2011.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo.
Instituto de Física, Departamento de Física Nuclear

Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Mateus Yoshimura

Área de Concentração: Física Médica

Unitermos: 1. Laser; 2. Distribuição de luz em meios
espalhadores; 3. Dosimetria.

USP/IF/SBI-085/201

Disse Deus: "Que se faça a luz", e a luz se fez.
E Deus viu que a luz era boa (...).
Gênesis 1:3-4

Aos meus pais,
que me trouxeram à luz desse mundo.

Ao Fábio T. Reale,
a melhor coisa que aconteceu na minha vida.

Agradecimentos

A Deus, pela oportunidade de estar aqui.

Aos meus pais, por todo amor, carinho, dedicação e apoio que me fizeram o que eu sou hoje.

À professora Elisabeth M. Yoshimura, não só pela paciência e por todo o aprendizado durante esses anos, mas por ser um grande exemplo de cientista.

Ao Fábio T. Reale, pelo amor e paciência durante todo esse tempo.

Ao professor Mikiya Muramatsu e Martha S. Ribeiro, por disponibilizarem o laboratório. E às professoras Maria Cristina Chavantes e Rosângela Itri, pelas conversas, ajuda e todo o apoio.

Ao grupo de laser e aos colegas da Dosimetria, pelo intercâmbio de ideias. Em especial aos amigos Marcelo, André, Márcia, Bruno e Liliam, que compartilharam muitos momentos de trabalho e momentos de descontração comigo.

Ao Diogo, ao Otávio e à Tamiris, pela disponibilidade e ajuda, sem as quais eu não teria conseguido realizar esse trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro. À empresa Polimate, em particular Celso e Liliane, por disponibilizarem o laboratório de reologia e pela ajuda durante e após o experimento. E ao Incor, por disponibilizarem os tubos que são utilizados durante a CEC, para a realização dos experimentos.

A todas as pessoas que não foram citadas, mas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

Por fim, a todos aqueles que deram o sangue por esse trabalho, literalmente!

Resumo

O laser de baixa intensidade (LBI) é utilizado para tratamento em uma série de aplicações, inclusive na diminuição de processos inflamatórios. Assim, poderia ser utilizado para evitar a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), processo desenvolvido por alguns pacientes que são submetidos à circulação extracorpórea (CEC) procedimento cirúrgico cardíaco.

Os objetivos desse trabalho foram estabelecer e validar um arranjo experimental para o estudo da distribuição de luz internamente a líquidos espalhadores e determinar a incerteza associada; utilizar esse arranjo para o estudo da distribuição de luz em sangue, e determinar o melhor comprimento de onda e melhor modo de iluminação para uma possível implementação da aplicação do LBI durante a CEC; e avaliar possíveis mudanças de propriedades reológicas do sangue provocadas pela sua iluminação com laser.

Para tal foi utilizado um arranjo com o líquido espalhador Lipovenos PLR dentro de uma cubeta, com utilização de uma fibra ótica para coleta de luz espalhada em diversos pontos dentro do líquido. Lasers de dois comprimentos de onda foram utilizados, 632,8 nm e 820 nm. Os resultados experimentais da distribuição de luz foram comparados com uma simulação pelo método de Monte Carlo já conhecida, o que validou o arranjo proposto, com a incerteza associada aos resultados experimentais de 7%. O arranjo foi utilizado para o estudo da distribuição da luz dentro de sangue diluído para CEC. Além disso, foi avaliada a transmissão da luz pelas paredes dos tubos utilizados nos circuitos da CEC e a distribuição da luz no sangue contido nesses tubos. Um reômetro rotacional com sistema cone-placa foi utilizado para medir características reológicas de duas amostras de sangue diluído, uma iluminada com laser e a outra não iluminada.

A luz de 632,8 nm, ao contrário da luz de 820 nm, consegue se distribuir até distâncias maiores do feixe laser, possibilitando que um maior volume de sangue seja tratado. A iluminação do sangue durante a CEC deve ser feita com o tubo de menor diâmetro em quatro pontos ao seu redor, em apenas uma secção do tubo,

pois o sangue é mantido circulante. Foram observadas mudanças nas propriedades reológicas do sangue iluminado com o laser de 635 nm, as quais devem ser mais bem entendidas para o uso em benefício do paciente submetido a CEC.

Abstract

Low level laser therapy (LLLT) is a treatment used in several applications, including the reduction of inflammatory processes. It could be used to prevent the systemic inflammatory response syndrome (SIRS), which some patients develop after cardiopulmonary bypass (CPB) surgery applied to solve some heart diseases.

The objectives of this study were to set an experimental arrangement to study light distribution inside scattering liquids, and determine the associated uncertainty; to use this arrangement to study light distribution inside blood, in order to implement the LLLT during CPB, and, through this study, to determine the best wavelength and the best way to perform the treatment. Possible changes on rheological properties of blood, caused by illumination with laser, were also evaluated.

Lipovenos PLR, a scattering liquid, was contained inside a cuvette and an optical fiber was used to collect the scattered light. Two wavelengths were used: 632.8 nm and 820 nm. The arrangement was validated, with uncertainty of 7%, through comparison between the experimental results and Monte Carlo Method simulation previously performed. This arrangement was used to study light distribution inside blood, diluted to the same conditions of CPB procedure. Light transmission through CPB tubes walls and light distribution in blood inside CPB tubes were also evaluated. A rotational rheometer with a cone-plate system was used to test rheological properties of two blood samples, one illuminated with laser and the other non illuminated

Compared to the 820 nm light, the 632.8 nm light is scattered further away from the laser beam, turning possible that a bigger volume of blood could be treated. The blood should be illuminated through the CPB tube with the smallest diameter, in four distinct points around the tube, only in one cross section of this tube, because the blood is kept passing through the tube all the time. Changes in rheological properties of blood were observed on blood illuminated with the 635 nm laser. These changes must be better understood in order to help the patient submitted to CPB.

Lista de tabelas

2.1	Dados dos lasers usados nos experimentos.	29
2.2	Tabela com as dimensões das cubetas utilizadas no experimento.	32
2.3	Composição do líquido espalhador Lipovenos PLR 10% (Fresenius Kabi Brasil, 2011).	33
2.4	Composição da solução de Ringer simples, usada como perfusato para hemodiluição do sangue. (Equiplex, 2011).....	33
2.5	Dimensões dos tubos utilizados no experimento. (Cedidas pelo Incor).....	35
2.6	Informações técnicas do reômetro rotacional modelo Physica MCR 301 da marca Anton Paar, com sistema cone-placa.	35
3.1	Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada um dos grupos de medida realizadas para o teste <i>R1</i> , para cada um dos lasers utilizados.....	49
3.2	Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada um dos grupos de medida realizadas para o teste <i>R2</i> , para cada uma das distâncias ao feixe laser, com cada um dos lasers utilizados.....	52
3.3	Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada uma das posições em que foi medida a energia incidente do laser de 632,8 nm.	54
3.4	Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada uma das posições em que foi medida a energia incidente do laser de 820 nm....	55
3.5	Resumo dos dados de média, desvio padrão e coeficientes de variação para os testes <i>R1</i> e <i>R2</i> , para ambos os lasers utilizados.	56
3.6	Valores utilizados para a normalização das curvas apresentadas no gráfico da figura 3.15. Apesar da diferença de magnitude desses valores todos são compatíveis com as medições da contribuição de fundo.....	61

Lista de figuras

1.1	Diagrama da composição do sangue.	5
1.2	Diagrama da composição das hemácias.	6
1.3	Representação do coração e suas divisões, átrios e ventrículos direitos e esquerdos. É possível ver também as veias e artérias que chegam e saem do coração e o sentido do fluxo sanguíneo.	9
1.4	Máquina extracorpórea, mais comumente chamada de bomba coração-pulmão. O oxigenador e outros acessórios necessários são fixados nas hastas verticais.	12
1.5	Diagrama que representa a cascata coagulatória. A heparina potencializa, aumentando em cerca de 1000 vezes, a inibição da trombina pela antitrombina III. (Teixeira Filho et al, 1997)	12
1.6	Esquema que mostra a sequência metabólica de desenvolvimento da SRIS. Muitos dos mediadores bioquímicos são neutralizados no pulmão, como durante a CEC esse órgão é mantido fora da circulação, essas substâncias não são metabolizadas, o que ocorrerá apenas ao final da CEC. (Teixeira Filho et al, 1997).....	18
1.7	Gráfico com os principais cromóforos presentes no tecido biológico e seus respectivos coeficientes de absorção.	23
1.8	Digrama representativo dos ângulos de espalhamento para os espalhamentos Rayleigh (A), com as linhas pontilhadas representando espalhamento de luz com duas polarizações perpendiculares e a linha cheia representando luz não polarizada; e Mie para partículas esféricas (B) com a linha pontilhada e a cheia representando as componentes de polarização vertical e horizontal, respectivamente. (Grossweiner, 2005)	25
2.1	Foto da guia utilizada a fim de garantir que a fibra ótica ficasse retilínea.....	30
2.2	Desenho que mostra a faixa de ângulos de incidência da luz para as quais ocorre a transmissão pela fibra ótica. O ângulo θ_c é o ângulo crítico que causa reflexão total e n são os índices de refração de cada um dos meios. 30	
2.3	Desenho das máscaras utilizadas durante os experimentos para garantir a posição relativa entre o laser e a fibra ótica. Em A, o orifício central, para o feixe laser tem 2,95(5) mm de diâmetro e cada um dos outros orifícios, para a fibra ótica têm 1,50(5) mm de diâmetro. O primeiro desses orifícios está a 4 mm do centro, o segundo a 5 mm e assim por diante, até o último que está a 11 mm do centro. Em B, todos os orifícios, para a fibra ótica, têm o mesmo diâmetro de 1,50(5) mm e distância entre si de 2 mm, a não ser pelo orifício que está mais distante, com 3 mm de distância do orifício central.	31

2.4	Representação das cubetas utilizadas nos experimentos. Em <i>A</i> , temos a visão tridimensional da cubeta. Em <i>B</i> , temos a visão da secção transversal da cubeta.....	32
2.5	Foto do reômetro utilizado no experimento. (Cedido pela Polimate).	36
2.6	Representação dos três principais arranjos utilizados nos experimentos.....	37
2.7	Indicação das posições em que foram feitas medições das energias incidentes dos lasers vermelho (<i>A</i>) e infravermelho (<i>B</i>).	39
2.8	Arranjo de transmissão para tubos cortados (<i>A</i>) e tubos sem cortar (<i>B</i>). Os desenhos não estão em escala.	41
3.1	Resultados obtidos para o teste <i>R1</i> , com o laser de 632,8 nm.	45
3.2	Resultados obtidos para o teste <i>R1</i> , com o laser de 820 nm.	45
3.3	Resultados obtidos para o teste <i>R2</i> , com o laser de 632,8 nm para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.....	46
3.4	Resultados obtidos para o teste <i>R2</i> , com o laser de 820 nm para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.....	46
3.5	Histograma com todos os tempos de integração obtidos para os experimentos (total de 2376 medidas). A média de tempo de integração foi 60,03 s e o desvio padrão foi 0,08 s, cerca de 0,13%.	47
3.6	Resultados para o teste <i>R1</i> , com o laser de 632,8 nm.....	48
3.7	Resultados para o teste <i>R1</i> , com o laser de 820 nm.....	49
3.8	Resultados para o teste <i>R2</i> , com o laser de 632,8 nm, para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.	50
3.9	Resultados para o teste <i>R2</i> , com o laser de 820 nm, para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.	51
3.10	Resultados da energia relativa do laser nas posições 1 e 2 (figura 2.7 – A). A energia é relativa à média das energias medidas na posição em questão, apresentadas na tabela 3.3.	54
3.11	Resultados de energia relativa do laser nas posições 0, 1 e 2 (figura 2.7 – B). A energia é relativa à média das energias na posição em questão, apresentadas na tabela 3.4.	55
3.12	Representação dos pontos de medição utilizados para os experimentos de espalhamento radial. Apesar dos pontos estarem todos colocados do mesmo lado do feixe eles estavam distribuídos ao seu redor, essa configuração foi utilizada apenas para facilitar a representação. A referência do eixo <i>z</i> está na superfície do líquido e a do eixo <i>r</i> está no feixe laser.	58

3.13	Resultados obtidos para o experimento de espalhamento radial para o Lipovenos, com o laser de 820 nm. Cada grupo de dados corresponde a uma profundidade em que a fibra ótica foi colocada no líquido. A energia de incidência foi de 70 mJ com coeficiente de variação de 11%.....	58
3.14	Comparação entre os dados obtidos experimentalmente para o Lipovenos e a simulação pelo método de Monte Carlo para a mesma situação de iluminação. Cada curva teve seus dados normalizados para o valor medido à distância radial de 4 mm.....	59
3.15	Resultados obtidos para o experimento de espalhamento radial de luz pelo sangue diluído, com o laser de 820 nm. Cada símbolo corresponde a uma profundidade em que a fibra ótica foi colocada no líquido, segundo a legenda. A energia de cada distância radial foi normalizada pela energia obtida em 4 mm, para cada curva, esses valores estão representados na tabela 3.6.....	60
3.16	Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela heparina, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.	62
3.17	Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela solução de Ringer, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.....	63
3.18	Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pelo soro fisiológico, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.....	63
3.19	Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pelo sangue não diluído, apenas com heparina, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.....	64
3.20	Resultados obtidos para o experimento de espalhamento radial de luz pelo sangue diluído, com o laser de 632,8 nm. Cada símbolo corresponde a uma profundidade em que a fibra ótica foi colocada no líquido, segundo a legenda. As energias incidentes foram de 317 mJ (coeficiente de variação de 1,0%) para o grupo de dados a 5 mm; e 336 mJ (coeficiente de variação de 3,7%) para os outros grupos de dados.....	66
3.21	Coeficientes t obtidos para os ajustes dos diversos grupos de medidas obtidos para o experimento de espalhamento radial de luz de 632,8 nm no sangue diluído.	67
3.22	Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela heparina, com o laser de 632,8 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.	68

3.23	Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela solução de Ringer, com o laser de 632,8 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm. ...68
3.24	Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pelo soro fisiológico, com o laser de 632,8 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm. ...69
3.25	Representação dos pontos de medição utilizados para os experimentos com a situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As referências dos eixos y e z estão no feixe laser ($y = z = 0$) e do eixo x está na face de incidência do feixe laser. O plano xy é o plano horizontal.70
3.26	Resultados obtidos para o experimento com a cubeta grande na situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As energias foram medidas ao longo de direções paralelas à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em quatro planos acima dele.70
3.27	Resultados obtidos para o experimento com a cubeta pequena na situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As energias foram medidas em direções paralelas à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele.71
3.28	Resultados obtidos para o experimento com a cubeta pequena na situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As energias foram medidas em direções perpendiculares à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele.72
3.29	Resultados de transmitância para cada um dos tubos utilizados no experimento.74
3.30	Resultados de transmitância no interior dos recipientes vazios.74
3.31	Resultados para a transmitância, no interior dos recipientes preenchidos com os diluentes.75
3.32	Resultados obtidos para os dois experimentos realizados com o tubo <i>Braille Biomédica</i> de maior diâmetro, para a direção paralela ao feixe laser incidente, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele. Os símbolos vazios representam um experimento e os símbolos cheios representam o outro experimento.77
3.33	Resultados obtidos para os dois experimentos realizados com o tubo <i>Braille Biomédica</i> de maior diâmetro, para a direção perpendicular à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele. Os símbolos vazios representam um experimento e os símbolos cheios representam o outro experimento.77
3.34	Coeficientes de atenuação t obtidos para os ajustes dos dados experimentais obtidos nos experimentos com as duas cubetas utilizadas e com o tubo <i>Braille Biomédica</i> de maior diâmetro.78

3.35	Resultados do experimento de viscosidade da amostra de sangue diluído iluminada com o laser de 635 nm.....	79
3.36	Resultados do experimento de viscosidade da amostra de sangue diluído não iluminada (controle).	80
3.37	Comparação dos valores do coeficiente de viscosidade dinâmico entre as amostras iluminada e controle, com o experimento realizado a 20°C.	81
3.38	Comparação dos valores do coeficiente de viscosidade dinâmico entre as amostras iluminada e controle, com o experimento realizado a 30°C.	82
3.39	Comparação dos valores do coeficiente de viscosidade dinâmico entre as amostras iluminada e controle, com o experimento realizado a 36°C e 36°C direto.....	82
3.40	Resultados do experimento de torque para a amostra iluminada.....	83
3.41	Resultados do experimento de torque para a amostra controle.	83
3.42	Áreas das curvas de histerese dos gráficos de torque em função da taxa de cisalhamento para as amostras iluminada e controle.	84

Lista de siglas e abreviações

ATP – Trifosfato de adenosina
CEC – Circulação extracorpórea
COX-2 – Ciclo-oxigenase-2
CPB – Cardiopulmonary bypass
DNA – Ácido desoxirribonucleico
Exp – Experimental
He-Ne – Hélio neônio
IL - Interleucina
INCOR – Instituto do Coração
IV – Infravermelho
LAP – Laser de alta potência
LBI – Laser de baixa intensidade
LLLT – Low level laser therapy
MC – Monte Carlo
PF – Plano do feixe
PGE-2 – Prostaglandinas E2
PLR - Phospholipid reduced
pos 0 – Posição 0
pos 1 – Posição 1
pos 2 – Posição 2
R1 – Teste de reprodutibilidade do posicionamento da cubeta no suporte de iluminação
R2 – Teste de reprodutibilidade do posicionamento da fibra ótica na máscara e da cubeta no suporte de iluminação
SIRS - Systemic inflammatory response syndrome
SRIS – Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TNF – Fator de necrose tumoral
 α – Coeficiente de absorção
 β – Coeficiente de espalhamento
 g – Coeficiente de anisotropia
 λ – Comprimento de onda
 μ – Coeficiente de atenuação
 n – Índice de refração
 t – Coeficiente da exponencial ajustada
L – litro
L/min – litro por minuto
min – minuto
 μJ – microjoule
 μm – micrometro
mm – milímetro
mL/kg – mililitro por quilograma
 $\mu\text{N.m}$ – micronewton vezes metro
mg/kg – miligrama por quilograma
mJ – milijoule

mN.m – milinewton vezes metro

mPa.s – milipascal vezes segundo

nm – nanometro

rpm – rotações por minuto

s – segundo

UI/kg – unidades internacionais por quilograma

UI/mL – unidades internacionais por mililitro

Sumário

Resumo	v
Abstract	vii
Lista de tabelas	viii
Lista de figuras	ix
Lista de siglas e abreviações	xiv
Sumário	xvi
1. Introdução	1
1.1. Motivação	1
1.2. Objetivos	1
1.3. Circulação extracorpórea (CEC)	2
1.3.1. Breve histórico	2
1.3.2. Fisiologia do sangue	4
1.3.2.1. Hemácias	5
1.3.2.2. Leucócitos	7
1.3.2.3. Plaquetas	8
1.3.3. Sistema cardiovascular	9
1.3.4. Como funciona a CEC	11
1.3.4.1. Anticoagulação	12
1.3.4.2. Hemodiluição e perfusato	13
1.3.4.3. Hipotermia	15
1.3.5. Respostas do organismo à CEC	16
1.3.5.1. Síndrome da Resposta inflamatória sistêmica (SRIS)	17
1.4. Laserterapia	19
1.4.1. Breve histórico	19
1.4.2. Interação da luz com a matéria	21
1.4.2.1. Absorção	22
1.4.2.2. Espalhamento	24
1.4.2.3. Meios Turvos	26
1.4.3. Efeitos biológicos da laserterapia	27
2. Materiais e métodos	29

2.1.	Materiais	29
2.1.1.	Lasers.....	29
2.1.2.	Fibra ótica.....	30
2.1.3.	Posicionadores	31
2.1.4.	Medidor de energia luminosa.....	31
2.1.5.	Cubetas	32
2.1.6.	Líquidos espalhadores.....	32
2.1.7.	Tubos dos circuitos de CEC	34
2.1.8.	Reômetro	35
2.2.	Métodos	36
2.2.1.	Estudo de reprodutibilidade e determinação de incerteza	37
2.2.2.	Espalhamento radial da luz no sangue	39
2.2.3.	Transmissão de luz através do sangue e das substâncias usadas para sua diluição	40
2.2.4.	Simulação da situação de iluminação dos tubos durante a CEC	40
2.2.5.	Estudo das propriedades físicas dos tubos utilizados durante a CEC...	41
2.2.6.	Estudo das propriedades reológicas do sangue	42
3.	Resultados e discussão	44
3.1.	Estudo de reprodutibilidade	44
3.1.1.	Cronometragem manual	44
3.1.2.	Teste <i>R1</i> (reprodutibilidade do posicionamento da cubeta no suporte para iluminação).....	47
3.1.3.	Teste <i>R2</i> (reprodutibilidade do posicionamento da fibra ótica na máscara e da cubeta no suporte)	50
3.1.4.	Energia incidente dos lasers.....	53
3.1.5.	Determinação da incerteza.....	56
3.2.	Estudo da distribuição de luz infravermelha no sangue	57
3.2.1.	Espalhamento radial da luz no sangue	57
3.2.2.	Transmissão de luz através do sangue e das substâncias usadas para sua diluição	62
3.3.	Estudo da distribuição de luz vermelha no sangue	65
3.3.1.	Espalhamento radial da luz no sangue.....	65
3.3.2.	Transmissão de luz através das substâncias usadas para diluição do sangue	67
3.3.3.	Simulação da situação de iluminação dos tubos durante a CEC	69

3.3.4. Estudo das propriedades óticas dos tubos utilizados durante a CEC....	72
3.3.4.1. Transmissão de luz pelas paredes dos tubos	73
3.3.4.2. Espalhamento de luz pelo sangue contido nos tubos	75
3.3.5. Iluminação do sangue durante a CEC	78
3.4. Estudo das propriedades reológicas do sangue	79
4. Conclusões	85
Referências bibliográficas	87

1.Introdução

1.1. Motivação

A circulação extracorpórea (CEC) foi um dos grandes avanços para as cirurgias cardíacas, possibilitando ao médico o acesso ao interior do coração para correção de anormalidades. Porém esse procedimento não está livre de riscos, podendo causar uma série de alterações fisiológicas ao organismo do paciente acarretando muitas complicações.

Um dos principais responsáveis pela má evolução do paciente no pós-operatório é a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), que tem intensidade variável, mas pode comprometer o metabolismo e a evolução pós-operatória, podendo também levar o paciente a óbito.

A utilização do potencial efeito anti-inflamatório do laser de baixa intensidade (LBI) pode melhorar a recuperação no pós-cirúrgico de pacientes submetidos a CEC, prevenindo o desenvolvimento da SRIS, ou minimizando sua gravidade. Isso pode diminuir o tempo de recuperação e consequentemente de internação desses pacientes, melhorando sua qualidade de vida e reduzindo os gastos com longos tempos de internação.

1.2. Objetivos

Esse trabalho teve como objetivos:

Montar um arranjo experimental para a realização de medidas internas de distribuição de luz em líquidos espalhadores, com a utilização de fibra ótica e determinar a incerteza relacionada a esse arranjo.

Validar o arranjo experimental com a utilização de um líquido espalhador bem conhecido, Lipovenos PLR 10%, com posterior comparação com simulação pelo método de Monte Carlo.

Utilizar o arranjo validado para estudo da distribuição de luz interna de sangue humano diluído para a CEC, para possível implementação da iluminação do sangue durante o procedimento cirúrgico para a prevenção do desenvolvimento da SRIS.

Determinar o melhor comprimento de onda, dentro da janela terapêutica, para fazer a iluminação do sangue durante a CEC.

Determinar a melhor forma de iluminação do sangue, o que está relacionado com o tipo de tubo que é usado em cada uma das partes do circuito.

Verificar se a iluminação do sangue causa mudanças nas suas propriedades reológicas, o que pode influenciar diretamente na penetração das hemácias nos capilares e consequentemente a oxigenação dos tecidos.

A fim de alcançar esses objetivos foi feito um estudo teórico dos temas mais importantes relacionados à CEC e à laserterapia, bem como interação da luz com tecidos biológicos, os quais estão apresentados nesse capítulo. A descrição dos experimentos realizados está apresentada no capítulo 2, com os respectivos resultados mostrados e discutidos no capítulo 3. Por fim, um resumo das conclusões é feito no capítulo 4.

1.3. Circulação extracorpórea (CEC)

A circulação extracorpórea é estudada desde o século XIX e representou um grande avanço nas cirurgias cardíacas por permitir o acesso ao interior do coração para correção de anormalidades. O livro de Souza e Elias 2006 foi utilizado como texto base para essa seção.

1.3.1. Breve histórico

O sangue e o sistema circulatório vêm sendo estudados desde antes do ano de 1628, quando William Harvey, considerado o pai da cardiologia, descreveu a circulação sanguínea e o bombeamento do sangue pelo coração para todo o corpo.

A primeira citação de circulação artificial foi feita em 1813, por Le Gallois, que

disse ser possível manter viva qualquer parte do organismo se o coração fosse substituído por outra bomba para o sangue. Durante o século XIX muitas experiências foram feitas com a perfusão de sangue em órgãos isolados, mostrando que esses órgãos tinham suas funções restabelecidas com essa perfusão, mesmo após a morte do organismo. Em 1882, foi construído o primeiro oxigenador artificial e em 1885 o primeiro sistema coração-pulmão artificial, destinado à perfusão de órgãos isolados. Apesar disso, muitos estudos e descobertas foram feitos até que a circulação extracorpórea pudesse ser utilizada durante cirurgias cardíacas. Os estudos foram desde a anatomia dos capilares, até o funcionamento da respiração e trocas gasosas, passando pela descoberta dos grupos sanguíneos e da heparina. Depois de muitos anos de estudos com animais, aperfeiçoamento da técnica e dos equipamentos, finalmente, o procedimento poderia ser testado em humanos. Isso aconteceu no ano de 1951. John Gibbon e sua esposa Mary Gibbon construíram um equipamento capaz de substituir os sistemas circulatório e respiratório do paciente por determinado período de tempo. Nas primeiras tentativas, três pacientes de Gibbon foram a óbito devido a complicações da cirurgia ou complicações com o uso do coração-pulmão artificial. Apenas dois anos depois da primeira tentativa o casal Gibbon obteve sucesso em uma cirurgia com o auxílio do sistema coração-pulmão artificial, usado para permitir o acesso ao interior do coração. Muitas outras cirurgias foram realizadas com essa técnica, mas após dois anos de uso apenas cinco pacientes haviam sobrevivido. Mesmo sem grande aceitação da técnica por parte dos cirurgiões, Gibbon fez uma série de melhorias e recomendações para o uso da máquina que aperfeiçoaram o desempenho da CEC.

Depois disso, muitos estudos e recomendações foram feitos a fim de melhorar a tecnologia e aumentar a sobrevivência dos pacientes. Foram desenvolvidos e testados vários tipos de oxigenadores; permutadores de calor, capazes de regular a troca de calor pelo sangue; bombas propulsoras, testando-se fluxos contínuos e pulsáteis; filtros, usados principalmente para retirar bolhas e agregados celulares do sangue, os quais podiam causar embolias. Foram também testados diversos materiais para confecção dos componentes da máquina de circulação e oxigenação para evitar danos ao sangue. O estudo desses materiais é muito importante e deve seguir uma série de requisitos, pois não existe material que simule a superfície vascular.

No Brasil, a primeira cirurgia cardíaca com o uso de CEC aconteceu em São Paulo no ano de 1955, realizada pelo médico Hugo Felipozzi. Nessa cirurgia a oxigenação do sangue foi feita pelo pulmão do próprio paciente, um menino de três anos. Felipozzi e sua equipe desenvolveram e testaram diversos tipos de oxigenadores até chegar a um modelo que fosse satisfatório para o uso clínico e somente um ano após a primeira cirurgia, ele realizou uma cirurgia cardíaca com o uso de CEC total (Gomes et al, 2005). Pouco tempo depois, Euryclides de Jesus Zerbini começou as pesquisas sobre a CEC, no Hospital das Clínicas, criando também uma oficina para a fabricação e padronização de equipamentos. Na década de 1960, o Brasil conseguiu maior independência em relação à CEC, pois todos os componentes da máquina coração pulmão começaram a ser fabricados nacionalmente. Com isso muitas contribuições foram feitas para o desenvolvimento da CEC. Nessa mesma década o Brasil foi o primeiro país a utilizar a hemodiluição, técnica que é considerada um dos grandes avanços da CEC. Outra contribuição importante foi o desenvolvimento dos oxigenadores descartáveis, os quais foram feitos no começo da década de 1970. Os trabalhos de Felipozzi e Zerbini e suas respectivas equipes foram muito importantes para a difusão da CEC no Brasil e nos países vizinhos. (Teixeira Filho et al, 1997)

1.3.2. Fisiologia do sangue

O sangue é o líquido que circula através do sistema circulatório. Ele transporta nutrientes, hormônios, eletrólitos, água, resíduos de metabolismo celular e muitas outras substâncias, promove o equilíbrio e distribuição de água, a regulação do pH e da temperatura. O sangue é composto de células e plasma. O plasma é tido como a parte líquida do sangue, tem coloração amarelada e é composto basicamente de água. Entre os elementos sólidos do plasma, a maior parte é de proteínas, as quais estão envolvidas nos processos de nutrição, coagulação, regulação do equilíbrio ácido-base e imunidade do organismo. A função de células presentes no sangue é fazer o transporte de oxigênio e dióxido de carbono, a defesa do organismo contra agentes estranhos e o controle da coagulação. No diagrama da figura 1.1 é possível ver essa composição detalhadamente. O volume de sangue em um adulto normal é de cerca de 60 mL/kg de peso, sendo cerca de 35 mL/kg de plasma e 25 mL/kg de

hemácias.

Figura 1.1: Diagrama da composição do sangue.

1.3.2.1. Hemácias

Também conhecidas como eritrócitos ou glóbulos vermelhos são as células mais abundantes no sangue. Sua função principal é fazer o transporte de oxigênio do pulmão para as células e do dióxido de carbono no caminho inverso (Guyton, 1974). As hemácias são células em forma de disco bicôncavo. Têm um diâmetro médio de 8 μm com espessura de 2 μm nas bordas e 1 μm no centro. Isso proporciona uma maior superfície em relação ao volume, facilitando tanto a difusão de gases como a deformação dessas células, o que possibilita que elas passem pelos capilares, que têm diâmetro muito menor que o das hemácias, sem sofrerem danos (Silva, 1982). O diagrama da figura 1.2 representa a composição das hemácias.

Figura 1.2: Diagrama da composição das hemácias.

As hemácias que estão no sangue não possuem núcleo, o que permite a presença de uma maior quantidade de hemoglobina em seu interior. Isso aumenta a eficiência no transporte do oxigênio, já que, na verdade, a responsável por esse transporte é a hemoglobina. A molécula de hemoglobina possui átomos de ferro os quais se ligam com o oxigênio quando a hemácia passa pelo pulmão. Quando as hemácias chegam aos capilares essa ligação se desfaz e o oxigênio é absorvido pelas células. (Guyton, 1974) Cada hemácia tem a capacidade de carregar até quatro moléculas de oxigênio.

Como as hemácias não possuem núcleo, não podem se reproduzir, assim, sua produção é feita pela medula óssea (Guyton, 1974) a partir de uma célula tronco pluripotente capaz de se transformar em qualquer uma das células sanguíneas (Chavantes et al, 2009).

A porcentagem de hemácias em relação ao volume total de sangue é chamada hematócrito. O hematócrito normal é em torno de 45%, mas pode variar devido a vários fatores, como sexo, altitude do local onde a pessoa vive, presença de doenças (por exemplo, anemia), dentre outros (Guyton, 1974). O aumento do hematócrito causa o aumento da viscosidade do sangue, o que dificulta o fluxo de sangue nos vasos de pequeno calibre e capilares.

A vida média das hemácias no organismo é de 100 a 120 dias. Depois disso, devido à perda da flexibilidade da membrana celular, as hemácias são filtradas pelo

baço. Esse processo acontece através de um “teste mecânico”: as hemácias precisam passar por canais muito estreitos, com cerca de 0,5 a 1 μm de diâmetro, as células que não se deformam o suficiente para tal se rompem e são eliminadas (Silva, 1982). Devido a esse processo há uma pequena quantidade de hemoglobina livre no plasma, mas os átomos de ferro presente nessas moléculas são reaproveitados pela medula óssea para a produção de novas hemácias. O processo de rompimento da membrana eritrocitária, por qualquer processo, e consequente liberação de hemoglobina no plasma é chamado de hemólise e pode ocorrer devido a diversos fatores.

1.3.2.2. Leucócitos

A quantidade de leucócitos (também conhecidos como glóbulos brancos) no sangue é muito menor do que a quantidade de hemácias. Há cerca de 1 leucócito para cada 500 hemácias (Guyton, 1974). Os leucócitos são responsáveis pela defesa do organismo contra agentes estranhos. No geral, os leucócitos granulócitos são produzidos na medula óssea, onde a maioria permanece até que sejam requisitados em alguma parte do organismo. Já os agranulócitos são produzidos pelo tecido linfóide, embora linfócitos também possam ser produzidos na medula óssea. Todos os leucócitos são produzidos a partir da mesma célula tronco pluripotente que gera as hemácias (Chavantes et al, 2009). Quando há infecção os leucócitos são liberados na corrente sanguínea e migram para o local requisitado.

Como é possível ver no diagrama da figura 1.1, há diversos tipos de leucócitos, cada qual com uma função específica. A seguir uma pequena descrição dos aspectos mais importantes de cada tipo de leucócito (Guyton, 1974):

- **Neutrófilos:** Têm a função de proteger contra invasões de bactérias e vírus, mas agem praticamente contra qualquer agente que cause lesão tecidual. O processo pelo qual eliminam os agentes invasores é a fagocitose. Devido à sua pequena capacidade de fagocitose e rápida locomoção para o local da infecção são mais importantes no combate a infecções agudas.
- **Monócitos:** Também combatem agentes infecciosos invasores, como

bactérias e vírus, porém têm maior capacidade fagocitária que os neutrófilos. Por esse motivo são mais eficazes para combater infecções crônicas, além de serem responsáveis pela limpeza da região atingida depois que a infecção foi eliminada. Os monócitos passam pouco tempo na circulação, pois vão direto para a área atingida, mas uma vez no tecido podem viver por meses.

- **Linfócitos:** São liberados continuamente na circulação sanguínea e permanecem por algumas horas no sangue. São responsáveis pelas respostas a invasões do organismo por agentes estranhos. Existem basicamente dois tipos de linfócitos, os linfócitos T e os B, embora alguns linfócitos possam se diferenciar em outros tipos de células, conforme a necessidade. Os linfócitos T são responsáveis pela destruição de agentes invasores, enquanto os linfócitos B são responsáveis pela produção de anticorpos contra esses agentes.
- **Eosinófilos:** São liberados na corrente sanguínea quando há a presença de alguma proteína estranha, fazendo a desintoxicação ocasionada por essas proteínas e por mecanismos de alergia. Eles também são responsáveis pela destruição de coágulos. Os eosinófilos ficam em tecidos onde ocorreu reação antígeno-anticorpo e fagocitam e digerem a dupla.
- **Basófilos:** São responsáveis pela liberação de heparina no local da agressão, a fim de evitar a coagulação do sangue.

1.3.2.3. Plaquetas

As plaquetas não são células, mas sim fragmentos celulares que são liberados na corrente sanguínea com o rompimento do megacariócito, uma célula gigante, formada na medula óssea, que produz um grande número de plaquetas em seu interior. As plaquetas, que não possuem núcleo, têm formato de disco com diâmetro médio de 1,5 μm e espessura de 0,5 a 1 μm . Elas permanecem por cerca de 10 dias na corrente sanguínea, depois desse tempo são substituídas. A função das plaquetas é promover a coagulação através da ativação da cascata coagulatória. Quando ocorre a lesão de algum vaso, as plaquetas aderem ao vaso lesionado,

liberam substâncias que vão provocar a conversão da proteína fibrinogênio, presente no sangue, em fibrina, formando a matriz do coágulo. Com isso novas plaquetas vão aderir àquele local, formando o coágulo em si, o qual impedirá o vazamento do sangue através do vaso lesionado (Guyton, 1974).

1.3.3. Sistema cardiovascular

O sistema cardiovascular é composto do coração e todos os vasos que suportam fluxo sanguíneo como artérias, veias e capilares. O coração é responsável pelo bombeamento do sangue por todo o sistema circulatório. Ele é dividido em quatro cavidades, como é possível ver na figura 1.3, os átrios direito e esquerdo e os ventrículos direito e esquerdo.

Figura 1.3: Representação do coração e suas divisões, átrios e ventrículos direitos e esquerdos. É possível ver também as veias e artérias que chegam e saem do coração e o sentido do fluxo sanguíneo.

O sistema circulatório é dividido em duas partes principais, a circulação pulmonar ou pequena circulação, de menor extensão e a circulação sistêmica, periférica ou grande circulação, de extensão muito maior. A circulação pulmonar inclui as artérias, arteríolas, capilares e veias que ligam o coração e o pulmão. É através da circulação pulmonar que ocorre a oxigenação do sangue. Já a circulação

sistêmica ou periférica inclui artérias, arteríolas, capilares e veias de todo o resto do corpo. É através da circulação sistêmica que o sangue chega a todos os órgãos e tecidos do corpo e fornece oxigênio e os nutrientes necessários para as células. Além disso, o sangue recolhe dióxido de carbono e restos do metabolismo celular. (Guyton, 1974)

O sangue que passou pela circulação sistêmica chega ao coração através das veias cavas e entra no átrio direito, a contração desse átrio força o sangue através da válvula tricúspide para o ventrículo direito. O sangue é então impulsionado, pela contração do ventrículo, para o pulmão, através da artéria pulmonar, para que ocorram as trocas gasosas. Após esse processo, o sangue retorna para o coração através da veia pulmonar, entrando no átrio esquerdo, com a contração desse átrio o sangue passa através da válvula mitral, chega ao ventrículo esquerdo e é novamente impulsionado pela contração desse ventrículo para a circulação sistêmica através da aorta. O recolhimento do sangue nos átrios é necessário para melhorar a eficiência da propulsão do sangue pelos ventrículos (Guyton, 1974). O ventrículo esquerdo tem capacidade de bombeamento maior do que o ventrículo direito, pois o ventrículo esquerdo tem a função de bombear o sangue por todo o corpo, enquanto o direito tem a função de bombear o sangue apenas através do pulmão. O coração bombeia em média 5 L/min, mas tem capacidade de bombear de 0,5 L/min, o que ocorre em casos de grandes hemorragias, a até 20 ou 30 L/min, o que acontece durante atividades físicas.

O fluxo sanguíneo é pulsátil, ou seja, o coração não manda o sangue continuamente através das artérias, mas sim pequenas quantidades de sangue a cada batimento. O ciclo cardíaco começa com a diástole, período em que o coração está relaxado e os átrios se enchem de sangue. Ao final da diástole ocorre a contração atrial, quando os átrios mandam o sangue para os ventrículos. Logo em seguida começa a sístole, período de contração dos ventrículos, quando o sangue é impulsionado pelos ventrículos direito e esquerdo para as circulações pulmonar e sistêmica, respectivamente. (Guyton, 1974)

1.3.4. Como funciona a CEC

A CEC é um procedimento ao qual são submetidos alguns pacientes em cirurgia cardíaca. Esse procedimento permite que o coração pare durante a cirurgia, possibilitando o corte de suas paredes, acesso e visualização interna para correção dos problemas existentes. A CEC é compreendida como o conjunto de equipamentos e técnicas que substituem o coração e o pulmão enquanto esses órgãos não desempenham suas funções. O bombeamento e as trocas gasosas são feitas externamente ao corpo do paciente durante a CEC. A máquina extracorpórea, comumente chamada de máquina coração-pulmão artificial ou bomba coração-pulmão (figura 1.4), possui alguns componentes básicos:

- Bomba mecânica que impulsiona o sangue através dos circuitos e da circulação sistêmica;
- Oxigenador artificial, o qual faz o papel do pulmão e promove as trocas gasosas entre o sangue e o ar, já que durante a CEC o sangue não passa pela circulação pulmonar;
- Tubulação plástica, a qual faz a ligação entre os diversos componentes da bomba coração-pulmão e o paciente.

Os materiais dos quais a máquina extracorpórea é feita devem ser cuidadosamente escolhidos, pois como o sangue entra em contato direto com esses componentes, o material do qual eles são constituídos devem ter grande resistência a choques, para que não sofram danos durante o procedimento, não podem reagir com qualquer dos componentes do sangue ou absorver grandes quantidades de água, tampouco pode liberar resíduos químicos. Além disso, as superfícies devem ser polidas, a fim de evitar ao máximo a interação do sangue com a máquina.

Figura 1.4: Máquina extracorpórea, mais comumente chamada de bomba coração-pulmão. O oxigenador e outros acessórios necessários são fixados nas hastes verticais.

1.3.4.1. Anticoagulação

O sangue quando em contato com as superfícies endoteliais, compostas basicamente pelos vasos sanguíneos e coração, não coagula devido a um equilíbrio físico-químico complexo.

Figura 1.5: Diagrama que representa a cascata coagulatória. A heparina potencializa, aumentando em cerca de 1000 vezes, a inibição da trombina pela antitrombina III. (Teixeira Filho et al, 1997)

Durante a CEC, o sangue fica em contato direto com superfícies que apesar de

serem biocompatíveis não são endoteliais e promovem a coagulação. Por isso, usa-se uma substância, a heparina, para inibir a coagulação do sangue. Ela é usada por provocar poucos efeitos colaterais, e ser bem aceita pelo organismo. Pode ser usada por longos períodos de tempo e, além disso, há um antídoto específico para a heparina, a protamina. A heparina pode ser extraída da mucosa intestinal de porcos ou pulmão bovino, sendo o segundo mais indicado para a anticoagulação em CEC devido a características diferentes entre as substâncias extraídas das duas formas. A heparina está naturalmente presente no organismo humano e sua função principal é o auxílio à defesa imunológica contra infecções bacterianas, geração de neovasculas e metabolismo de lipídeos, além de provocar a dissolução de coágulos já formados (Teixeira Filho et al, 1997).

A ação da heparina se dá, principalmente, no final da cascata coagulatória, impedindo a conversão do fibrinogênio em fibrina. Isso ocorre devido à potencialização da antitrombina III que inibe a formação da trombina, responsável pela conversão do fibrinogênio. Esse processo pode ser visualizado mais claramente através do diagrama da figura 1.5. A ação anticoagulatória é eficaz até que a heparina seja metabolizada e eliminada, assim, é necessário que se faça o controle do tempo de coagulação e que doses de heparina sejam ministradas para a manutenção do efeito anticoagulatório. O tempo de eliminação depende da dose ministrada e é maior nas duas primeiras horas após a administração. São dadas doses da ordem de 300 a 400 UI/kg¹ de peso de paciente ou 3 a 4 mg/kg, inicialmente. O tempo de coagulação é monitorado a cada 20 ou 30 min e doses de manutenção, da ordem de 100 UI/kg ou 1 mg/kg são administradas a cada hora. Ao fim da CEC, quando o paciente vai, finalmente, ser suturado é necessária a reversão do efeito anticoagulatório. Isso se dá através da administração da protamina, o antídoto da heparina. A protamina liga-se ionicamente com a heparina, formando um complexo estável, sem efeitos anticoagulantes.

1.3.4.2. Hemodiluição e perfusato

O circuito da bomba coração-pulmão deve ser preenchido com algum tipo de

¹ Unidade internacional (UI) está relacionada com o efeito biológico que a substância (nesse caso heparina) tem ao ser aplicada.

líquido fisiológico antes do início da CEC, caso contrário, as artérias e veias do paciente seriam preenchidas de ar o que traria sérios danos a esse paciente. O líquido que faz esse preenchimento recebe o nome de perfusato. (Teixeira Filho et al, 1997)

Inicialmente a tentativa foi usar sangue fresco para preencher os circuitos da máquina. Eram necessários de 3 a 5 L de sangue. Isso trazia uma série de problemas, como a sobrecarga dos bancos de sangue, dificuldade de obtenção dessa quantidade de sangue quando o paciente possuía um tipo sanguíneo mais raro, além de trazer todos os problemas relacionados a transfusões de sangue. A solução seguinte foi usar sangue conservado em solução de citrato. Porém, os pacientes submetidos a ambos os procedimentos não tiveram bons resultados, principalmente devido à incompatibilidade entre elementos do sangue dos diversos doadores. A partir do fim da década de 1950, uma série de substâncias foi testada para o preenchimento dos circuitos, dando origem à hemodiluição, a qual é entendida como a utilização de soluções não celulares para fazer esse preenchimento. As substâncias testadas foram desde plasma até soluções fisiológicas.

A hemodiluição trouxe grande avanço para a CEC e é muito importante, pois melhora a oxigenação, diminui a necessidade de sangue para o paciente, preserva maior número de plaquetas e reduz as perdas sanguíneas pós-operatórias. Além disso, a hemodiluição causa a diminuição da viscosidade do sangue, melhora a perfusão dos tecidos, diminui a destruição celular sanguínea, dentre outros fatores. Apesar de todas as vantagens da hemodiluição, ela pode trazer problemas para o paciente, como redução da oferta de oxigênio aos tecidos devido aos níveis muito baixos de hemoglobina no sangue, levando esses tecidos à realização de respiração anaeróbia. Assim, é importante que haja o equilíbrio entre os efeitos benéficos da hemodiluição e os problemas que ela possa causar. A recomendação é que a hemodiluição mantenha o hematócrito acima de 20%, já que abaixo disso os níveis mínimos de hemoglobina não são mantidos e há a modificação da distribuição de sangue nos órgãos e tecidos, levando a um aumento da morbidade e mortalidade.

A principal característica que o perfusato deve apresentar é ter composição

eletrolítica semelhante à do plasma, ou seja, ser isotônica, de forma que a composição eletrolítica do plasma fique inalterada após a hemodiluição. Atualmente, a solução mais usada como perfusato é a solução de Ringer, simples ou lactato, que atende às características necessárias à hemodiluição. Para pacientes pediátricos, a hemodiluição normalmente é feita utilizando plasma, ou solução não celular e sangue, para que o hematócrito não fique abaixo do recomendado. O ideal é que a quantidade de perfusato usado seja apenas o necessário para preencher os circuitos da bomba coração-pulmão. O perfusato representa apenas cerca de 40% da hemodiluição total, já que outras substâncias são injetadas no paciente durante a cirurgia, como soro fisiológico para a hidratação.

Souza e Elias, 2006 em um estudo com 100 pacientes submetidos a CEC, determinaram que o volume médio de perfusato usado foi de 14,60 mL/kg de peso do paciente. Além do perfusato foi utilizado soro fisiológico para a hidratação do paciente, com volumes médios de 11,22 mL/kg de peso do paciente. Considerando-se toda a diluição o hematócrito dos pacientes ficou entre 17 e 36%, com média de 24%.

1.3.4.3. Hipotermia

A hipotermia do organismo pode trazer alguns benefícios, como a diminuição da taxa metabólica devido à diminuição da velocidade das reações químicas e enzimáticas dos tecidos. Isso diminui, principalmente, a necessidade de oxigênio que os tecidos têm. Porém, a redução da temperatura corporal para abaixo de 15°C pode causar danos às estruturas e/ou aos órgãos. A hipotermia, quando usada em CEC, promove certa proteção aos tecidos. A utilização da hipotermia torna possível a diminuição do fluxo sanguíneo ou até sua completa interrupção por períodos variáveis, sem a indução de danos aos tecidos ocasionados pela falta de oxigênio. Os principais benefícios que a hipotermia traz são:

- aumento da segurança e da flexibilidade do procedimento;
- possibilidade de diminuição do fluxo de perfusão e oxigênio, diminuindo assim os danos às células sanguíneas, além de reduzir formação de êmbolos;

(Teixeira Filho et al, 1997)

- proteção para solucionar acidentes ou falhas nos equipamentos;

Apesar dos benefícios que a hipotermia traz para a CEC, ela causa diversas alterações fisiológicas no organismo, já que é um estado anormal do corpo. Dessa forma, o uso da hipotermia é muito controverso, não há uma temperatura bem determinada para a cirurgia. Por isso, o que tem sido usado cada vez mais é uma hipotermia leve, com temperaturas na faixa de 34 ou 35°C, causada pela exposição do sangue ao ambiente da sala de cirurgia. A CEC realizada a essas temperaturas promove certa proteção contra possíveis defeitos mecânicos que surjam na bomba coração-pulmão e confere as vantagens da perfusão realizada à temperatura corporal normal.

1.3.5. Respostas do organismo à CEC

Qualquer alteração que é provocada no organismo, que não seja identificada como normal ou fisiológica, pode provocar respostas de defesa ou compensação por parte do organismo. A CEC causa uma série de alterações no equilíbrio fisiológico do organismo. É um agente agressor ligado a vários fatores. As principais alterações que a CEC causa são:

- perfusão com fluxo contínuo e não pulsátil, com valores um pouco abaixo do normal;
- hemodiluição;
- contato do sangue com superfícies não endoteliais;
- inibição do sistema de coagulação, através da heparinização sistêmica;
- exclusão do coração e do pulmão da circulação, impedindo que eles desempenhem suas funções de regulação hormonal;
- hipotermia.

Todas essas condições alteram a fisiologia normal, causando uma resposta do organismo, como as alterações na produção e liberação de hormônios, metabólicas, eletrolíticas e imunológicas, podendo levar à disfunção dos órgãos ou favorecimento de infecções. As reações que os pacientes apresentam à CEC podem ser diversas, desde mais brandas até mais complexas, mas a maioria dos pacientes desenvolve alguma alteração. A resposta fisiológica à CEC começa durante a cirurgia e pode se estender por diversos períodos no pós-operatório imediato.

A CEC provoca grande alteração no metabolismo da glicose. No início do procedimento ocorre o aumento da glicemia, sem o aumento proporcional da produção de insulina. Além disso, o uso da glicose é dificultado, levando o organismo a utilizar gordura como fonte de energia. Essas alterações dependem do grau de hipotermia e do tipo de perfusão aplicado. Outra alteração é em relação aos componentes do sangue, os quais sofrem grandes danos, devido ao contato com as superfícies não endoteliais do circuito. Dentre os traumas sofridos estão a hemólise, diminuição da capacidade de agregação dos leucócitos e plaquetas, além da depressão de outras funções plaquetárias. As proteínas plasmáticas também sofrem alterações, podendo aderir aos tubos do circuito ou sofrer desnaturação. Além disso, a secreção de uma série de hormônios é alterada, principalmente devido ao fluxo contínuo ao invés do fluxo pulsátil.

1.3.5.1. Síndrome da Resposta inflamatória sistêmica (SRIS)

A SRIS é caracterizada pela ativação de todos os mediadores de processos inflamatórios. Pode ser causada por uma série de fatores, como grandes traumas, grandes queimaduras e CEC. (Teixeira Filho et al, 1997)

A SRIS é uma das manifestações mais importantes em reação à CEC e é responsável pela maioria da morbidade e mortalidade relacionadas a esse procedimento. Apesar disso, a compreensão de cada um de seus elementos e da própria síndrome é complexa, pois a resposta do organismo é variada e apenas alguns pacientes a desenvolvem de forma identificável. A SRIS é desencadeada devido à junção de uma série de alterações fisiológicas e metabólicas. O principal fator é o contato do sangue com as superfícies não endoteliais, isso gera uma

reação do sistema humoral, levando a uma reação exacerbada do organismo, havendo a liberação de diversas proteínas que auxiliam no desenvolvimento da SRIS. O esquema da figura 1.6 mostra a sequência metabólica do desenvolvimento da SRIS.

Figura 1.6: Esquema que mostra a sequência metabólica de desenvolvimento da SRIS. Muitos dos mediadores bioquímicos são neutralizados no pulmão, como durante a CEC esse órgão é mantido fora da circulação, essas substâncias não são metabolizadas, o que ocorrerá apenas ao final da CEC. (Teixeira Filho et al, 1997)

As principais manifestações da SRIS são:

- aumento da permeabilidade vascular. O hormônio responsável por esse efeito é metabolizado nos pulmões, como eles são mantidos fora da circulação durante a CEC, a metabolização desse hormônio é reduzida;
- formação de edema;
- leucocitose;
- febre;

-
- vasoconstrição periférica;
 - hemólise;
 - maior suscetibilidade a infecções;
 - disfunção pulmonar e renal;
 - possível aumento de perdas sanguíneas nas primeiras horas do pós-operatório;
 - possível insuficiência de outros órgãos que não o pulmão e os rins.

O desenvolvimento da SRIS não é simples e está relacionado com uma série de fatores interligados. A maioria dos pacientes apresenta alguns sinais da SRIS, mas alguns deles desenvolvem todos eles, apresentando um quadro clínico grave. Acredita-se que a SRIS não pode ser impedida, apenas sua gravidade reduzida de forma que o desenvolvimento de quadros graves seja evitado. Não há um método eficaz para prevenir o desenvolvimento da SRIS. Nesse sentido, o que é feito, atualmente, é o aumento da biocompatibilidade dos componentes da bomba coração-pulmão, aplicação de alguns medicamentos durante a perfusão, além da utilização de circuitos extracorpóreos heparinizados e tempo de circulação o mais curto possível (Teixeira Filho et al, 1997).

1.4. Laserterapia

A luz é utilizada como agente terapêutico desde a Antiguidade. Hoje ela tem grande importância e cada vez mais aplicações em diversas áreas da medicina. O livro de Chavantes e colaboradores (Chavantes et al 2009) foi utilizado como texto base para essa seção.

1.4.1. Breve histórico

A história da fototerapia e da laserterapia não tem um começo bem definido. Civilizações antigas, com sua medicina popular, sempre souberam dos potenciais

benefícios da luz solar, crença que teve sua origem nos cultos de adoração ao sol. Já em 1500 a.C., na Índia, tratava-se vitiligo com uma planta que continha um tipo de fotossensibilizador e exposição à luz solar. Referências semelhantes aparecem na literatura Budista da época de 200 d.C. (Grossweiner, 2005). Os chineses utilizavam uma mistura de ervas maceradas e luz solar para evitar a disseminação de doenças cutâneas contagiosas. Os gregos também acreditavam que a luz solar podia fortificar e curar.

Por volta de 1800, o médico de Napoleão reparou que a cicatrização de feridas de guerra de soldados era mais rápida quando essas feridas eram expostas à luz solar. Já em 1818 foi formulado, por Grotthus e Draper o princípio fundamental da fotoquímica e que se aplica a toda a fotobiologia, inclusive laserterapia, o qual diz que apenas a absorção da luz pode produzir uma mudança química. A história passa por algumas descobertas importantes. Em 1800 foram descobertos os raios infravermelhos (IV), muito usados atualmente em laserterapia. Dois anos depois William Wollaston descobriu a existência dos espectros de absorção e de emissão dos materiais. E, em 1871, Lord Rayleigh formulou a teoria do espalhamento de luz. A primeira fototerapia controlada foi feita em 1893, por Niels Finsen. O médico dinamarquês a utilizava para tratamentos de diversas dermatoses, principalmente a *Lupus vulgaris*. Esse trabalho lhe rendeu o prêmio Nobel de 1903, por sua contribuição para o tratamento de doenças, como a *Lupus*, e por dar início a uma nova área de pesquisas na medicina (Nobelprize.org, 2011). Possivelmente, o primeiro livro sobre fototerapia foi publicado em 1898, por Willibald Gebhardt, no qual ele fala sobre as indicações (que na época incluíam, basicamente, alguns tipos de dermatoses), métodos e equipamentos necessários para a fototerapia. Na primeira década de 1900, alguns trabalhos foram desenvolvidos sobre a melhora do processo de cicatrização com o uso, principalmente, de luz solar. Nas primeira e segunda guerras mundiais esse método foi muito usado por várias nações europeias, como Alemanha, Reino Unido, França e Itália, mas com o surgimento dos antibióticos o método caiu no esquecimento, até que, recentemente, o laser de baixa intensidade tem sido usado no tratamento de úlceras. (Grossweiner, 2005; Roelandts, 2002)

A maioria dos tratamentos de fototerapia que são feitos atualmente utilizam

lasers como fonte de luz. Assim, um fato muito importante para a fototerapia foi o desenvolvimento do laser. Einstein, em 1917, estabeleceu a teoria que possibilitou a construção do laser. Apesar disso, apenas em 1960 o laser foi efetivamente construído. Nesse ano Theodore Maiman desenvolveu um laser de rubi, na faixa do vermelho. No mesmo ano foi construído o laser de He-Ne, também na faixa do vermelho (Grossweiner, 2005). Apenas um ano depois da construção do laser ele foi usado pela primeira vez em medicina. Foi feita, nos EUA, a recessão de um tumor na retina de um paciente com a utilização de um laser de rubi (Perkowitz, 2010). Em 1962, o laser de alta potência (LAP) começa a ser utilizado em diversos tipos de cirurgias, nas quais é muito aceito, pois é menos invasivo e tem maior precisão se comparado a métodos convencionais. No fim da década de 1970, Radi Macruz introduz o uso do LAP em cirurgia cardíaca, no Hospital das Clínicas e mais tarde no INCOR. No fim da década de 1960, E. Mester começou a usar laser de baixa intensidade para acelerar cicatrização de feridas cutâneas (Karu, 1989). Mas, apenas em 1988, após uma série de experimentos, Karu explica o mecanismo de ação do laser em tecidos biológicos (Karu, 1988), dando reconhecimento ao tratamento pela comunidade científica e possibilitando a difusão do método para diversas áreas da medicina.

1.4.2. Interação da luz com a matéria

Quando a luz incide na interface entre dois meios, normalmente parte da intensidade incidente é refletida e parte é transmitida. Para a maioria dos meios ocorre a reflexão parcial da intensidade incidente. Quando há luz transmitida, a intensidade inicial é atenuada em diferentes taxas, dependendo do tipo de material, se ele é transparente, opaco ou turvo, causando diminuição da intensidade inicial do feixe de luz (Niemz, 2004). Os meios transparentes são aqueles em que a luz quase não sofre atenuação. A parte do feixe que entra no material sofre um desvio de sua trajetória (refração), causado pela mudança da velocidade da luz na transição entre os meios – há o desvio da direção de propagação da luz na interface. Um exemplo de meio transparente é o vidro. Meios opacos são aqueles que reduzem a intensidade transmitida praticamente a zero, a luz é completamente absorvida quando passa pelo meio. Um exemplo de meio opaco é o carvão. Já em meios

turvos, a luz que entra no material sofre tanto absorção quanto espalhamento. O espalhamento nesses meios ocorre devido a componentes microscópicos presentes neles. Isso confere uma aparência turva a esses materiais. Os tecidos biológicos que trataremos, em particular o sangue, são meios turvos, onde a luz que é transmitida para dentro do tecido sofre basicamente dois efeitos: absorção e espalhamento, fatores esses que causam a atenuação da intensidade de luz (Grossweiner, 2005). O quanto a luz será atenuada ou absorvida no tecido biológico depende não só da composição do tecido em questão, mas também em grande parte do comprimento de onda que essa luz possui. Fatores como opacidade e transparência também dependem do comprimento de onda, de forma que um material pode ser opaco em determinado comprimento de onda, mas transparente em outro. Não se conhecem materiais que sejam opacos ou transparentes para todo o espectro eletromagnético (Niemz, 2004).

A atenuação da luz pelos tecidos biológicos acontece, principalmente, devido a múltiplos espalhamentos causados pelos componentes microscópicos dos tecidos, os quais espalham a luz em todas as direções. Além do espalhamento, a outra responsável pela atenuação, mas em menor escala, é a absorção, causada pelos cromóforos. (Grossweiner, 2005)

A absorção da luz é o responsável pelo desencadeamento da resposta biológica a esse estímulo, se não houver absorção não há resposta biológica. Essa resposta pode ser tanto benéfica quanto prejudicial, dependendo do local onde ocorreu a absorção e da quantidade de luz que foi absorvida. A luz funciona como qualquer outra droga: pode provocar efeitos bons ou ruins dependendo da dose administrada. (Grossweiner, 2005)

1.4.2.1. Absorção

Quando um fóton incide em um material ele pode ser absorvido. Sua energia pode causar excitação dos níveis energéticos, tanto dos níveis eletrônicos quanto dos níveis vibracionais. A energia luminosa absorvida também pode ser utilizada para realizar trabalho químico.

A absorção da luz dentro de tecidos biológicos ocorre com os cromóforos, que são as unidades moleculares responsáveis pela absorção (Grossweiner, 2005). Existe uma faixa do espectro eletromagnético que não sofre grande absorção pelos cromóforos presentes nos tecidos, essa faixa é chamada de janela terapêutica e está na região do vermelho e IV próximo entre os comprimentos de onda de 600 a 1200 nm. Radiações que estejam na faixa da janela terapêutica penetram nos tecidos com pequenas perdas, podendo atingir, e consequentemente tratar, tecidos em regiões mais profundas (Niemz, 2004).

Figura 1.7: Gráfico com os principais cromóforos presentes no tecido biológico e seus respectivos coeficientes de absorção.

A grandeza que mede a probabilidade de um fóton de luz ser absorvido em um determinado material límpido, ou seja, não turvo é o coeficiente de absorção α . O decaimento da intensidade inicial do feixe de luz é representado pela Lei de Lambert-Beer:

$$I(x) = I_0 e^{-\alpha x} \quad (1.1)$$

onde I_0 é a intensidade inicial do feixe e I é a intensidade do feixe após atravessar

uma espessura x de um material com um coeficiente de absorção α . Cada tipo de tecido possui um coeficiente de absorção específico para cada comprimento de onda.

Em tecidos biológicos os principais cromóforos são a água e macromoléculas como proteínas e pigmentos, e os principais deles são a melanina e a hemoglobina (Neimz, 2004). O gráfico da figura 1.7 mostra os principais cromóforos presentes em tecidos biológicos e os coeficientes de absorção de cada um deles.

1.4.2.2. Espalhamento

O espalhamento, no tecido biológico ocorre devido a componentes microscópicos dos tecidos, principalmente macromoléculas e células, que causam o espalhamento da luz. Ele é o maior responsável pela atenuação da luz, causando, muitas vezes, uma baixa penetração desta em tecidos não pigmentados (Grossweiner, 2005). O espalhamento pode ocorrer de algumas formas. A primeira delas acontece quando a onda de luz incidente tem uma frequência que não é natural da partícula com a qual ela interage, o que causa uma oscilação forçada. Normalmente essa oscilação tem a mesma frequência e direção do campo elétrico da onda incidente, mas a amplitude é muito menor do que se ocorresse a ressonância (Niemz, 2004). A outra forma é quando ocorre a reflexão da onda na superfície do corpo com a qual ela interage, normalmente esse corpo é uma célula ou algum outro componente do tecido.

A grandeza que mede a probabilidade de um fóton de luz ser espalhado quando passa por um material é o coeficiente de espalhamento β . Esse coeficiente também depende do material e do comprimento de onda da radiação incidente. (Niemz, 2004)

Existem dois tipos de espalhamento, o elástico, em que o comprimento de onda do fóton espalhado é o mesmo que o do fóton incidente e o espalhamento inelástico em que o comprimento de onda do fóton espalhado é maior que o do fóton incidente. Para os casos que trataremos o principal tipo de espalhamento que ocorre é o espalhamento elástico. (Neimz, 2004)

Figura 1.8: Digrama representativo dos ângulos de espalhamento para os espalhamentos Rayleigh (A), com as linhas pontilhadas representando espalhamento de luz com duas polarizações perpendiculares e a linha cheia representando luz não polarizada; e Mie para partículas esféricas (B) com a linha pontilhada e a cheia representando as componentes de polarização vertical e horizontal, respectivamente. (Grossweiner, 2005)

Existem dois tipos de espalhamento elástico que ocorrem nos tecidos biológicos, o espalhamento Rayleigh e o espalhamento Mie. O **espalhamento Rayleigh**, foi estudado por Lord Rayleigh, em 1871. Ele propôs que esse tipo de espalhamento ocorre porque o campo elétrico oscilante da onda eletromagnética causa a vibração dos elétrons da partícula espalhadora. Esses elétrons irradiam luz com o mesmo comprimento de onda da luz incidente. Essa teoria considera o caso particular em que o espalhamento é ocasionado por partículas com tamanho muito menor que o comprimento de onda da luz incidente. A intensidade espalhada em determinada direção é inversamente proporcional ao comprimento de onda à quarta potência. O espalhamento Rayleigh é praticamente isotrópico, sem uma direção preferencial, vide figura 1.8. O **espalhamento Mie** é aplicado para centros espalhadores de tamanho semelhante ao comprimento de onda da luz incidente. Recebe esse nome, pois Gustave Mie foi o primeiro a resolver o problema, em 1908. Esse tipo de espalhamento ocorre preferencialmente na direção frontal (Grossweiner, 2005). Há duas diferenças principais entre os espalhamentos Rayleigh e Mie. A primeira delas é a dependência da intensidade espalhada com o comprimento de onda. O espalhamento Rayleigh é proporcional a λ^{-4} enquanto o

espalhamento Mie é proporcional a λ^{-x} sendo $0,4 \leq x \leq 0,5$. A outra diferença é a direção preferencial de espalhamento: o espalhamento Rayleigh é praticamente isotrópico, enquanto o espalhamento Mie ocorre preferencialmente na direção frontal (Niemz, 2004).

Como ocorrem múltiplos espalhamentos a diferentes ângulos, com diferentes probabilidades dependendo do tipo de espalhamento, definiu-se a função de probabilidade $p(\theta)$ de um fóton ser espalhado em um ângulo θ , o qual é ajustado a dados experimentais. Se p não depender de θ , o espalhamento é isotrópico, mas se p depender de θ , então, o espalhamento é anisotrópico. Na prática essa tendência é medida pelo coeficiente de anisotropia g que representa o valor médio do cosseno do ângulo de espalhamento θ . Se $g = 0$, o espalhamento é isotrópico; se $g = 1$ o espalhamento ocorre preferencialmente na direção frontal; e se $g = -1$ ocorre preferencialmente o retroespalhamento. Para tecidos biológicos g fica na faixa de 0,7 e 0,99, o que representa ângulos entre 8° e 45° . (Neimz, 2004)

1.4.2.3. Meios Turvos

Meios turvos são aqueles em que ocorre tanto absorção quanto espalhamento. A proporção entre os dois tipos de interação é variável (Neimz, 2004). A maioria dos tecidos biológicos, nos comprimentos de onda da janela terapêutica, são meios turvos.

O coeficiente de atenuação desses meios é uma soma dos coeficientes de absorção e de espalhamento:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (1.2)$$

onde I_0 é a intensidade inicial do feixe e I é a intensidade do feixe que mantém a mesma direção e energia de fóton após atravessar uma espessura x de um material com coeficiente de atenuação μ . O coeficiente de atenuação μ é a soma dos coeficientes de absorção e espalhamento $\mu = \alpha + \beta$. Muitas vezes utilizam-se os coeficientes de espalhamento e atenuação reduzidos β' e μ' , onde $\beta' = \beta(1-g)$ e $\mu' = \alpha + \beta'$ (Niemz, 2004). O coeficiente de espalhamento reduzido é importante, pois

indica a quantidade de fótons que são espalhados e desviados para uma direção muito diferente da direção de propagação do feixe.

Em meios turvos normalmente ocorrem múltiplos espalhamentos. Com isso, a direção de incidência do feixe e a direção do primeiro espalhamento se perdem, tornando a luz no material difusa, a direção dos fótons é praticamente isotrópica, com direções quase aleatórias depois de alguns espalhamentos. (Grossweiner, 2005)

1.4.3. Efeitos biológicos da laserterapia

Os efeitos que a laserterapia provoca nos tecidos biológicos dependem de alguns fatores. O primeiro deles é a potência do laser aplicado. A laserterapia pode ser dividida em dois grupos, chamados Laser de Alta Potência (LAP) e Laser de Baixa Intensidade (LBI).

O LAP é também chamado de laser cirúrgico. Eles têm potência acima de 1 W e grande precisão, podendo ser utilizados em diversos tipos de procedimentos, de forma menos invasiva que os métodos tradicionais. Os modos de ação do LAP dependem da potência do laser e podem ser de vários tipos, podendo causar coagulação, carbonização, vaporização, cortes precisos, destruição e remoção de tecidos e quebra da ligação da cadeia quaternária do DNA.

Já o LBI tem uma potência menor que 1 W e não provoca aumento de temperatura superior a 1°C, portanto sua ação não se deve a efeitos térmicos, mas sim a efeitos fotofísico-químicos, devido a absorção por receptores exógenos ou endógenos celulares. Os receptores endógenos, também chamados de cromóforos endógenos, são moléculas naturalmente presentes nas células, sua função não é exclusivamente a de receber e absorver luz, mas a absorção da luz pode facilitar o desempenho de sua função na célula.

A biomodulação ocorre devido à absorção da luz pelos receptores endógenos, provocando a bioestimulação ou bioinibição de processos celulares. A ação do laser para biomodulação pode ser dividida em dois mecanismos, o primário, que ocorre

durante a irradiação, levando a mudanças químicas e/ou físicas das moléculas fotoceptoras; e o secundário, que pode ocorrer desde horas até dias após o término da iluminação, e é devido às mudanças primárias provocadas nos fotoceptores. Essas reações são devidas a cascatas de processos bioquímicos iniciados por essas moléculas. Os fótons que são absorvidos causam, segundo Karu, transferência de elétrons na cadeia respiratória, isso leva também a alterações nos potenciais de membrana e das bombas de sódio-potássio e cálcio. Isso ocasiona um aumento da síntese de ATP intracelular, o que acaba por facilitar a divisão celular. O LBI também irá controlar a produção de marcadores inflamatórios, como as prostaglandinas e interleucinas. Porém, o mecanismo pelo qual o LBI causa a redução do processo inflamatório não é bem conhecido, mas há estudos que demonstram esse efeito, Sakurai et al, 2000 e Lopes-Martins et al, 2005. Possivelmente o LBI, age na redução dos níveis da prostaglandinas E2 (PGE-2) através da inibição da ciclo-oxigenase-2 (COX-2). Além disso, causa diminuição da migração de leucócitos (Lopes-Martins et al, 2005).

2. Materiais e métodos

2.1. Materiais

2.1.1. Lasers

Os dados dos lasers utilizados para os experimentos estão apresentados na tabela 2.1. Antes de cada experimento os lasers foram mantidos ligados para estabilização da potência de saída, com o ar condicionado do laboratório ligado.

Para o laser de diodo infravermelho foi utilizado um obturador a fim de garantir que o feixe fosse circular, assegurando assim simetria ao redor do feixe laser.

Tabela 2.1: Dados dos lasers usados nos experimentos.

Tipo de laser	Faixa do espectro	Comprimento de onda (nm)	Potência de saída (mW)	Diâmetro do feixe (mm)
He-Ne	Vermelho	632,8	5	0,6
Diodo	Infravermelho	820	1,5	1,2
Diodo	Vermelho	635	35	1,2

2.1.2. Fibra ótica

Foi utilizada uma fibra ótica com 250 μm de diâmetro com a finalidade de captar a luz espalhada na amostra e conduzi-la até o medidor de energia luminosa. A parte da fibra ótica que era colocada dentro da amostra estava sem a capa plástica protetora.

A fim de garantir que a fibra ótica ficasse retilínea e que sua posição de entrada na amostra fosse mensurável foi utilizada uma guia metálica, com 1,5 mm de diâmetro externo, mostrado na figura 2.1.

Figura 2.1: Foto da guia utilizada a fim de garantir que a fibra ótica ficasse retilínea.

Figura 2.2: Desenho que mostra a faixa de ângulos de incidência da luz para as quais ocorre a transmissão pela fibra ótica. O ângulo θ_c é o ângulo crítico que causa reflexão total e n são os índices de refração de cada um dos meios.

Guias de onda, em particular fibras óticas, possuem uma abertura angular para a transmissão da luz recebida. A transmissão da luz só ocorre se sua incidência for a um ângulo menor que o ângulo chamado θ_{max} (vide figura 2.2) em relação ao eixo normal da fibra. Se a luz incidir dentro do cone de abertura $2\theta_{max}$ ela será transmitida, mas se incidir fora dele não haverá transmissão.

2.1.3. Posicionadores

Para garantir a posição da fibra ótica em relação ao feixe de laser foram utilizados dois tipos de máscara feitas de resina de poliéster, representadas na figura 2.3. A primeira delas (figura 2.3 – A) tem um orifício central, para o feixe laser com 2,95(5) mm de diâmetro e orifícios radiais, para a fibra ótica, com 1,50(5) mm de diâmetro cada um deles. O primeiro desses orifícios está a 4 mm do centro, o segundo a 5 mm e assim por diante, até o último que está a 11 mm do centro. Essa máscara foi feita com essa configuração, pois se espera simetria radial do espalhamento em torno do feixe. A segunda máscara (figura 2.3 – B) possui apenas orifícios para a fibra ótica com 1,50(5) mm de diâmetro cada. Os orifícios estão dispostos em forma de cruz; e estão a uma distância de 2 mm entre si, com exceção de um par de orifícios que estão a uma distância de 3 mm.

Figura 2.3: Desenho das máscaras utilizadas durante os experimentos para garantir a posição relativa entre o laser e a fibra ótica. Em A, o orifício central, para o feixe laser tem 2,95(5) mm de diâmetro e cada um dos outros orifícios, para a fibra ótica têm 1,50(5) mm de diâmetro. O primeiro desses orifícios está a 4 mm do centro, o segundo a 5 mm e assim por diante, até o último que está a 11 mm do centro. Em B, todos os orifícios, para a fibra ótica, têm o mesmo diâmetro de 1,50(5) mm e distância entre si de 2 mm, a não ser pelo orifício que está mais distante, com 3 mm de distância do orifício central.

2.1.4. Medidor de energia luminosa

O medidor de energia luminosa utilizado foi um *Optical Meter (Newport Hand-Held Optical Meter, modelo 1918-C)*, com um adaptador para fibras óticas.

Esse medidor foi utilizado no modo de integração, com a potência luminosa sendo integrada em 60 s, intervalo de tempo que foi medido com o auxílio de um cronômetro, já que o próprio *Optical Meter* não tem uma função desse tipo. Esse modo de medida foi escolhido, pois a intensidade de luz coletada pela fibra ótica era muito baixa, ficando no limite de detecção do aparelho quando usado o modo potência.

2.1.5. Cubetas

Foram utilizados dois tipos de cubetas cilíndricas de acrílico transparente, com índice de refração de 1,49 (Bartoli et al, 1999), com uma janela lateral plana. A tabela 2.2 mostra as dimensões dessas cubetas e a figura 2.4 mostra o desenho dessas cubetas.

Figura 2.4: Representação das cubetas utilizadas nos experimentos. Em A, temos a visão tridimensional da cubeta. Em B, temos a visão da seção transversal da cubeta.

Tabela 2.2: Tabela com as dimensões das cubetas utilizadas no experimento.

Cubeta	Diâmetro interno (mm)	Janela plana (mm)	Altura (mm)
Grande	25,58(7)	9,99(11)	50,07(5)
Pequena	11,95(7)	5,22(12)	49,79(10)

2.1.6. Líquidos espalhadores

Foram utilizados dois líquidos espalhadores distintos. O primeiro deles,

Lipovenos PLR 10% (emulsão lipídica para administração intravenosa) é um líquido espalhador, com propriedades óticas muito bem conhecidas (Pogue e Patterson, 2006), ele foi utilizado para a validação do arranjo experimental e determinação da incerteza desse arranjo. A composição do Lipovenos está mostrada na tabela 2.3.

Tabela 2.3: Composição do líquido espalhador Lipovenos PLR 10% (Fresenius Kabi Brasil, 2011).

Componente	Quantidade (a cada 1000 mL)
Óleo de soja purificado	100,0 g
Glicerol	25 g
Lecitina de ovo	6 g
Excipientes (água, oleato de sódio)	1000 mL

Tabela 2.4: Composição da solução de Ringer simples, usada como perfusato para hemodiluição do sangue. (Equiplex, 2011)

Substância	Quantidade (g/L)
Cloreto de sódio	8,6
Cloreto de potássio	0,3
Cloreto de cálcio	0,33

O outro líquido espalhador utilizado foi o próprio sangue venoso de doadores humanos voluntários.

Para a anticoagulação do sangue foi utilizado Hemofol, heparina sódica 5000 UI/mL da marca Cristália, na proporção de 1 mL de heparina para 20 mL de sangue, volume máximo colhido do voluntário a cada vez. Segundo Souza e Elias, 2006, seria necessário apenas cerca de 0,03 mL de heparina para cada 20 mL de sangue. Essa proporção não foi utilizada devido à dificuldade de medida de

volumes dessa magnitude com as seringas utilizadas para punção do sangue. O perfusato utilizado para a hemodiluição foi a solução de Ringer simples, cuja composição é descrita na tabela 2.4.

As amostras de sangue eram coletadas dos voluntários e o sangue já misturado com a heparina para evitar a coagulação. Após a coleta, as amostras foram preparadas de duas formas distintas, mas ambos dentro da faixa apresentada pelo trabalho realizado por Souza e Elias, 2006:

- O sangue era centrifugado em uma centrífuga a uma rotação de 4000 rpm por 10 min; Determinado o hematócrito, o volume de diluentes era calculado para diminuir o hematócrito para 24%; A razão da quantidade de perfusato e a quantidade de soro fisiológico utilizado foi mantida em torno de 1,3. Esse procedimento foi utilizado quando havia acesso à centrífuga.
- Os volumes de perfusato e soro fisiológico foram calculados de acordo com as proporções volume de diluente e peso do paciente, apresentados pelo trabalho de Souza e Elias, 2006. Esse procedimento foi utilizado quando o sangue não foi centrifugado.

As amostras foram mantidas sob refrigeração com temperaturas entre 2 e 6°C (Anvisa, 2010), por um período máximo de uma semana, período esse em que não era possível observar a hemólise do sangue, caracterizada pela coloração avermelhada do plasma sanguíneo da amostra.

2.1.7. Tubos dos circuitos de CEC

Foram utilizados os dois tipos de tubos que fazem parte do circuito de CEC, tanto o de menor diâmetro quanto o de maior diâmetro. Esses tubos são compostos de PVC atóxico, com índice de refração de 1,54 (Wilkes et al, 2005), transparente e têm diâmetro interno e espessura da parede um pouco variáveis, dependendo da marca que é utilizada. A tabela 2.5 mostra as informações de diâmetro interno e espessura de parede para cada um dos tubos usados.

Tabela 2.5: Dimensões dos tubos utilizados no experimento. (Cedidas pelo Incor).

Marca	Diâmetro interno (mm)	Espessura da parede (mm)	Tipo de sangue que recebe
Braile Biomédica	6,80(9)	1,45(5)	Venoso
Braile Biomédica	10,00(10)	2,15(6)	Venoso e arterial
RWR Equipamentos Hospitalares	5,98(7)	1,82(6)	Venoso

2.1.8. Reômetro

Para o experimento de propriedades reológicas do sangue foi utilizado um reômetro rotacional modelo Physica MCR 301, da marca Anton Paar, com um sistema cone-placa, como o da figura 2.5. As informações técnicas do aparelho estão apresentadas na tabela 2.6.

Tabela 2.6: Informações técnicas do reômetro rotacional modelo Physica MCR 301 da marca Anton Paar, com sistema cone-placa.

Faixa de torque	0,1 $\mu\text{N.m}$ a 200 mN.m
Resolução do torque	0,001 $\mu\text{N.m}$
Volume de amostra	0,57 mL
Raio do cone	25 mm
Ângulo do cone	1°

Figura 2.5: Foto do reômetro utilizado no experimento. (Cedido pela Polimate).

2.2. Métodos

Foram utilizados três arranjos experimentais principais para os experimentos, representados na figura 2.6. A iluminação foi realizada de duas formas, paralela à fibra ótica (figura 2.6 – A, com a máscara da figura 2.3 – A), com o feixe incidindo pela parte superior (aberta) do recipiente (cubeta ou tubo), ou perpendicular a fibra ótica (figura 2.6 – B, com a máscara da figura 2.3 – B), com o laser incidindo pela lateral do recipiente. O terceiro arranjo (figura 2.6 – C) foi utilizado para o experimento de transmissão e para tal não foi utilizada a fibra ótica: o laser foi colocado incidindo na amostra pela parte superior da cubeta, e o detector do *Optical Meter* foi colocado na parte inferior da cubeta para detectar a luz transmitida pela

amostra. Todas as medições foram realizadas com os líquidos espalhadores à temperatura ambiente.

Figura 2.6: Representação dos três principais arranjos utilizados nos experimentos.

2.2.1. Estudo de reprodutibilidade e determinação de incerteza

A fim de determinar a incerteza associada ao arranjo experimental utilizado, devido ao posicionamento da fibra ótica e da cubeta em relação ao feixe luminoso, foram realizados dois testes de reprodutibilidade, utilizando o arranjo da figura 2.6 – A.

Os testes foram feitos com o Lipovenos, que tem propriedades espalhadoras semelhantes a tecidos biológicos, mas é mais acessível que o sangue e não precisa de cuidados em termos de contaminação. Os testes foram realizados com os lasers de 820 nm e 632,8 nm. A profundidade da fibra ótica no líquido foi de 5 mm, distância medida com o paquímetro, tendo o final da guia como referência, pois essa foi colocada na superfície do líquido.

O primeiro teste (*R1*) tinha por objetivo avaliar a reprodutibilidade do

posicionamento da cubeta no suporte para iluminação. Consistia em fazer uma série de medidas com a fibra ótica a uma distância de 5 mm do feixe laser. Após cada série de medidas, a cubeta era retirada do seu suporte, o Lipovenos era agitado e a cubeta recolocada no suporte – a fibra era mantida fixa – depois disso era realizada nova série de medidas. O procedimento foi repetido por sete vezes.

O segundo teste (*R2*) tinha por objetivo avaliar a reprodutibilidade do posicionamento da fibra ótica na máscara e da cubeta no suporte. Foram utilizadas três distâncias ao feixe laser, 4 mm, 5 mm e 6 mm, variadas com o posicionamento da fibra em três orifícios distintos da máscara. O teste consistia em fazer uma série de medidas com a fibra em cada uma dessas três posições, sempre com a cubeta fixa. Depois da terceira série de medidas, a cubeta era retirada do suporte, o Lipovenos agitado e a cubeta recolocada no suporte. Eram então realizadas novas séries de medidas, mas com uma permutação da ordem de posicionamento nas três distâncias utilizadas. O procedimento foi repetido seis vezes, para todas as permutações possíveis das três posições.

Cada série de medidas era composta de sete medições da energia luminosa.

O primeiro fator avaliado para esses dados experimentais foi a influência da cronometragem manual nos valores de energia. Para tal foram feitas séries de sete medidas com um intervalo de tempo que se tentou manter fixo e foi observada a dispersão dos valores da energia graficados em função do tempo de integração.

Além disso, para cada um dos testes foram avaliados os dados em ordem cronológica, a fim de identificar possíveis descontinuidades na sequência de dados.

Também foram realizados experimentos para verificar a energia incidente dos lasers, a fim de determinar a estabilidade dessa energia. Esses experimentos foram realizados sem a utilização da fibra ótica, a fim de determinar qual a influência do laser, da máscara e do obturador nos resultados obtidos, sem a interferência de possíveis efeitos da fibra ótica. Foram feitas medições em duas posições distintas para o laser vermelho – posição 1: antes da máscara; e posição 2: depois da máscara (vide figura 2.7 – A). Já para o laser infravermelho foram feitas medições em três posições distintas – posição 0: antes do obturador; posição 1: entre o

obturador e a máscara; e posição 2: depois do obturador e da máscara (vide figura 2.7 – B). As posições 1 e 2 são as mesmas para os dois lasers.

Figura 2.7: Indicação das posições em que foram feitas medições das energias incidentes dos lasers vermelho (A) e infravermelho (B).

2.2.2. Espalhamento radial da luz no sangue

Para o sangue com diluentes, com os comprimentos de onda de 820 nm e 632,8 nm foram realizados experimentos para verificar a intensidade de luz espalhada ao redor da direção de incidência do feixe laser. Para o Lipovenos esse experimento foi realizado apenas com o laser de 820 nm.

Para tal foi utilizado o arranjo da figura 2.6 – A, com o feixe laser incidindo sobre o sangue diluído, pelo orifício central e a fibra ótica colocada em cada um dos outros orifícios, começando a 4 mm de distância do centro e indo até 11 mm.. Esse experimento foi realizado para vários planos do líquido, com a fibra ótica colocada a diversas profundidades. A energia incidente do laser foi medida a cada conjunto de quatro medições de espalhamento radial a fim de verificar se não havia mudanças significativas dessa energia. Os valores de fundo não foram descontados. Aos dados obtidos foram ajustadas funções do tipo:

$$y=y_0+A e^{-x/t} \quad (2.1)$$

da energia (y) em função da distância radial (x). O coeficiente y_0 representa as

medições de fundo. O coeficiente t está relacionado com a penetração da luz no líquido, porém, é importante ressaltar que esse coeficiente não representa o inverso de nenhum dos coeficientes citados anteriormente: absorção (α), espalhamento (β) e atenuação (μ), pois as medições de energia foram realizadas dentro do líquido. Os valores obtidos para os coeficientes t da exponencial ajustada às várias curvas foram comparados entre si considerando nível de confiança de 99% (intervalo de confiança de três incertezas em torno da média).

2.2.3. Transmissão de luz através do sangue e das substâncias usadas para sua diluição

Foram realizados experimentos de transmissão de luz para o sangue e para cada um de seus diluentes separadamente, perfusato, soro fisiológico e heparina, utilizando o arranjo da figura 2.6 – C. Para os diluentes, com os comprimentos de onda de 820 nm e 632,8 nm, foram medidas a energia e potência transmitidas, com o *Optical Meter*, começando com a cubeta vazia e com incrementos de líquido a cada medição. Já para o sangue foi medida a energia transmitida com o *Optical Meter*, para o laser de 820 nm, começando com a cubeta vazia e com incrementos de sangue a cada medida.

Os dados obtidos foram graficados e observada a transmitância (dada pela razão entre as energias transmitida e incidente) em função da altura de líquido colocada na cubeta.

2.2.4. Simulação da situação de iluminação dos tubos durante a CEC

A situação de iluminação durante a CEC foi testada com a utilização das cubetas preenchidas com o sangue diluído, com uma altura de cerca de 40 mm. O laser de 632,8 nm foi colocado incidindo pela face plana da cubeta, na metade da altura do sangue, e a fibra ótica captando a luz transmitida ou espalhada em diferentes planos do líquido.

Para tal foi utilizado o arranjo da figura 2.6 – B. A fibra ótica foi colocada a alturas variáveis, começando com a fibra no plano de incidência do laser e depois a cada 2 mm ou 3 mm acima desse plano. Para cada um desses planos, foram medidos diversos pontos em linhas paralelas à direção de incidência do feixe e perpendiculares a ela, com a utilização da máscara da figura 2.3 – B. O orifício central da máscara foi colocado no centro da cubeta, enquanto o primeiro ponto de medida foi colocado o mais próximo possível da face plana da cubeta e ponto de entrada do laser.

Para os dados obtidos com esses experimentos, dos quais não foram descontados os valores de fundo, foram ajustadas funções do tipo da equação 2.1, da energia em função da distância à parede plana da cubeta (entrada do feixe laser). Os valores obtidos para os coeficientes t dessa equação foram comparados entre si.

2.2.5. Estudo das propriedades físicas dos tubos utilizados durante a CEC

Foram realizados experimentos de transmissão da energia incidente do laser de 632,8 nm através das paredes dos tubos, com e sem a utilização da fibra ótica.

Para as medições sem a fibra ótica os tubos foram cortados ao meio, ao longo do seu eixo. O laser foi colocado incidindo pela lateral do tubo, no centro, pelo lado externo, e o detector foi colocado do outro lado, do lado interno, vide figura 2.8 – A.

Figura 2.8: Arranjo de transmissão para tubos cortados (A) e tubos sem cortar (B). Os desenhos não estão em escala.

Para as medições com a fibra ótica foram utilizados os tubos inteiros. A energia transmitida foi medida com os tubos vazios e com os tubos com os diluentes, nas proporções usadas para a diluição do sangue, a fim de verificar se havia algum efeito de acoplamento óptico entre o tubo e o líquido, vide figura 2.8 – B. A incidência do laser bem como o posicionamento da fibra ótica foram no meio do tubo.

Os tubos *Braile Biomédica* foram utilizados em todos os experimentos. O tubo *RWR Equipamentos Hospitalares* foi utilizado apenas para o experimento sem a fibra ótica e o experimento com a fibra ótica, mas sem diluentes, para fim de comparação com o tubo de menor diâmetro da *Braile Biomédica*.

Além disso, foi realizado o experimento semelhante ao descrito na subseção 2.2.3, com a utilização de sangue diluído. Esse experimento foi realizado para o tubo da *Braile Biomédica* com o maior diâmetro, duas vezes, com amostras diferentes, para comparação dos resultados.

Para esses dados experimentais, dos quais não foram descontados os valores de fundo, também foram ajustadas funções do tipo da equação 2.1, da energia em função da distância à parede do tubo (entrada do feixe laser).

Os coeficientes t obtidos para os ajustes dos dados obtidos com os experimentos que utilizaram as cubetas e o tubo foram comparados entre si.

2.2.6. Estudo das propriedades reológicas do sangue

Para o experimento de propriedades reológicas do sangue foram utilizadas duas amostras de sangue diluído, com um total de 3,5 mL cada. As amostras estavam acomodadas em tubos para centrifuga (tipo falcon) transparentes. Uma das amostras, chamada de iluminada, foi irradiada com um laser de 635 nm, com uma potência de 35 mW (valor nominal). Foram realizadas cinco iluminações nessa amostra, com 43 s cada. Três dessas iluminações foram feitas através das paredes do recipiente e duas diretamente na superfície da amostra sanguínea, sempre com o feixe incidindo perpendicularmente à superfície iluminada. Outra amostra, chamada de controle, não foi iluminada.

As propriedades reológicas de cada amostra foram medidas com frações do líquido e foram realizadas a três temperaturas diferentes: 20°C, 30°C e 36°C, todas com a mesma fração; depois disso foi realizada uma medida a 36°C com uma fração de amostra que não havia passado pelos testes anteriores, essa última fração foi chamada de “36°C direto”. Foram medidos os valores de tensão de cisalhamento, coeficiente de viscosidade dinâmico e taxa de cisalhamento em função do torque para cada uma das temperaturas, para cada uma das amostras, iluminada e controle. Esse experimento foi realizado para valores crescentes de torque e posteriormente para valores decrescentes dessa grandeza.

Para as curvas de torque em função da taxa de cisalhamento foram avaliadas as áreas de histerese, ou seja, a área entre as curvas ascendente (obtida com torque crescente) e descendente (obtida com torque decrescente) para cada amostra. Foram feitas comparações entre as amostras iluminadas e a controle.

3. Resultados e discussão

A apresentação dos resultados foi dividida em quatro partes, a primeira delas trata da avaliação das incertezas associadas ao arranjo experimental e seus componentes. A segunda refere-se aos resultados dos experimentos realizados com o sangue e/ou seus diluentes com o laser de 820 nm. A terceira parte refere-se aos resultados obtidos para os experimentos realizados com o sangue e/ou seus diluentes com o laser de 632,8 nm e estudo da transmissão da luz pelas paredes dos recipientes do sangue, cubeta e tubos utilizados nos circuitos de CEC. E por fim, a quarta parte refere-se ao estudo das propriedades reológicas do sangue.

3.1. Estudo de reprodutibilidade

3.1.1. Cronometragem manual

O primeiro item avaliado foi a influência da cronometragem manual nos dados obtidos. Os gráficos das figuras 3.1 e 3.2 mostram os resultados obtidos para o teste de reprodutibilidade *R1* (reprodutibilidade do posicionamento da cubeta no suporte para iluminação), no formato energia medida em função do tempo de integração medido com o cronômetro, para os lasers de 632,8 nm e 820 nm, respectivamente, iluminando uma amostra de Lipovenos colocada na cubeta. Já os gráficos das figuras 3.3 e 3.4 mostram os resultados obtidos para o teste *R2* (reprodutibilidade do posicionamento da fibra ótica na máscara e da cubeta no suporte), para ambos os lasers. O gráfico da figura 3.5 mostra o histograma dos tempos de integração obtidos para todos os experimentos.

Podemos notar que não há tendências nos dados devido ao fato de os tempos terem sido medidos manualmente. Há algumas separações nos dados, principalmente nos gráficos das figuras 3.1 e 3.4, mas isso se deve a outros fatores que não o tempo de integração, os quais serão discutidos mais adiante. A média obtida para os tempos de integração foi de 60,03(8) s, compatível com 60 s, considerando nível de confiança de 68%. Assim, como o desvio relativo é da ordem

de 0,13%, muito menor que os observados para os valores de energia, o tempo de integração foi considerado constante e igual a 60 s e nenhuma correção em relação a esse fator foi feita.

Figura 3.1: Resultados obtidos para o teste *R1*, com o laser de 632,8 nm.

Figura 3.2: Resultados obtidos para o teste *R1*, com o laser de 820 nm.

Figura 3.3: Resultados obtidos para o teste *R2*, com o laser de 632,8 nm para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.

Figura 3.4: Resultados obtidos para o teste *R2*, com o laser de 820 nm para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.

Figura 3.5: Histograma com todos os tempos de integração obtidos para os experimentos (total de 2376 medidas). A média de tempo de integração foi 60,03 s e o desvio padrão foi 0,08 s, cerca de 0,13%.

3.1.2. Teste *R1* (reprodutibilidade do posicionamento da cubeta no suporte para iluminação)

Os resultados do teste *R1* estão representados nas figuras 3.6 e 3.7, para os comprimentos de onda de 632,8 nm e 820 nm, respectivamente. As linhas verticais representam a separação entre séries de medidas.

No gráfico da figura 3.6 podemos ver que, depois da primeira sequência de dados, há uma queda brusca da energia, a qual pode ser devida ao posicionamento da cubeta, ou variação de potência do laser utilizado. A separação que aparece no gráfico da figura 3.1 se deve a essa queda, de forma que os dados acima desse patamar se referem aos dados da primeira série de medidas e os dados abaixo dele se referem às outras sequências de dados. Depois dessa queda brusca, a energia variou no sentido de estabilização e não houve mais saltos. Já no gráfico da figura 3.7, observa-se que há bastante flutuação dos dados, sem nenhum salto muito claro, nem tendências.

Para cada grupo de medidas, para cada um dos comprimentos de onda, foi

calculada a média da energia, o desvio padrão do grupo e o coeficiente de variação (razão entre o desvio padrão e média). Os resultados estão apresentados na tabela 3.1. Pode-se perceber que o coeficiente de variação, principalmente para o laser de 632,8 nm, para cada grupo individualmente é menor que 1%, porém quando os grupos são comparados entre si esse coeficiente não é mais tão baixo, pois há variações maiores entre os grupos. Ou seja, a repetitividade é melhor que 1%, mas a reprodutibilidade atinge valores próximos a 3%.

Figura 3.6: Resultados para o teste *R1*, com o laser de 632,8 nm.

Figura 3.7: Resultados para o teste *R1*, com o laser de 820 nm.

Tabela 3.1: Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada um dos grupos de medida realizadas para o teste *R1*, para cada um dos lasers utilizados.

Comprimento de onda (nm)	Grupo de dados	Média (nJ)	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)
632,8	1	373,5	2,4	0,64
	2	337,6	1,8	0,53
	3	345,4	1,7	0,50
	4	351,2	1,2	0,33
	5	354,6	1,1	0,31
	6	354,0	1,5	0,41
	7	353,4	0,9	0,24
	Todos	353	10	2,9
820	1	85,4	1,4	1,7
	2	89,0	1,1	1,3
	3	88,6	1,1	1,3
	4	86,3	1,7	2,0
	5	89,4	1,1	1,2
	6	89,6	1,0	1,2
	7	90,4	0,6	0,7
	Todos	88,4	2,1	2,3

3.1.3. Teste *R2* (reprodutibilidade do posicionamento da fibra ótica na máscara e da cubeta no suporte)

Os resultados do teste *R2* estão representados nas figuras 3.8 e 3.9, para os comprimentos de onda de 632,8 nm e 820 nm, respectivamente. As linhas verticais representam a separação entre diferentes séries de medidas.

No gráfico da figura 3.8, podemos reparar que os conjuntos são bem comportados, ficando em uma mesma faixa de energia. Apesar disso, vemos que há um grande salto nos dados obtidos a 5 mm do centro, na 21ª medição. Nas outras distâncias também podemos observar esse salto, mas ele não é tão grande quanto em 5 mm. Possivelmente esses saltos são devidos a diferenças no posicionamento da cubeta e da fibra ótica, ocasionando pequenas diferenças nas energias medidas. Outro fator que pode causar essas diferenças é a variação de potência incidente do laser.

Figura 3.8: Resultados para o teste *R2*, com o laser de 632,8 nm, para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.

Figura 3.9: Resultados para o teste *R2*, com o laser de 820 nm, para as distâncias ao feixe laser de 4, 5 e 6 mm.

Já observando o gráfico da figura 3.9 vemos que há um salto muito grande na energia para todas as distâncias, após a medida número 7. Esse salto foi devido à mudança da potência do laser, que sofreu um aumento de 2,6 vezes. Para os dados obtidos depois dessa série o comportamento é dentro do esperado, as energias se mantêm em uma mesma faixa. Depois desse grande salto ocorrido após o primeiro grupo de dados, não houve outros dessa magnitude, apenas saltos de pequena amplitude que possivelmente são devido ao posicionamento da cubeta e da fibra.

Os valores da média, desvio padrão e coeficiente de variação de cada um desses grupos de dados, para cada uma das distâncias, com cada um dos lasers usados estão na tabela 3.2. Nesse caso também é possível notar que cada grupo de medidas, individualmente, tem um coeficiente de variação bem pequeno, mas quando os grupos são comparados entre si esse coeficiente já não é mais tão baixo, o que nos mostra que o posicionamento dos componentes do arranjo são, de fato, um ponto crítico e uma grande fonte de incertezas experimentais.

Tabela 3.2: Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada um dos grupos de medida realizadas para o teste *R2*, para cada uma das distâncias ao feixe laser, com cada um dos lasers utilizados.

Comprimento de onda (nm)	Distância ao feixe laser (mm)	Grupo de dados	Média (nJ)	Desvio padrão (nJ)	Coeficiente de variação (%)
632,8	4	1	438,2	1,7	0,38
		2	456,8	2,3	0,51
		3	466	2,9	0,63
		4	501,6	1,4	0,27
		5	492,8	2,7	0,54
		6	496,7	2,6	0,52
		Todos	475	24	5,0
	5	1	367,2	2,7	0,73
		2	373,5	1,5	0,40
		3	372,3	5,4	1,45
		4	420,4	7,8	1,84
		5	433,5	1,9	0,43
		6	435,0	2,2	0,50
		Todos	400	30	7,6
	6	1	222,3	1,4	0,61
		2	218,9	1,4	0,62
		3	224,5	1,5	0,69
		4	245,3	3,3	1,34
		5	230,3	0,6	0,25
		6	233,8	1,5	0,64
		Todos	229	9	3,9
820	4	1	104,6	3,4	3,3
		2	199,9	1,3	0,6
		3	198,1	0,8	0,4
		4	192,4	1,2	0,6
		Todos	196,8	3,4	1,8

Tabela 3.2: Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada um dos grupos de medida realizadas para o teste *R2*, para cada uma das distâncias ao feixe laser, com cada um dos lasers utilizados. (Continuação)

Comprimento de onda (nm)	Distância ao feixe laser (mm)	Grupo de dados	Média (nJ)	Desvio padrão (nJ)	Coeficiente de variação (%)
820	5	1	83,0	1,2	1,4
		2	146,2	1,0	0,7
		3	142,5	1,2	0,8
		4	162,2	1,6	1,0
		5	160,5	1,2	0,7
		6	151,3	1,3	0,9
		Todos	152,5	8,0	5,2
	6	1	63,1	1,1	1,8
		2	112,1	0,9	0,8
		3	113,1	0,9	0,8
		4	110,4	0,8	0,8
		5	113,8	1,5	1,3
		6	120,3	1,4	1,2
		Todos	113,9	3,6	3,2

3.1.4. Energia incidente dos lasers

As energias incidentes de ambos os lasers foram medidas a fim de verificar qual a influência desse fator nas irregularidades apresentadas nos testes *R1* e *R2*, isolado das possíveis influências da fibra ótica. Os resultados obtidos para o laser de 632,8 nm estão representados no gráfico da figura 3.10. Analisando esse gráfico, pode-se perceber que a energia do laser tem bom comportamento, sem apresentar grandes saltos ou variações, há apenas um momento em que a energia relativa na posição 2 foi muito maior do que as outras. As médias que foram obtidas para as energias nas posições 1 e 2 estão na tabela 3.3. Nota-se que a média da energia na posição 2 é maior do que na posição 1, esse fato possivelmente se deve à reflexão que ocorre na ponta de prova do detector. A luz refletida incide na máscara, reflete novamente e chega ao detector, gerando um pequeno aumento da energia medida. É possível que o ponto que está fora do conjunto de dados tenha ocorrido devido a um posicionamento da ponta de prova que maximizou esse efeito de reflexão e causou a medida de um valor muito acima dos outros. Repara-se também que a

faixa de coeficientes de variação são as mesmas obtidas para os testes *R1* e *R2*, o que nos permite concluir que grande parte das variações encontradas entre os grupos de medidas se deve à variação da potência incidente do laser.

Figura 3.10: Resultados da energia relativa do laser nas posições 1 e 2 (figura 2.7 – A). A energia é relativa à média das energias medidas na posição em questão, apresentadas na tabela 3.3.

Já para o laser de 820 nm, os resultados estão representados no gráfico da figura 3.11. Podemos observar que os dados têm bom comportamento, não apresentando grandes variações ao longo do conjunto de medidas na energia incidente e que, portanto, o uso da máscara e do obturador não causam efeitos importantes na medição da energia.

Tabela 3.3: Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada uma das posições em que foi medida a energia incidente do laser de 632,8 nm.

Posição	Média (mJ)	Desvio padrão (mJ)	Coeficiente de variação (%)
1	332,6	7,4	2,2
2 (com ponto 5)	397	119	30
2 (sem ponto 5)	362	23	6

Figura 3.11: Resultados de energia relativa do laser nas posições 0, 1 e 2 (figura 2.7 – B). A energia é relativa à média das energias na posição em questão, apresentadas na tabela 3.4.

As médias que foram obtidas para as energias nas posições 0, 1 e 2 estão na tabela 3.4. Aqui podemos observar que a média da energia na posição 2 é menor do que na posição 1, o que nos mostra um menor efeito de reflexão na ponta de prova comparada ao laser que emite no vermelho. A média na posição 0 é bem maior do que nas posições 1 e 2 pois o feixe desse laser é elíptico e o obturador foi colocado para transformar o feixe em circular, barrando parte do feixe. Nesse caso também é possível notar que os coeficientes de variação são da mesma ordem de grandeza que os coeficientes de variação obtidos para os testes *R1* e *R2*.

Tabela 3.4: Dados de média, desvio padrão e coeficiente de variação para cada uma das posições em que foi medida a energia incidente do laser de 820 nm.

Posição	Média (mJ)	Desvio padrão (mJ)	Coeficiente de variação (%)
0	262,2	6,1	2,3
1	89,5	3,5	3,9
2	81,3	0,6	0,8

3.1.5. Determinação da incerteza

Como não há tendências relacionadas com a medição manual do tempo de integração, e as incertezas relativas no tempo de medição são bastante baixas comparadas às das energias medidas, pode-se dizer que a incerteza associada a essa medição já está considerada quando se faz a análise da energia.

Tabela 3.5: Resumo dos dados de média, desvio padrão e coeficientes de variação para os testes *R1* e *R2*, para ambos os lasers utilizados.

Comprimento de onda (nm)	Teste/ distância	Média (nJ)	Desvio padrão (nJ)	Coeficiente de variação (%)	Número de dados
632,8	<i>R1</i>	353	10	2,9	49
	<i>R2/4 mm</i>	475	24	5,0	42
	<i>R2/5 mm</i>	400	30	7,6	42
	<i>R2/6 mm</i>	229	9	3,9	42
820	<i>R1</i>	88,4	2,1	2,3	49
	<i>R2/4 mm</i>	196,8	3,4	1,8	21
	<i>R2/5 mm</i>	152,5	8,0	5,2	35
	<i>R2/6 mm</i>	113,9	3,6	3,2	35

Já na questão do posicionamento da fibra ótica e da cubeta há uma incerteza associada. Se olharmos os desvios padrões associados aos grupos, resumidos na tabela 3.5 podemos ver que eles têm ordens de grandeza semelhantes, ficando entre 1 e 8%. Adotamos o valor de 7% de incerteza associada às medidas, que é o maior desvio padrão obtido para o conjunto dos dados, devido à pequena representatividade da incerteza determinada com pequeno número de dados. Em geral, quando feita mais de uma medida, a média foi utilizada como seu valor final e a incerteza associada foi 7% da média dividida pela raiz quadrada do número de dados. Quando se tratou de medidas de verificação da energia incidente do laser, a média não foi utilizada. Também para alguns experimentos a média não foi utilizada para que houvesse dados experimentais suficientes para o ajuste da função.

3.2. Estudo da distribuição de luz infravermelha no sangue

3.2.1. Espalhamento radial da luz no sangue

Para o laser com comprimento de onda de 820 nm, o experimento foi feito inicialmente com Lipovenos, em uma situação melhor controlada e conhecida para fim de comparação. Para facilitar a visualização do experimento, os pontos onde foram realizadas as medições estão representados na figura 3.12, para o Lipovenos as medições foram realizadas a 4 e 8 mm no eixo z, as posições radiais onde foram realizadas as medições estão distribuídas ao redor do feixe, mas na figura estão colocados todas do mesmo lado do feixe para facilitar a representação. Os resultados para esse experimento estão apresentados no gráfico da figura 3.13. Os dados experimentais se comportam como esperado, com a diminuição da energia em distâncias radiais maiores. As energias também diminuem conforme o plano de medição se afasta do plano de incidência do laser, ou seja, em um plano mais próximo à entrada do feixe ($z = 4$ mm) medem-se energias maiores no líquido, enquanto para o plano que está mais longe da entrada do feixe ($z = 8$ mm) as energias medidas são menores. Todas as curvas, independente do plano de medição tendem a um valor constante, o qual não é nulo, pois as medições do fundo não foram descontadas.

Figura 3.12: Representação dos pontos de medição utilizados para os experimentos de espalhamento radial. Apesar dos pontos estarem todos colocados do mesmo lado do feixe eles estavam distribuídos ao seu redor, essa configuração foi utilizada apenas para facilitar a representação. A referência do eixo z está na superfície do líquido e a do eixo r está no feixe laser.

Figura 3.13: Resultados obtidos para o experimento de espalhamento radial para o Lipovenos, com o laser de 820 nm. Cada grupo de dados corresponde a uma profundidade em que a fibra ótica foi colocada no líquido. A energia de incidência foi de 70 mJ com coeficiente de variação de 11%.

O gráfico da figura 3.14 mostra a comparação destes dados obtidos para o Lipovenos, experimentalmente, com dados obtidos para a simulação pelo método de Monte Carlo (Ramos et al, 2008), para a mesma situação de iluminação, já validados

anteriormente com medições externas. Cada curva teve seus dados normalizados pelo valor medido à distância radial de 4 mm. Pode-se ver que as curvas experimentais têm comportamento semelhante às curvas simuladas, porém as experimentais tendem a um valor constante mais rápido do que as simuladas. Além disso, é possível notar que as curvas obtidas a 4 mm de profundidade decaem mais rapidamente do que as curvas obtidas a 8 mm de profundidade. No trabalho de Ramos e colaboradores (2008) observou-se a proporcionalidade entre o coeficiente t da exponencial e a profundidade no Lipovenos, o que também é observado para as medições experimentais realizadas aqui. Esse resultado nos permite concluir que o arranjo e as condições experimentais estão adequados.

Figura 3.14: Comparação entre os dados obtidos experimentalmente para o Lipovenos e a simulação pelo método de Monte Carlo para a mesma situação de iluminação. Cada curva teve seus dados normalizados para o valor medido à distância radial de 4 mm.

Figura 3.15: Resultados obtidos para o experimento de espalhamento radial de luz pelo sangue diluído, com o laser de 820 nm. Cada símbolo corresponde a uma profundidade em que a fibra ótica foi colocada no líquido, segundo a legenda. A energia de cada distância radial foi normalizada pela energia obtida em 4 mm, para cada curva, esses valores estão representados na tabela 3.6.

Os resultados obtidos para o espalhamento radial em sangue diluído, com o laser de 820 nm estão apresentados no gráfico da figura 3.15. Os pontos onde foram realizadas as medições estão mostrados na figura 3.12, as profundidades (coordenada do eixo z) das medições estão representadas para cada símbolo utilizado no gráfico. As energias foram normalizadas para o valor medido à distância radial de 4 mm, para cada curva, a fim de verificar o comportamento da energia para maiores distâncias radiais, os valores obtidos nesses pontos estão mostrados na tabela 3.6. Pode-se perceber que não há diferenças significativas entre as energias medidas a diversas distâncias radiais ao feixe laser, mesmo quando a profundidade da fibra ótica no sangue é alterada. Embora um dos grupos de dados a 5 mm apresente certa tendência decrescente não é possível afirmar que há de fato essa tendência pois as medições com menor e com maior distância radial são compatíveis, com nível de confiança de 68%. É importante ressaltar que apesar dos valores que foram utilizados para a normalização (apresentados na tabela 3.6) apresentarem magnitudes diferentes, eles são compatíveis com as medições da contribuição de fundo.

Tabela 3.6: Valores utilizados para a normalização das curvas apresentadas no gráfico da figura 3.15. Apesar da diferença de magnitude desses valores todos são compatíveis com as medições da contribuição de fundo.

Profundidade de fibra no líquido (mm)	Energia obtida para a distância radial de 4 mm (nJ)
2	45,4(32)
4	43,1(30)
5 (símbolo cheio)	101(5)
5 (símbolo vazio)	62,2(31)
6	43,6(30)
8	47,0(33)
15	42,9(30)

Algumas hipóteses podem ser levantadas para o comportamento observado:

- Um dos diluentes do sangue absorve significativamente nesse comprimento de onda;
- A luz não interage com o sangue, nesse comprimento de onda, de forma que não é nem absorvida nem espalhada;
- O sangue absorve mais do que espalha luz desse comprimento de onda;
- A combinação dos coeficientes de absorção, espalhamento e anisotropia do sangue para esse comprimento de onda faz com que a quantidade de luz que chega à região em que estamos observando – distâncias radiais maiores que 4 mm do feixe laser – seja muito baixa. A luz é espalhada e/ou absorvida muito mais próximo do feixe laser.

Cada uma dessas hipóteses leva ao resultado observado, de que não há quase energia luminosa chegando a qualquer dos pontos medidos, ocasionando o comportamento constante da energia com o aumento da distância radial ao feixe. A fim de verificar essas hipóteses foram feitos, com cada um dos diluentes e posteriormente com o próprio sangue, experimentos de transmissão de luz, cujos resultados estão apresentados na próxima seção.

3.2.2. Transmissão de luz através do sangue e das substâncias usadas para sua diluição

Os resultados obtidos para a transmissão de luz (820 nm) pelos diluentes do sangue estão apresentados nos gráficos das figuras 3.16, 3.17 e 3.18 para a heparina, solução de Ringer e soro fisiológico, respectivamente.

Figura 3.16: Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela heparina, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.

Figura 3.17: Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela solução de Ringer, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.

Figura 3.18: Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pelo soro fisiológico, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.

Pode-se ver que para a heparina e para o soro fisiológico há certa tendência à diminuição da transmissão, enquanto para a solução de Ringer essa tendência é um pouco mais suave. Apesar disso, essas tendências apresentadas por todos os solventes não é suficiente para explicar os resultados apresentados no gráfico da

figura 3.15, pois a perda máxima apresentada é menor que 6% em 24 mm de solução. Dessa forma, verifica-se que nenhum dos diluentes é responsável pelo comportamento constante apresentado pela energia com o aumento da distância radial, eliminando a primeira hipótese.

Os resultados para o experimento de transmissão de luz através do sangue sem diluição, contendo apenas heparina, para evitar a coagulação, estão apresentados no gráfico da figura 3.19. Nota-se que a energia transmitida cai rapidamente, atingindo um valor constante com pequenas quantidades de líquido, com isso, podemos eliminar também a segunda hipótese, mas podemos entender porque a quantidade de luz que atinge os pontos de medição é tão baixa.

Figura 3.19: Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pelo sangue não diluído, apenas com heparina, com o laser de 820 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.

Assim temos três fatos: o comportamento da energia luminosa no interior de amostras de sangue com o aumento da distância radial ao feixe laser é constante e tem valores baixos; os diluentes não absorvem nesse comprimento de onda; a energia transmitida pelo sangue cai abruptamente com o aumento da quantidade de líquido. Além disso, é encontrado na literatura (Roggan et al, 1999) que os coeficientes de absorção e espalhamento do sangue são da ordem de $0,1 \text{ mm}^{-1}$ e 30 mm^{-1} , respectivamente e o coeficiente de anisotropia é da ordem de 1, para

experimento realizado com amostras com hematócrito de 5% (bem abaixo do utilizado aqui). Isso significa que, para esse comprimento de onda, o sangue espalha muito mais do que absorve e que esse espalhamento acontece preferencialmente na direção frontal.

Se fizermos a comparação dos coeficientes de absorção, espalhamento e anisotropia do Lipovenos ($\alpha=0,0073 \text{ mm}^{-1}$, $\beta=22,39 \text{ mm}^{-1}$ e $g=0,57$ segundo Michels et al, 2008) com os do sangue vemos que o Lipovenos absorve muito menos que o sangue e apesar de os coeficientes de espalhamento dos dois serem da mesma ordem de grandeza o coeficiente de anisotropia do sangue mostra que ele espalha preferencialmente na direção frontal, característica que não é tão acentuada para o Lipovenos.

Essas informações nos fazem concluir que o resultado observado para o espalhamento radial de luz de 820 nm no sangue é devido ao fato de que apesar de ocorrer muito mais espalhamento do que absorção, como esse espalhamento ocorre preferencialmente na direção frontal, a luz não chega às posições do sangue em que estamos observando. Assim, nessa região não ocorrem os eventos de absorção e espalhamento, ocasionando o comportamento constante da energia com o aumento da distância radial que foi observado.

3.3. Estudo da distribuição de luz vermelha no sangue

3.3.1. Espalhamento radial da luz no sangue

Os resultados obtidos para o espalhamento radial por sangue diluído, com o laser de 632,8 nm estão representados no gráfico da figura 3.20. Os pontos onde foram realizadas as medições estão mostrados na figura 3.12, as profundidades (coordenada do eixo z) das medições estão representadas para cada símbolo utilizado no gráfico. Pode-se observar que a maioria dos conjuntos de dados apresenta decaimento do valor da energia para posições radiais mais distantes ao feixe laser, como esperado. Os grupos de dados a 10 e 15 mm de profundidade, porém, apresentam energia constante com o aumento da distância radial,

possivelmente porque estão a uma profundidade em que a intensidade de luz é muito baixa e, portanto a intensidade de luz espalhada é ainda muito menor.

Para cada um dos grupos de dados, com as profundidades de 2 mm, 4 mm, 5 mm, 6 mm e 8 mm, foram ajustadas funções exponenciais, do tipo da equação 2.1 e os coeficientes t obtidos para cada um dos grupos foram comparados entre si. Esses dados estão representados no gráfico da figura 3.21. A maioria dos coeficientes é compatível entre si, pois as incertezas desses coeficientes são muito grandes, indicando que o ajuste exponencial, possivelmente, não é o mais adequado. Os coeficientes obtidos para as profundidades de 2 mm e 5 mm (os dois com as menores incertezas) são incompatíveis entre si. Não se esperava compatibilidade entre os valores desses coeficientes, pois, como mostram Ramos e colaboradores (Ramos et al, 2008) em simulações de Monte Carlo para Lipovenos, apesar do comportamento das curvas para diferentes profundidades ser semelhante, seus coeficientes não são iguais, e variam com a distância ao plano de incidência do laser.

Figura 3.20: Resultados obtidos para o experimento de espalhamento radial de luz pelo sangue diluído, com o laser de 632,8 nm. Cada símbolo corresponde a uma profundidade em que a fibra ótica foi colocada no líquido, segundo a legenda. As energias incidentes foram de 317 mJ (coeficiente de variação de 1,0%) para o grupo de dados a 5 mm; e 336 mJ (coeficiente de variação de 3,7%) para os outros grupos de dados.

Figura 3.21: Coeficientes t obtidos para os ajustes dos diversos grupos de medidas obtidos para o experimento de espalhamento radial de luz de 632,8 nm no sangue diluído.

3.3.2. Transmissão de luz através das substâncias usadas para diluição do sangue

Para o comprimento de onda de 632,8 nm foram medidas as potências transmitidas apenas para os diluentes, já que o sangue espalha muito para esse comprimento de onda. Os resultados estão apresentados nos gráficos das figuras 3.22, 3.23 e 3.24, para a heparina, solução de Ringer e soro fisiológico, respectivamente. É possível ver que não há diminuição da transmitância conforme há o aumento da quantidade de líquido, assim, podemos dizer que esses diluentes não causam modificações na absorção ou no espalhamento da luz no sangue adicionado desses diluentes.

Figura 3.22: Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela heparina, com o laser de 632,8 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.

Figura 3.23: Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pela solução de Ringer, com o laser de 632,8 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.

Figura 3.24: Resultados obtidos para o experimento de transmissão de luz pelo soro fisiológico, com o laser de 632,8 nm. A medição realizada com a cubeta vazia está representada para a altura de líquido correspondente a 0 mm.

3.3.3. Simulação da situação de iluminação dos tubos durante a CEC

Os pontos onde foram realizadas as medições para os experimentos de simulação de iluminação dos tubos do circuito de CEC estão representados na figura 3.25. As coordenadas do eixo z das medições estão representadas para cada símbolo utilizado nos respectivos gráficos. O plano do feixe (PF) corresponde ao plano xy com coordenada $z = 0$.

Os resultados obtidos para os experimentos com a cubeta grande, na mesma situação de iluminação que ocorrerá com os tubos estão representados no gráfico da figura 3.26. Com essa cubeta só foi possível medir as energias na linha paralela à direção de incidência do feixe (eixo x da figura 3.25, sempre com $y = 0$), pois na direção perpendicular (eixo y da figura 3.25) as energias eram muito baixas e estavam na faixa da contribuição de fundo. Aos dados experimentais obtidos para cada plano foram ajustadas funções do tipo da equação 2.1, também representados no gráfico. Os coeficientes t obtidos com os ajustes são apresentados mais adiante, para comparação.

Figura 3.25: Representação dos pontos de medição utilizados para os experimentos com a situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As referências dos eixos y e z estão no feixe laser ($y = z = 0$) e do eixo x está na face de incidência do feixe laser. O plano xy é o plano horizontal.

Figura 3.26: Resultados obtidos para o experimento com a cubeta grande na situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As energias foram medidas ao longo de direções paralelas à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em quatro planos acima dele.

Na figura 3.26, observa-se que, para o plano que está 2 mm acima do PF ($z = 2$ mm) as energias são sistematicamente maiores do que para o próprio PF ($z = 0$ mm), isso ocorreu, possivelmente devido ao ângulo de incidência da luz na fibra ótica, ou por contribuição de luz espalhada. Lembrando que as fibras óticas têm uma faixa angular que propicia a transmissão da luz pela fibra. Possivelmente, no plano a 2 mm acima do PF houve mais fótons incidindo na fibra na faixa angular de aceite do que houve no PF, causando então o aumento da energia medida. Para

planos com distâncias maiores do PF, a incidência nessa faixa angular também ocorre, porém nesses planos também há a diminuição da intensidade, assim as energias medidas são menores do que as energias medidas no PF. Outra possibilidade para essa diferença é que o ajuste da posição da fibra no PF é muito difícil, de forma que uma pequena mudança nessa posição faz com que a fibra não esteja mais no feixe, causando uma diminuição da energia medida nesse plano.

Os resultados obtidos para o experimento realizado com a cubeta pequena estão representados no gráfico da figura 3.27. Nesse caso ocorreu a mesma situação que ocorreu com a cubeta grande, para o plano que está a 2 mm acima do PF as energias medidas foram sistematicamente maiores que as energias no PF, o que reitera a hipótese de que nessa posição há maior quantidade de fótons incidindo na abertura angular de aceite da fibra do que no PF. Para o plano a 4 mm acima do PF ocorre também a diminuição da intensidade da luz, dessa forma, mesmo com a incidência na abertura angular de aceite da fibra as energias medidas acabam sendo, nesse caso, da mesma ordem de grandeza do que as medidas no PF.

Figura 3.27: Resultados obtidos para o experimento com a cubeta pequena na situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As energias foram medidas em direções paralelas à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele.

Para essa cubeta foi possível medir as energias na direção perpendicular à direção de incidência do feixe laser (direção y, mas em seções circulares a

diferentes alturas da cubeta, coordenada z , vide figura 3.25). Os resultados para esse experimento estão representados no gráfico da figura 3.28. Novamente temos a situação de maiores energias para o plano que está 2 mm acima do PF. Além disso, há uma tendência de diminuição da energia conforme se aumenta a distância y ao feixe, porém para $|y| = 4$ mm de distância as energias são, sistematicamente, maiores do que para $|y| = 3$ mm, embora diversos valores sejam compatíveis com nível de confiança de 68%. Lembrando que para esses experimentos foi utilizada a máscara da figura 2.3 – B, ou seja, os orifícios correspondentes às distâncias de 2 e 4 mm estão do mesmo lado do feixe enquanto o orifício correspondente à distância de 3 mm está do outro lado do feixe, o resultado obtido pode ser devido ao mau posicionamento da máscara em relação ao feixe.

Figura 3.28: Resultados obtidos para o experimento com a cubeta pequena na situação de iluminação dos tubos durante a CEC. As energias foram medidas em direções perpendiculares à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele.

3.3.4. Estudo das propriedades óticas dos tubos utilizados durante a CEC

Os resultados para os tubos foram divididos em dois grupos, os experimentos de transmissão pelas paredes dos tubos, os quais não utilizaram sangue, mas em alguns casos utilizaram os diluentes colocados no sangue. E os experimentos que

utilizaram sangue diluído e que avaliaram as energias em vários pontos do sangue dentro do tubo.

3.3.4.1. Transmissão de luz pelas paredes dos tubos

Os resultados obtidos para as medidas de transmissão de luz pelas paredes dos tubos cortadas estão representados no gráfico da figura 3.29. Pode-se perceber que a transmitância é semelhante para os tubos da *Braile Biomédica*, e em torno de 74%, enquanto a transmitância do tubo *RWR Equipamentos Hospitalares* é sistematicamente maior, ficando em torno de 82%. Esses resultados nos mostram que, apesar dos tubos serem transparentes, eles atenuam parte da luz incidente. Outro fato é que tubos de diferentes marcas têm transmitâncias diferentes, é importante notar que a diferença da transmissão não está relacionada com a espessura da parede do tubo, já que o tubo *RWR Equipamentos Hospitalares* é o que tem a espessura de parede intermediária. Para a CEC essa diferença não tem importância, mas para a nossa proposta isso pode ser um problema, pois pode significar mudanças de doses entregues ao sangue que podem causar uma diferença no efeito biológico desencadeado, já que esse efeito depende da dose entregue. Assim, é importante avaliar a transmitância da parede do tubo no comprimento de onda escolhido para iluminação.

Os resultados obtidos para a transmissão de luz pelas paredes dos tubos inteiros e vazios estão representados no gráfico da figura 3.30. Pode-se notar que a transmitância dos tubos é da ordem de 100%. Já a cubeta pequena (para a qual o experimento foi feito apenas para comparação com o laser incidindo na face plana) a transmitância é menor que 10%. Com isso, podemos concluir que o fato dos tubos serem circulares não causa efeito significativo de aprisionamento da luz dentro da parede do tubo, como uma guia de onda, mas sim permite que haja transmissão de luz para o interior delas.

Figura 3.29: Resultados de transmitância para cada um dos tubos utilizados no experimento.

Figura 3.30: Resultados de transmitância no interior dos recipientes vazios.

Figura 3.31: Resultados para a transmitância, no interior dos recipientes preenchidos com os diluentes.

Já os resultados de transmitância nos tubos preenchidos com os diluentes estão representados nos gráficos das figuras 3.31. Pode-se ver que a presença dos diluentes causa uma grande diminuição da transmitância, medida no eixo central do tubo, diminuição maior do que a causada apenas pelas paredes dos recipientes. Podemos observar também que o tubo de menor diâmetro da *Braile Biomédica*, tem transmitância menor do que a cubeta pequena, que foi o recipiente com menor transmitância quando o experimento foi feito sem os diluentes. Essa diferença não se deve à absorção pelos diluentes, pois como vimos na seção 3.3.2 os diluentes não absorvem esse comprimento de onda.

3.3.4.2. Espalhamento de luz pelo sangue contido nos tubos

Os resultados obtidos para os experimentos com o tubo *Braile Biomédica* de maior diâmetro estão representados nos gráficos das figuras 3.32 e 3.33. Os pontos onde foram realizadas as medições estão mostrados na figura 3.25, as coordenadas do eixo z das medições estão representadas para cada símbolo utilizado nos respectivos gráficos, a direção paralela ao feixe corresponde ao eixo x e a direção perpendicular ao feixe corresponde ao eixo y. Foram feitos dois grupos de medições, para fins de comparação, com amostras distintas, um grupo de medições está

representado com símbolos cheios e o outro com símbolos vazios. Nos dois casos pode-se perceber que há uma variação da amplitude da energia inicial, quando comparados os dois experimentos, o que pode ser devido à variação na potência incidente do laser. Não se observou uma maior energia na posição que está a 2 mm acima do PF como foi observado nos experimentos realizados com as cubetas. No caso da direção perpendicular à direção de incidência do feixe observa-se uma diminuição das energias conforme se aumenta a distância ao feixe laser, como esperado.

Aos dados experimentais obtidos para a direção paralela ao feixe laser (representados no gráfico da figura 3.32) foram ajustadas funções do tipo da equação 2.1 e os coeficientes t obtidos foram comparados entre si. Eles estão representados no gráfico da figura 3.34, que também mostra todos os coeficientes t obtidos com os ajustes dos dados experimentais dos experimentos realizados com as duas cubetas. Pode-se reparar que os coeficientes têm incertezas de magnitudes bem variadas. Além disso, a maioria deles se encontra na mesma ordem de grandeza. Pode-se observar que para as distâncias ao PF de 0 mm, 2 mm, 3 mm e 4 mm os coeficientes obtidos para cada um desses planos, individualmente, são compatíveis entre si. Para esse caso não se espera compatibilidade entre todos os coeficientes (Ramos et al, 2008), mas apenas entre os coeficientes obtidos para os mesmos planos xy , o que é observado para os casos citados. Ramos e colaboradores (Ramos et al, 2008) também dizem que quanto mais longe do plano de incidência se mede, maior o coeficiente t da exponencial. Esse comportamento não é observado nos coeficientes obtidos com os ajustes das curvas experimentais, provavelmente pelo fato de as incertezas serem muito grandes.

Figura 3.32: Resultados obtidos para os dois experimentos realizados com o tubo *Braile Biomédica* de maior diâmetro, para a direção paralela ao feixe laser incidente, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele. Os símbolos vazios representam um experimento e os símbolos cheios representam o outro experimento.

Figura 3.33: Resultados obtidos para os dois experimentos realizados com o tubo *Braile Biomédica* de maior diâmetro, para a direção perpendicular à direção de incidência do feixe laser, em seu plano de incidência e em dois planos acima dele. Os símbolos vazios representam um experimento e os símbolos cheios representam o outro experimento.

Figura 3.34: Coeficientes de atenuação t obtidos para os ajustes dos dados experimentais obtidos nos experimentos com as duas cubetas utilizadas e com o tubo *Braile Biomédica* de maior diâmetro.

3.3.5. Iluminação do sangue durante a CEC

Devido às pequenas dimensões do tubo de menor diâmetro não foi possível variar a posição da fibra ótica em seu interior, portanto, não foram realizadas medições com o sangue nesse tubo. Porém, espera-se que o comportamento no tubo de menor diâmetro seja semelhante ao comportamento observado no tubo de maior diâmetro no que diz respeito à distribuição de luz. Portanto, considerando-se esse fato e através da análise dos dados obtidos para as intensidades de luz que chegam a diversas regiões do sangue, podemos afirmar que a melhor configuração para a iluminação do sangue durante o procedimento cirúrgico com uso da CEC é com a utilização de pelo menos quatro fontes de luz, dispostas ao redor do tubo de menor diâmetro, cada uma formando um ângulo de 90° com a anterior. Essa configuração é necessária para que o sangue seja iluminado mais homoganeamente, já que foi verificado que para distâncias maiores que 4 mm da entrada do feixe a intensidade de luz cai significativamente. Não há a necessidade que a iluminação seja feita em várias secções do tubo, já que o sangue é mantido circulante e passa pelo circuito diversas vezes, assim, com apenas uma secção do tubo sendo iluminada de forma relativamente homogênea, praticamente todo o

sangue do paciente acaba sendo iluminado durante o procedimento.

3.4. Estudo das propriedades reológicas do sangue

Foram realizadas medições de características reológicas do sangue, como taxa de cisalhamento, tensão de cisalhamento, coeficiente de viscosidade dinâmico e torque. Essas informações foram relacionadas entre si. Os gráficos das figuras 3.35 e 3.36 apresentam as curvas do coeficiente de viscosidade dinâmico em função da taxa de cisalhamento para a amostra iluminada e para a amostra controle, respectivamente. Pode-se notar que o coeficiente de viscosidade decai rapidamente conforme a taxa de cisalhamento cresce, até certo valor, depois disso o coeficiente de viscosidade muda muito pouco. Segundo Elert (Elert, 2011) o sangue é uma substância plástica *bingham*, o que significa que a transição de altas viscosidades para baixas viscosidades acontece depois de uma determinada tensão de cisalhamento. Ele diz também que a viscosidade do sangue, a 37°C está entre 3 e 4 mPa.s, que são os valores encontrados para a parte aproximadamente constante dos coeficientes de viscosidade das amostras medidas.

Figura 3.35: Resultados do experimento de viscosidade da amostra de sangue diluído iluminada com o laser de 635 nm.

Figura 3.36: Resultados do experimento de viscosidade da amostra de sangue diluído não iluminada (controle).

É possível reparar também que as curvas obtidas para as temperaturas de 36°C não coincidem. Lembrando que a diferença entre essas duas curvas se dá pela forma com que as medições foram realizadas com as frações de amostra. A fração de amostra utilizada para a medição a 36°C foi a mesma utilizada para as medições a 20°C e 30°C, enquanto a fração de amostra 36°C direto foi utilizada apenas para as medições a essa temperatura. Para a amostra controle as curvas a diferentes temperaturas têm comportamento parecido, enquanto as amostras iluminadas correspondentes têm valores bastante diferentes para as curvas descendentes.

Os gráficos das figuras 3.37, 3.38 e 3.39 mostram a comparação dos valores dos coeficientes de viscosidade entre a amostra controle e a amostra iluminada para cada uma das temperaturas em que foram realizados os experimentos. Pode-se ver que as amostras que foram iluminadas apresentam coeficientes de viscosidade sistematicamente inferiores às amostras controle. Isso pode ser um bom resultado para a utilização do LBI durante a CEC, pois com a diminuição da viscosidade a perfusão seria facilitada. Pode-se reparar também que, às temperaturas de 20°C e 30°C para as amostras iluminadas os valores dos coeficientes de viscosidade não voltam aos valores iniciais na curva descendente, enquanto que para a amostra controle isso ocorre. Provavelmente isso aconteceu devido ao rompimento da

membrana das hemácias, liberando o líquido intracelular que possui viscosidade menor. Para as amostras a 36°C não houve diferença nesse sentido, pois nem a amostra controle, nem a amostra iluminada voltaram aos valores iniciais dos coeficientes de viscosidade, embora o efeito seja mais notável na amostra iluminada, indicando que para ambas as amostras deve ter ocorrido hemólise. Esse resultado nos mostra que possivelmente as células que foram iluminadas têm sua membrana alterada em relação às células não iluminadas, principalmente para temperaturas mais baixas, o que concordaria com o que diz Chavantes e colaboradores (Chavantes et al, 2009), de que o LBI aumenta a permeabilidade da membrana celular. Nesse experimento a modificação da membrana celular das hemácias pode ter sido evidenciada pela facilitação da hemólise.

Figura 3.37: Comparação dos valores do coeficiente de viscosidade dinâmico entre as amostras iluminada e controle, com o experimento realizado a 20°C.

Figura 3.38: Comparação dos valores do coeficiente de viscosidade dinâmico entre as amostras iluminada e controle, com o experimento realizado a 30°C.

Figura 3.39: Comparação dos valores do coeficiente de viscosidade dinâmico entre as amostras iluminada e controle, com o experimento realizado a 36°C e 36°C direto.

A relação entre o torque e a taxa de cisalhamento está apresentada nos gráficos das figuras 3.40 e 3.41, para as amostras iluminada e controle respectivamente. Pode-se perceber que, conforme a temperatura cresce o torque necessário para produzir uma dada taxa de cisalhamento diminui. O que é esperado,

dada a diminuição da viscosidade com o aumento da temperatura.

Figura 3.40: Resultados do experimento de torque para a amostra iluminada.

Figura 3.41: Resultados do experimento de torque para a amostra controle.

Para a amostra iluminada houve bastante diferença entre as duas curvas a 36°C, tanto que a curva a 36°C direto coincide com a curva a 30°C, o que mostra que as frações de amostra devem ser utilizadas apenas para um experimento e depois descartadas. Para a amostra controle a diferença entre as duas curvas a

36°C não foi tão grande, mas ela também aconteceu, portanto o mesmo cuidado deve ser tomado.

É possível observar nos gráficos de torque apresentados que a curva ascendente e a descendente não coincidem, o que significa que conforme é aplicado um torque as células sofrem uma deformação, medida pelo cisalhamento, mas quando esse torque diminui a volta ao formato original não ocorre da mesma forma como ocorreu a deformação. Assim, as áreas de histerese foram calculadas e comparadas entre si. Os resultados estão apresentados no gráfico da figura 3.42. Pode-se notar que a amostra iluminada apresenta áreas sistematicamente maiores que a amostra controle, o que pode significar que as células da amostra iluminada demoram mais para voltar ao formato inicial quando são deformadas devido à aplicação de um torque.

Figura 3.42: Áreas das curvas de histerese dos gráficos de torque em função da taxa de cisalhamento para as amostras iluminada e controle.

Assim, pode-se concluir que a iluminação também causa alterações de propriedades físicas do sangue, essas alterações precisam ser mais bem entendidas para a sua utilização em benefício do paciente em CEC.

4. Conclusões

O arranjo proposto pode ser utilizado para a realização de medidas internas de distribuição de luz em líquidos espalhadores, com a utilização da fibra ótica possibilitando medições da quantidade de luz em diversas posições internas do líquido, com uma incerteza associada da ordem de 7%. O posicionamento dos componentes do arranjo experimental é crítico para a realização das medições, dessa forma, se ele puder ser melhorado, além de facilitar a realização dos experimentos, será possível diminuir as incertezas associadas. A comparação das medições do Lipovenos com a simulação pelo método de Monte Carlo se mostrou com boa concordância, mostrando mais uma vez a adequação do método.

O arranjo foi utilizado para a determinação da distribuição de luz interna em sangue. Com isso, foi possível descartar os comprimentos de onda na faixa do infravermelho, especificamente 820 nm, para a utilização durante a CEC, pois a absorção e o espalhamento ocorrem muito próximo ao feixe laser, de forma que a luz não chega a grandes distâncias, causando um menor volume de sangue tratado se utilizados comprimentos de onda nessas faixas. Já comprimentos de onda na faixa do vermelho, especificamente 632,8 nm, se mostraram indicados para a utilização durante a CEC, pois espalham bastante a luz além de absorvê-la, possibilitando que ela chegue a maiores distâncias ao feixe laser e, portanto, um maior volume de sangue tratado simultaneamente. A iluminação do sangue deve ser feita com o sangue no tubo de menor diâmetro. Essa iluminação deve ser realizada em quatro pontos ao redor do tubo, com cada direção de incidência da fonte de luz a 90° da anterior, a fim de que o volume de sangue seja iluminado mais homoganeamente. Não é necessário que várias secções do tubo sejam iluminadas, pois o sangue é mantido circulante, possibilitando que, praticamente, todo o volume de sangue do paciente seja iluminado.

A iluminação do sangue causa mudanças nas propriedades reológicas do sangue, provocando principalmente diminuição do coeficiente de viscosidade dinâmico. Isso possivelmente é causado devido à alteração da membrana eritrocitária com a aplicação do laser, o que foi evidenciado pela hemólise provocada

nas amostras. Essas alterações precisam ser mais bem entendidas para a sua utilização em benefício do paciente em CEC.

Algumas investigações podem ser realizadas para a continuidade desse projeto. A primeira delas refere-se a um estudo aprofundado do efeito que o LBI tem sobre marcadores inflamatórios presentes em sangue iluminado em comparação com sangue não iluminado, caso a iluminação cause diminuição dos marcadores inflamatórios é necessária a otimização da dose. Outra linha é o estudo da distribuição de luz em sangue diluído passando por um circuito fechado em que o sangue é mantido circulante, com velocidade compatível com a da CEC. A junção desses dois estudos determina a dose de luz que deve ser aplicada durante a CEC para que o paciente apresente efeitos benéficos da iluminação do sangue. Por fim, o estudo das mudanças das propriedades reológicas do sangue devido à iluminação deve ser aprofundado a fim de constatar possíveis consequências à CEC.

Referências bibliográficas

Anvisa. *Resolução – RDC nº 57 de 16 de dezembro de 2010*. Diário Oficial da União, 17 de dezembro de 2010. Seção 1, p.120. Disponível em <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/23935671/dou-secao-1-17-12-2010-pg-120/pdfView>>. Acesso em 20 de janeiro de 2011.

Bartoli J. R et al. Filmes ópticos poliméricos fluorados com índice de refração gradual. *Polímeros: Ciência e tecnologia*, v. 9, n. 4, p. 148-155, 1999.

Chavantes, M. C. (editora). *Laser em Bio-medicina: princípios e práticas*. São Paulo: Atheneu, 2009.

Elert, G. *The Physics Hypertextbook*. Disponível em: <<http://physics.info/>>. Acesso em 16 agosto de 2011.

Equipex. *Bula Solução de Ringer Simples*, Equiplex Indústria Farmacêutica. Disponível em <<http://www.equiplex.com.br/pt-br/site.php?secao=produto&numgProduto=8>>. Acesso em 10 de janeiro de 2011.

Fresenius Kabi Brasil. *Bula Lipovenos® PLR*, Fresenius Kabi Brasil Ltda. Disponível em <<http://www.fresenius-kabi.com.br/file/pdf/BULA-Lipovenos-PLR.pdf>>. Acesso em 15 de agosto de 2011.

Gomes W.J., Saba J.C., Buffolo E. 50 anos de circulação extracorpórea no Brasil: Hugo J. Felipozzi, o pioneiro da circulação extracorpórea no Brasil. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, v. 20 n. 4, p. iii-viii, 2005.

Grossweiner, L.I. *The Science of Phototherapy: an introduction*. Springer, 2005.

Guyton, A.C. *Fisiologia Humana*. Rio de Janeiro: Interamericana, 1974.

Karu, T.I. Molecular Mechanism of the Therapeutic Effect of Low-Intensity Laser Radiation. *Lasers in the Life Sciences*, v. 2, n. 1, p. 53-74, 1988.

Karu, T.I. Photobiology of Low-Power Laser Therapy. *Health Physics*, v. 56, n. 5, p. 691-704, 1989.

Lopes-Martins, R A B et al. Spontaneous effects of low-level laser therapy (650 nm) in acute inflammatory mouse pleurisy induced by carrageenan. *Current Rheumatology Reviews*, v. 3, n. 2, p. 147-154, 2007.

Niemz, M.H. *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*. Springer, 2004.

Nobelprize.org. *Niels Ryberg Finsen – Biography*. Disponível em <http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1903/finsen.html>. Acesso em: 11 de julho de 2011.

Perkowitz, S. From ray-gun to Blu-ray. *Physics World*, v. 23, n. 5, p. 16-20, 2010.

Pogue, B. W. e Patterson, M. S. Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry. *Journal of Biomedical Optics*, v. 11, n. 4, p. 041102 1-16, 2006.

Ramos, A.L.O. et al. Improving Low Intensity Laser Therapy with Monte Carlo Simulation. *In: 7th International Congress of the World Association of Laser Therapy*, 2008, Sun City – África do Sul. Proceedings.

Roelandts R. The history of phototherapy: Something new under the sun? *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 46, n. 6, p. 926-930, 2002.

Roggan, A. et al. Optical Properties of Circulating Human Blood in the Wavelength Range 400–2500 nm. *Journal of Biomedical Optics*, v. 4, n. 1, p. 36-46, 1999.

Sakurai, Y. Yamaguchi, M. Abiko, Y. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *European Journal of Oral Sciences*, v. 108, p. 29-34, 2000.

Silva, J.A.M. Reologia do sangue - importância da deformabilidade eritrocitária. *O Médico*, v. 105, p.131-153, 1982.

Souza, M.H.L. Elias, D.O. *Fundamentos da circulação extracorpórea*. Rio de Janeiro: Centro Editorial Alfa Rio, 2006.

Teixeira Filho, G. F. et al. *Temas atuais em circulação extracorpórea*. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Circulação Extracorpórea, 1997.

Wilkes, C. E.; Summers, J. W.; Daniels, C. A. *PVC Handbook*. Hanser Gardner Publications, 2005.