

Estudo de embolias gasosas em microcanais com bifurcações

Sara Helena Carvalho Lopes

Trabalho de Projeto apresentado à
Escola Superior de Tecnologia e Gestão
Instituto Politécnico de Bragança

para a obtenção do grau de Mestre em
Tecnologia Biomédica

Orientadores:

Dr^a. Carla Sofia Fernandes (IPB)

Dr. João Mário Miranda (FEUP)

Novembro de 2017

Estudo de embolias gasosas em microcanais com bifurcações

Sara Helena Carvalho Lopes

Trabalho de Projeto apresentado à
Escola Superior de Tecnologia e Gestão
Instituto Politécnico de Bragança

para a obtenção do grau de Mestre em
Tecnologia Biomédica

Orientadores:

Dr^a. Carla Sofia Fernandes (IPB)

Dr. João Mário Miranda (FEUP)

Este trabalho teve a cooperação das instituições:



Novembro de 2017

Dedicatória

*Aos meus pais e irmã
Ao meu avô*

Agradecimentos

Este projeto contou com importantes apoios e incentivos, sem os quais não seria possível a sua realização.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores:

à professora Doutora Carla Sofia Fernandes pelos conhecimentos transmitidos, mas também pela dedicação e paciência da elaboração de todo o relatório;

ao professor Doutor João Mário Miranda pela disponibilidade e generosidade ao longo deste trabalho e por todo o apoio, críticas e sugestões. Sem a sua dedicação, o desenvolvimento deste projeto teria sido muito mais penoso.

Um obrigado a todos os meus amigos que foram muitas vezes o meu pilar durante estes anos, que me apoiaram e ajudaram sempre que foi preciso.

Um grande obrigada à minha irmã que nunca esteve ausente e sempre me transmitiu a força que eu precisava. Pelo seu apoio incondicional e por todo o carinho.

De uma forma carinhosa agradeço aos meus pais, sem eles nada seria possível. Pela sua compreensão e apoio, pela sua presença nos bons e nos maus momentos e por acreditarem em mim. Por todos os sacrifícios ao longo destes anos e por todo o amor que recebo todos os dias.

Agradeço ainda a oportunidade da utilização das instalações da FEUP e da UM.

Resumo

Os estudos relacionados com o escoamento de fluidos em microcanais têm assumido um lugar de destaque na área da biomédica, uma vez que permitem estudar o escoamento sanguíneo e algumas patologias que o afetam, tal como as embolias gasosas, evitando questões de ética. As embolias gasosas ocorrem quando bolhas gasosas circulam na corrente sanguínea e é importante o seu estudo pois as bolhas podem obstruir os vasos sanguíneos e provocar deterioração dos tecidos.

O objetivo deste trabalho é estudar o escoamento de fluidos em microcanais com bifurcações, capazes de produzirem bolhas. Para tal, fabricaram-se microcanais por litografia suave e, posteriormente, analisou-se o escoamento de fluidos Newtonianos e de sangue de ovino com 5 e 10% de hematócrito em Dextrano 40, para vários caudais e para pressões diferentes, com o auxílio de um microscópio invertido e uma câmara de alta velocidade.

Nestes escoamentos foi possível visualizar a formação das bolhas e o seu comportamento ao longo do microcanal e possibilitou a análise de várias características do escoamento: velocidade das bolhas e sua frequência, tempo entre bolhas, entupimento dos microcanais e efeito das bolhas no hematócrito.

Os resultados obtidos demonstraram que a velocidade das bolhas aumenta com o aumento do caudal e pressão utilizada, sendo que para caudais e pressões baixas os microcanais têm tendência a ficar obstruídos. Também demonstraram que as bolhas de ar modificam a concentração de células, existindo uma maior concentração de células atrás da bolha e uma menor concentração à frente da bolha.

Palavras-Chave: escoamento sanguíneo; microfabricação; litografia suave; embolias gasosas; microbolhas.

Abstract

Studies related to the fluids flow in microchannels have assumed a prominent place in the biomedical field, since they allow the study of the blood flow and some pathologies that affect it, such as gas embolism, avoiding ethical issues. Gaseous emboli occur when gaseous bubbles circulate in the bloodstream and their study is important because they can clog blood vessels and cause tissue deterioration.

The aim of this work is to study fluid flows in microchannels with bifurcations, capable of producing bubbles. For this, microchannels were fabricated by soft lithography and Newtonian and sheep blood with 5 and 10% hematocrit in dextran 40 flows were analyzed for various flow rates and different pressures by using an inverted microscope, and a high-speed camera.

In these flows it was possible to visualize the formation of the bubbles and their behavior along the microchannel and allowed the analysis of several parameters such as: velocity of the bubbles and their frequency, time between bubbles, microchannel clogging and the effect of the bubbles on the hematocrit.

The obtained results showed that the velocity of the bubbles increases with the increase of the flow rate and pressure used, being that for low flows and low pressures the microchannels tend to clog. They also demonstrated that the passage of air bubbles influence cell concentration, with a higher concentration of cells upstream to the bubble and lower concentrations downstream to the bubble.

Keywords: blood flow; microfabrication; soft lithography; gas embolism; microbubbles.

Conteúdo

1	Introdução.....	1
1.1	Enquadramento, motivação e objetivos.....	1
1.2	Estrutura do relatório.....	1
2	Circulação sanguínea.....	3
2.1	Sistema cardiovascular.....	3
2.1.1	Coração.....	4
2.1.2	Vasos sanguíneos.....	5
2.2	Sangue e constituintes.....	8
2.2.1	Plasma.....	9
2.2.2	Glóbulos vermelhos.....	10
2.2.3	Glóbulos brancos.....	11
2.2.4	Plaquetas.....	12
2.3	Reologia do sangue.....	12
2.3.1	Plasma.....	13
2.3.2	Hematócrito.....	14
2.3.3	Rigidez das células.....	15
2.3.4	Aglomerção das células.....	16
2.3.5	Temperatura.....	16
2.3.6	Viscosidade do sangue.....	16
3	Embolias gasosas.....	19
3.1	Embolia gasosa arterial.....	19
3.1.1	Diagnóstico da embolia gasosa arterial.....	20
3.1.2	Tratamento da embolia gasosa arterial.....	21

3.2	Embolia gasosa venosa.....	21
3.2.1	Diagnóstico da embolia gasosa venosa	22
3.2.2	Tratamento da embolia gasosa venosa	22
4	Revisão da literatura.....	23
4.1	Microfabricação.....	23
4.1.1	Fotolitografia.....	26
4.1.2	Litografia suave.....	26
4.1.3	Xurografia	27
4.1.4	Outros métodos	28
4.2	Estudos sobre embolias gasosas	29
4.3	Escoamento de sangue em microcanais.....	32
5	Materiais e métodos	39
5.1	Fabricação dos microcanais.....	39
5.1.1	Moldes obtidos por xurografia	39
5.1.2	Moldes obtidos por fotolitografia.....	42
5.1.3	Microcanais obtidos por litografia suave	44
5.2	Fluidos utilizados.....	47
5.3	Visualização dos escoamentos nos microcanais fabricados	48
5.4	<i>Software</i> utilizado na análise de resultados	51
6	Apresentação e discussão dos resultados	53
6.1	Microcanal com uma bifurcação seguida de confluência.....	54
6.1.1	Dimensões reais dos microcanais.....	54
6.1.1	Fluidos Newtonianos.....	56
6.1.2	Experiências com sangue in vitro.....	67
6.2	Bifurcações sucessivas	75
6.2.1	Fluidos Newtonianos.....	76

6.2.2	Experiências in vitro com sangue.....	82
6.3	Transposição dos resultados para o que acontece no corpo humano	93
7	Conclusão	95
7.1	Trabalhos futuros	97
	Referências bibliográficas	99
A.	Anexo	105

Lista de figuras

Figura 1 - Sistema cardiovascular [1].	3
Figura 2 – Coração [5].	4
Figura 3 - Diferentes tipos de artérias: A) Artéria elástica; B) Artéria muscular; C) Arteriola (adaptado de [5]).	5
Figura 4 – A) Capilar; B) Rede Capilar [1].	6
Figura 5 – A) Veias de médio calibre; B) Válvulas presentes nas veias [1].	7
Figura 6 - Constituintes do sangue [1].	9
Figura 7 – Glóbulos vermelhos [1].	10
Figura 8 - Glóbulos Brancos [8].	11
Figura 9 - A) Aspeto normal das plaquetas; B) Plaquetas estimuladas (adaptado de [8]).	12
Figura 10 - Viscosidades do plasma e Viscosidade do sangue [10].	14
Figura 11 - Perfil de velocidade para hematócrito superior (vermelho) e inferior (azul) a 1% [12].	15
Figura 12 - Comparação da viscosidade do sangue e da viscosidade de uma suspensão de esferas rígidas [10].	15
Figura 13 - Viscosidade elevada a baixas taxas de deformação indicam que ocorre a formação de aglomerados [10].	16
Figura 14 - Efeito de <i>Fåhræus-Lindqvist</i> [13].	17
Figura 15 - Migração das células para o centro do vaso [12].	18
Figura 16 - Embolia Gasosa Arterial Cerebral [21].	20
Figura 17 - Regimes em escoamento gás-líquido em microcanais: a) escoamento borbulhante; b) escoamento de cunha; c) escoamento de bolhas de <i>Taylor</i> ; d) escoamento anelar; e) escoamento seco (adaptado de [79]).	32
Figura 18 - Geometrias utilizadas num microcanal com contração e num microcanal com bifurcações [100].	37
Figura 19 - Modelos bidimensionais obtidos através do AutoCAD.	40
Figura 20 - <i>Plotter</i> de corte Expert 24.	41
Figura 21 – Caixa de <i>petri</i> contendo os moldes das geometrias.	41
Figura 22 – Obtenção do molde através de fotolitografia (adaptado de [56]).	42

Figura 23 - Moldes em SU-8 utilizados no presente estudo.	43
Figura 24 - Silanização dos microcanais.	43
Figura 25 – A) Balança analítica; B) Misturador.	44
Figura 26 - Bomba de vácuo utilizada para remover as bolhas.	45
Figura 27 – A) <i>Spin-coater</i> ; B) Lâminas que foram colocadas no <i>Spin-coater</i>	46
Figura 28 - Realização dos furos de entrada e de saída nos microcanais.	46
Figura 29 - Microcanais fabricados.	47
Figura 30 - Etapas necessárias para a obtenção das amostras com 5 e 10% de Hct.	48
Figura 31 - Montagem utilizada para visualizar os escoamentos: A) bomba de pressão Elveflow PG1113; B) bomba de seringa Nemesys; C) seringa; D) microscópio invertido Leica DMI 5000 M; E) câmara digital Leica DFC350 FX.	49
Figura 32 - Câmara de alta velocidade FastcamMINI.	49
Figura 33 – Ligação da seringa ao microcanal em estudo.	50
Figura 34 - Microcanal e respectivas ligações dos tubos de ligação à bomba de seringa e à bomba de pressão.	50
Figura 35 - Microcanal fabricado através de um molde obtido por fotolitografia. O ramo principal tem 100 μm de largura.	53
Figura 36 – Larguras dos ramos estudadas na comparação das dimensões de projeto e das dimensões reais.	54
Figura 37 - Formação de uma bolha de ar durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	56
Figura 38 - Bolha biconvexa formada durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	57
Figura 39 - Bolha com um formato côncavo-convexo formada durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 sem SDS.	57
Figura 40 - Seguimento das bolhas no ImageJ.	58
Figura 41 – Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 26 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	60
Figura 42 - Velocidade obtida para um caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 28 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	60

Figura 43 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 41 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	60
Figura 44 - Velocidade obtida para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 50 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	60
Figura 45 – Gráfico obtido no ImageJ para saber quando há passagem ou não de uma bolha.	63
Figura 46 - Passagem das bolhas durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes nos microcanais com uma bifurcação.	64
Figura 47 - Tempo que decorre entre as bolhas para o caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes e microcanais com uma bifurcação.	65
Figura 48 - Tempo que decorre entre as bolhas para o caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes e microcanais com uma bifurcação.	65
Figura 49 - Tempo que decorre entre as bolhas para o caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes e microcanais com uma bifurcação.	65
Figura 50 - Tempo que decorre entre as bolhas para o caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes e microcanais com uma bifurcação.	65
Figura 51 - Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 36 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.	69
Figura 52 - Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 32 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.	69
Figura 53 - Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 34 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.	69
Figura 54 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 48 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct. .	71
Figura 55 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 54 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct. .	71

Figura 56 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 59 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct. .	71
Figura 57 – Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 39 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.	73
Figura 58 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 28 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.	73
Figura 59 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 56 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.	73
Figura 60 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 78 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.	73
Figura 61 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 41 mbar, durante o escoamento de sangue com 5% de Hct num microcanal com uma bifurcação.	74
Figura 62 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 50 mbar, durante o escoamento de sangue com 5% de Hct num microcanal com uma bifurcação.	74
Figura 63 - Geometria do microcanal com bifurcações sucessivas.	75
Figura 64 – Visão geral do escoamento num microcanal com bifurcações sucessivas, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS: A) caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 72 mbar; B) caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 184 mbar.	77
Figura 65 - Visão geral do escoamento num microcanal com bifurcações sucessivas, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS: A) caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 220 mbar; B) caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 350 mbar.	78
Figura 66 – Ramos estudados.....	79
Figura 67 - Passagem das bolhas por um dos ramos, ou por ambos, alternadamente, durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS num microcanal com bifurcações sucessivas.	81

Figura 68 – Ciclos obtidos para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 360 mbar, durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS num microcanal com bifurcações sucessivas.....	81
Figura 69 – Escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar: A) Primeira bifurcação; B) Segunda/terceira bifurcação.	83
Figura 70 - Escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 320 mbar: A) Primeira bifurcação; B) Segunda/terceira bifurcação.	84
Figura 71 - Efeito das bolhas na quantidade de células, durante o escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal com bifurcações sucessivas.	86
Figura 72 - Efeito das bolhas na quantidade de células durante a injeção das mesmas.....	87
Figura 73 – Efeito das bolhas no hematócrito utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 310 mbar, durante um escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal com bifurcações sucessivas.	88
Figura 74 - Efeito das bolhas no hematócrito utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar.....	89
Figura 75 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 5% de Hct.	91
Figura 76 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 10% de Hct.	91
Figura 77 - Velocidade obtida para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 340 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 5% de Hct.	92
Figura 78 - Velocidade obtida para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 310 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 10% de Hct.	92
Figura 79 – Passos para utilizar a ferramenta <i>Manual Tracking</i>	105
Figura 80 – Seguimento da bolha através da ferramenta <i>Manual Tracking</i>	106
Figura 81 - Passos para utilizar a ferramenta <i>Plot z-axis Profile</i>	107

Figura 82 - Gráfico obtido pela ferramenta *Plot z-axis profile*. 107

Lista de tabelas

Tabela 1 - Aplicações de dispositivos obtidos por microfabricação (adaptado de [54]).	24
Tabela 2 – Alguns estudos da influência da geometria no escoamento sanguíneo.	36
Tabela 3 – Dimensões utilizadas nos microcanais projetados no AutoCAD.	40
Tabela 4 - Fluidos Newtonianos preparados.	47
Tabela 5 - Comparação entre as dimensões de projeto e as dimensões reais.	55
Tabela 6 – Velocidade das bolhas, para o microcanal com uma bifurcação, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	58
Tabela 7 - Frequência das bolhas no canal principal e nos dois ramos da bifurcação, utilizando um uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.	62
Tabela 8 - Desvio padrão do tempo entre as bolhas durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS nos microcanais com uma bifurcação.	66
Tabela 9 - Velocidade das bolhas, utilizando o microcanal com uma bifurcação e a amostra de sangue com 10% de Hct.	67
Tabela 10 – Número de bolhas durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS num microcanal com bifurcações sucessivas.	79
Tabela 11 - Pressões que provocam o entupimento dos microcanais no escoamento de um fluido análogo ao sangue.	80
Tabela 12 - Pressões que provocam o entupimento dos microcanais com bifurcações sucessivas, quando utilizadas amostras de sangue com 10% de Hct.	85
Tabela 13 - Velocidade das bolhas, utilizando amostra de sangue com 5 e 10% de Hct nos microcanais com bifurcações sucessivas.	90

Lista de abreviaturas e acrónimos

CAD – Computer Aided Design

CLC – Camada Livre de Células

Hct – Hematócrito

PDMS – Polidimetilsiloxano

PIV – Particle Imaging Velocimetry

1 Introdução

1.1 Enquadramento, motivação e objetivos

O presente trabalho, intitulado de “Estudo de embolias gasosas em microcanais com bifurcações”, foi desenvolvido no âmbito do projeto de final de curso do Mestrado em Tecnologia Biomédica, no ramo de Instrumentação e Sinais Médicos, do Instituto Politécnico de Bragança. Este projeto foi desenvolvido em parceria com a Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto e com a Universidade do Minho.

Os estudos na área da microfluídica têm assumido um lugar de destaque na área da biomédica uma vez que permitem o estudo do escoamento sanguíneo e a influência que algumas patologias têm no mesmo, como por exemplo as embolias gasosas. A embolia gasosa ocorre quando bolhas gasosas circulam na corrente sanguínea podendo obstruir os vasos sanguíneos e provocar deterioração dos tecidos.

Assim sendo, o principal objetivo deste trabalho foi estudar o escoamento *in vitro* de fluidos Newtonianos e de sangue em microcanais com bifurcações capazes de gerar microbolhas, de forma a perceber o que acontece numa embolia gasosa na microcirculação. Foi estudada a formação das microbolhas e como elas se comportam durante o escoamento, utilizando vários caudais e pressões diferentes para a injeção das bolhas de ar.

1.2 Estrutura do relatório

Este trabalho está dividido em sete capítulos. No presente capítulo apresenta-se uma breve introdução ao tema, o enquadramento e o principal objetivo deste trabalho e como o mesmo está estruturado.

Nos Capítulos 2 e 3 apresentam-se os fundamentos teóricos importantes para a realização deste trabalho. No Capítulo 2 está descrita a circulação sanguínea, nomeadamente o sistema cardiovascular, o sangue e os seus constituintes e a reologia do sangue. No Capítulo 3 apresentam-se os fundamentos teóricos relacionados com as embolias gasosas.

No Capítulo 4 é apresentada uma revisão da literatura relacionada com o tema alvo deste trabalho, de forma a enunciar os estudos que já foram realizados nesta área.

No Capítulo 5 são descritos os materiais e métodos utilizados durante os procedimentos experimentais do presente estudo, onde se explica a fabricação dos microcanais e o escoamento dos fluidos em estudo.

O Capítulo 6 apresenta os resultados obtidos e a sua discussão. E por último, no Capítulo 7, são apresentadas as conclusões deste estudo e propostas de trabalhos futuros que permitam dar continuidade a este trabalho.

2 Circulação sanguínea

2.1 Sistema cardiovascular

O sistema cardiovascular [1-3] é um sistema circulatório fechado que engloba o coração, principal motor deste sistema, que permite o bombeamento do sangue, e estruturas com forma tubular, os vasos sanguíneos, que se vão ramificando, permitindo o transporte do sangue a todos os tecidos do organismo e o devolve ao coração. Assim sendo, este sistema é essencial à sobrevivência de um organismo tão complexo como o organismo humano, uma vez que o sangue permite o transporte de várias substâncias - oxigênio, nutrientes, mediadores químicos, anticorpos e substâncias tóxicas – a todas as células, conservando o meio ideal para a sua sobrevivência e para o desenvolvimento das suas funções e removendo os produtos de degradação.

Este sistema [2, 4] engloba dois circuitos ligados ao coração, o qual é responsável para bombear o sangue para a pequena (ou circulação pulmonar) e para a grande circulação (ou circulação sistémica). Na primeira o sangue é transportado para os pulmões, onde ocorre a oxigenação do sangue e retorna ao coração. Na circulação sistémica o sangue é transportado do coração para todas as partes do organismo e retorna ao coração. Na Figura 1 está representado este sistema.

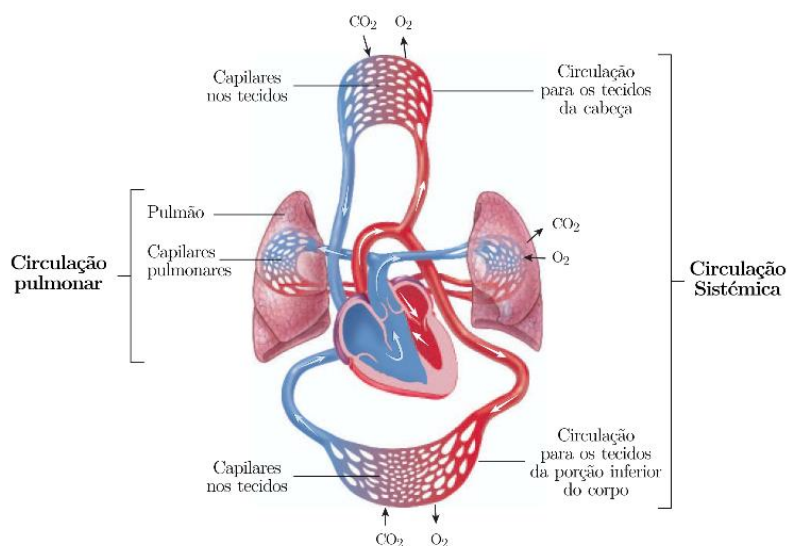


Figura 1 - Sistema cardiovascular [1].

2.1.1 Coração

O coração [1, 2] humano de um adulto tem uma forma cônica, tem, aproximadamente, as dimensões de um punho e está localizado na cavidade torácica, entre os pulmões, envolvido por um revestimento designado pericárdio. O pericárdio é um saco fechado e é constituído por dois folhetos: o pericárdio fibroso e o pericárdio seroso.

A parede do coração é composta por três camadas: o epicárdio, o miocárdio e o endocárdio. As células musculares que constituem o miocárdio permitem que este órgão tenha a capacidade de contrair e o endocárdio facilita a movimentação do sangue através do coração.

Este órgão é constituído por quatro cavidades, duas aurículas e dois ventrículos, como se pode confirmar na Figura 2.

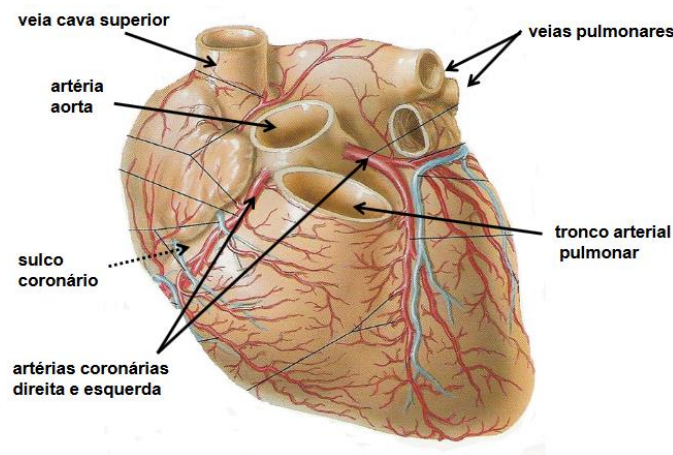


Figura 2 – Coração [5].

As aurículas recebem o sangue da pequena e da grande circulação através das veias e a cada batimento cardíaco contraem-se, enviando o sangue para os ventrículos. Os ventrículos, depois de receberem o sangue proveniente das aurículas contraem-se e bombeiam o sangue para as artérias. Assim sendo, o lado direito do coração recebe a corrente sanguínea proveniente do corpo e bombeia-a para a circulação pulmonar, até aos pulmões, fazendo aqui as trocas gasosas. O lado esquerdo bombeia o sangue para a circulação sistémica, até chegar a todos os tecidos do

organismo, fornecendo-lhes oxigênio, nutrientes e recebendo deles o dióxido de carbono e outros produtos de degradação. Desta forma, as principais funções do coração são [1]: promover a pressão sanguínea, que permite a circulação do sangue nos vasos; orientar a circulação sanguínea, separando a pequena da grande circulação; manter um fluxo unidirecional, através das válvulas cardíacas e regular o aporte de sangue de acordo com as diferentes necessidades metabólicas do organismo.

2.1.2 Vasos sanguíneos

Os ventrículos [1] bombeiam a corrente sanguínea para grandes artérias elásticas que se vão ramificando continuamente em vasos de menores dimensões. Com a diminuição do tamanho, a estrutura da artéria vai alterando, passando de grandes quantidades de tecido elástico a grandes quantidades de músculo liso. Podendo ser classificadas, consoante o grau de ramificação, em artérias elásticas, artérias musculares e arteríolas e estão representadas na Figura 3.

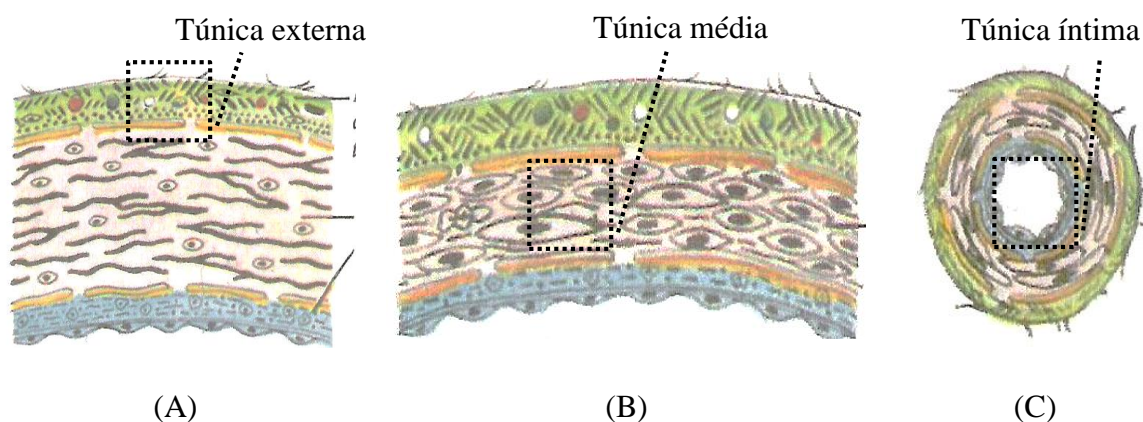


Figura 3 - Diferentes tipos de artérias: A) Artéria elástica; B) Artéria muscular; C) Arteríola (adaptado de [5]).

As artérias elásticas [1] são muito importantes para o controlo da pressão arterial, uma vez que evitam que a pressão baixe aquando da diástole do ventrículo esquerdo. Estas artérias, como se pode verificar na figura anterior, possuem uma túnica íntima muito desenvolvida e constituída

por fibras elásticas e uma túnica média também constituída, maioritariamente, por fibras elásticas, apresentando uma quantidade reduzida de células musculares lisas.

As artérias musculares possuem uma túnica média muito desenvolvida constituída por células musculares lisas e algumas fibras elásticas, que vão diminuindo conforme vai diminuindo o calibre da artéria. Estas artérias, devido à quantidade de músculo liso, são consideradas artérias distributivas, uma vez que as mesmas conseguem regular parcialmente o aporte de sangue para as várias partes do organismo, através da contração e dilatação destas artérias.

As arteríolas apresentam uma estrutura semelhante às artérias anteriores, mas na túnica íntima não se consegue identificar a membrana elástica interna. Como a túnica média é constituída por células musculares lisas, estes vasos também se conseguem dilatar e contrair. As arteríolas escoam o sangue das artérias musculares para os capilares, que estão representados na Figura 4 (A).

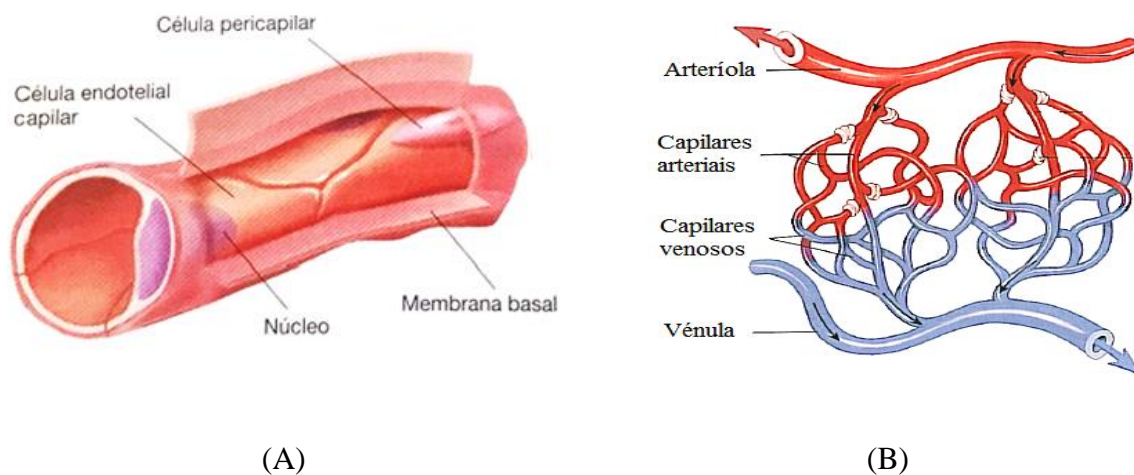


Figura 4 – A) Capilar; B) Rede Capilar [1].

Das arteríolas, o sangue passa para as várias redes de capilares [1], que estão representadas na Figura 4 (B). As redes de capilares são mais numerosas e de maiores dimensões onde os tecidos têm um metabolismo mais elevado, como é o caso dos rins ou do músculo cardíaco.

É nos capilares que ocorrem as trocas entre o sangue e os tecidos do organismo e são os vasos que existem em maior número no corpo humano. Os capilares são vasos extremamente finos formados por apenas uma camada constituída por células endoteliais assentes numa membrana basal. Existem três tipos de capilares: capilares contínuos, capilares fenestrados e capilares sinusoides. Os primeiros são capilares menos permeáveis às moléculas de grandes dimensões e encontram-se, por exemplo, nos músculos e no tecido nervoso. Os capilares fenestrados têm alta permeabilidade e podem ser encontrados, por exemplo, nas vilosidades intestinais. Por último, os capilares sinusoides são capilares de maiores dimensões, com uma parede descontínua, devido à grande quantidade de poros que possui, fazendo com que seja um vaso bastante permeável e pode ser encontrado, por exemplo, no fígado. Dos capilares, a corrente sanguínea flui para as veias, que estão representadas na Figura 5.

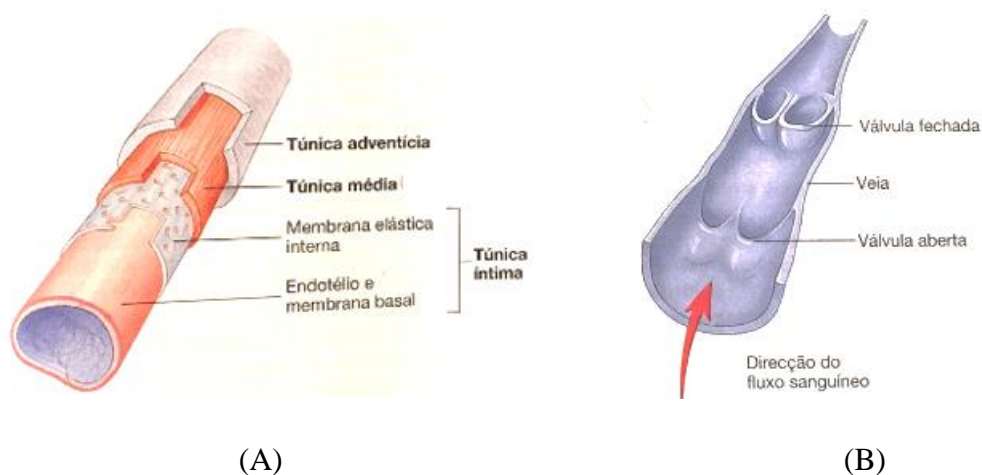


Figura 5 – A) Veias de médio calibre; B) Válvulas presentes nas veias [1].

Desde os capilares até ao coração, as veias [1] vão aumentando em tamanho mas diminuindo em quantidade, com paredes cada vez mais espessas. Podem ser classificadas em vénulas, veias de média dimensão e veias de grande dimensão, conforme se aproximam do coração.

As mais próximas dos capilares são as vénulas que são vasos em que a túnica íntima é constituída por endotélio, a túnica média pode ser pouco desenvolvida ou mesmo inexistente e a túnica adventícia é a mais desenvolvida, de forma a permitir que ocorram trocas entre o sangue e os tecidos do organismo.

As veias de médio calibre estão representadas na Figura 5 (A) e caracteriza-se por apresentar uma túnica adventícia mais desenvolvida do que as restantes camadas. As veias de grande calibre transportam o sangue até ao coração e são formadas por uma túnica íntima muito desenvolvida, constituída por células endoteliais, fibras de colagénio e algumas fibras elásticas dispersas e é nesta túnica que se encontram as válvulas, apresentadas na Figura 5 (B) (pregas, responsáveis por impedir que o sangue flua na direção inversa). Também são formadas por uma túnica média fina e pouco desenvolvida composta por algumas células musculares lisas, fibras de colagénio e poucas fibras elásticas e por uma túnica adventícia constituída por fibras de colagénio. Esta última túnica é a camada predominante e contém os *vasa vasorum* (também ocorrem nalgumas artérias), que são pequenos vasos que penetram nas veias e nas artérias para formar uma rede capilar na túnica adventícia e na parte mais externa da túnica média permitindo que as mesmas sejam nutridas.

2.2 Sangue e constituintes

O organismo produz diversos fluidos, como o sangue [1] que é um dos mais importantes, uma vez que tem várias funcionalidades essenciais à sobrevivência do sistema, tais como:

- Transporte de gases, nutrientes e produtos de degradação;
- Deslocação de moléculas processadas, ou seja, certas substâncias são produzidas num determinado local e posteriormente transportadas pelo sangue para serem modificadas noutra;
- Transporte de moléculas reguladoras, como enzimas;
- Normalização do pH e da pressão osmótica;
- Controlo da temperatura corporal, uma vez que o sangue quente é levado do interior para a superfície, permitindo depois a libertação do calor para o exterior;
- Proteção do organismo contra células estranhas;
- Formação de coágulos, impedindo a perda excessiva de sangue aquando uma lesão dos vasos.

Este fluido [1, 6] é composto por um líquido claro, o plasma, uma grande quantidade de células, os glóbulos vermelhos, os glóbulos brancos e as plaquetas, e fragmentos de células, como é possível observar na Figura 6.

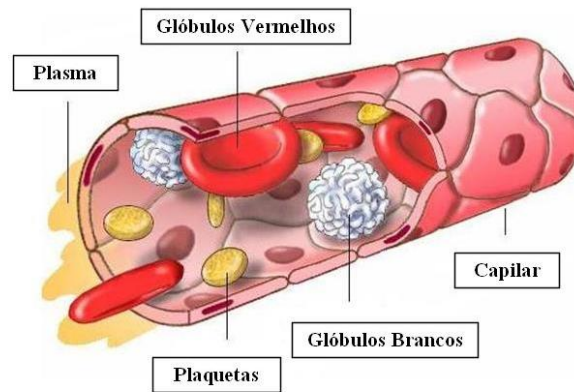


Figura 6 - Constituintes do sangue [1].

2.2.1 Plasma

O plasma [1, 2, 7] é a porção líquida do sangue, tem uma cor amarelada e é uma substância coloidal, uma vez que contém substâncias em suspensão que não se depositam. Assim sendo, este fluido é composto por cerca de 90% de água e 10% de substâncias de pequeno e elevado peso molecular. Dos 10%, 7% corresponde a proteínas plasmáticas e o restante diz respeito a uma grande variedade de compostos (íons, nutrientes, produtos de degradação, gases e substâncias reguladoras).

Nas proteínas plasmáticas [1] estão incluídas as albuminas (em parte responsáveis pela pressão osmótica e pela viscosidade, transporta hormonas da tiroide, bilirrubina livre e ácidos gordos e atua como tampão), as globulinas (têm como função o transporte de hormonas, íons, lípidos e glícidos e desempenham funções no sistema imunitário) e o fibrinogénio (está envolvido na formação do coágulo).

2.2.2 Glóbulos vermelhos

Os glóbulos vermelhos [1], também designados por eritrócitos ou hemácias, têm como principal função transportar o oxigénio para os tecidos e o dióxido de carbono dos tecidos até aos pulmões. Este componente sanguíneo tem a forma de um disco bicôncavo, tal como é mostrado na Figura 7, não tem núcleo e contém hemoglobina, lípidos, adenosina trifosfato e enzimas anidrase carbónica.

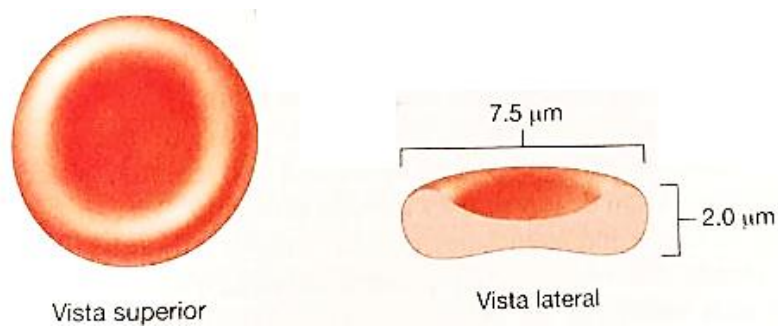


Figura 7 – Glóbulos vermelhos [1].

A sua forma bicôncava aumenta a sua área superficial, facilitando e tornando mais rápida a entrada e saída dos gases nos glóbulos vermelhos. A flexibilidade da membrana permite que os glóbulos vermelhos se dobrem, diminuindo o seu tamanho de maneira a se adaptarem à forma dos vasos de menores dimensões.

A hemoglobina, que é uma proteína pigmentada, é a responsável pela cor do glóbulo vermelho e também pelo transporte do oxigénio e do dióxido de carbono. Esta proteína é constituída por quatro moléculas de heme (que transportam o oxigénio) e quatro moléculas de globina (que transportam o dióxido de carbono e óxido nítrico).

2.2.3 Glóbulos brancos

Os glóbulos brancos [1], ou leucócitos, têm com função proteger o organismo contra os microrganismos e remover os corpos estranhos e as células mortas. São células esbranquiçadas e contêm um núcleo. Estes constituintes são denominados conforme a sua aparência e a sua função e podem ser: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos e estão representados na Figura 8.

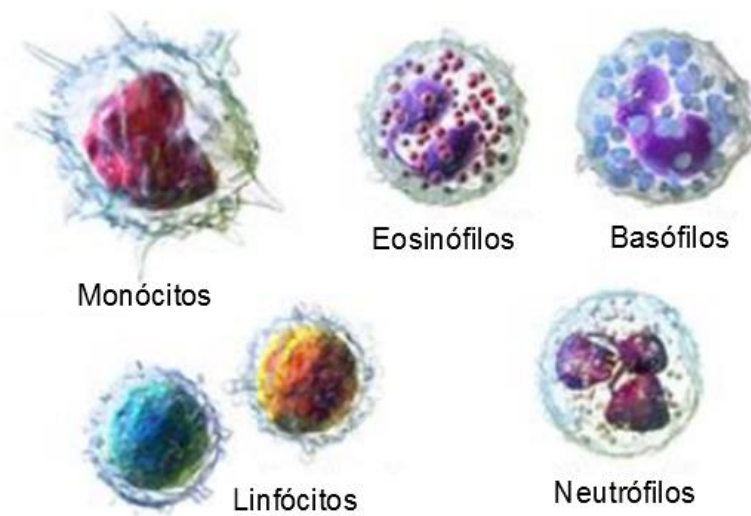


Figura 8 - Glóbulos Brancos [8].

Os neutrófilos são pequenas células fagocitárias que destroem microrganismos. Os eosinófilos são células que libertam mediadores químicos que evitam a inflamação. Os basófilos libertam enzimas, a histamina, que promovem a resposta inflamatória. Os linfócitos produzem anticorpos e outros mediadores químicos, sendo muito importantes na imunidade. E os monócitos que saem do sangue, entram nos tecidos, transformando-se em células fagocitárias de grandes dimensões, os macrófagos, que conseguem destruir bactérias, células mortas e outros corpos estranhos.

2.2.4 Plaquetas

As plaquetas [1], ou trombócitos, têm como principal função a formação de agregados plaquetários, de forma a responder a uma lesão dos vasos sanguíneos. Além disso, libertam substâncias químicas que promovem a formação e contração dos coágulos. Estes constituintes são fragmentos de células de reduzidas dimensões em forma de disco, quando não estão estimuladas como se pode ver na Figura 9 (A). Quando estão estimuladas, ou seja quando vão atuar na coagulação sanguínea, as plaquetas apresentam uma estrutura como a que está representada na Figura 9 (B).

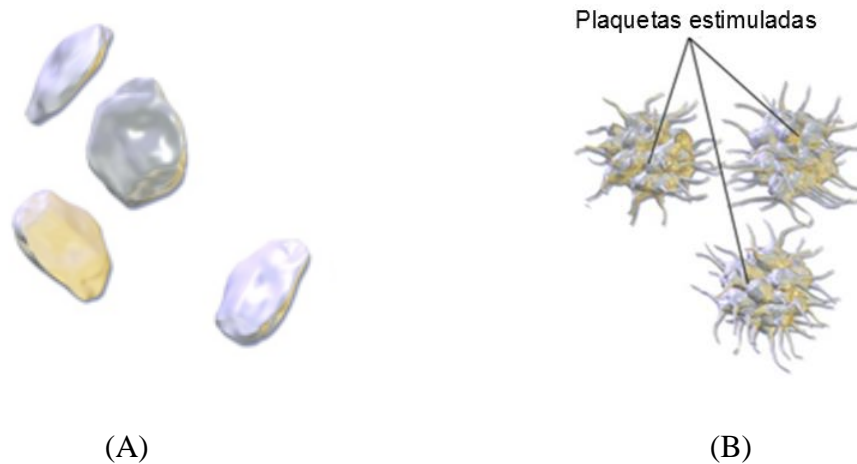


Figura 9 - A) Aspeto normal das plaquetas; B) Plaquetas estimuladas (adaptado de [8]).

2.3 Reologia do sangue

A reologia [9, 10] é a ciência que estuda a deformação e o escoamento de um fluido. O escoamento sanguíneo ocorre devido às diferenças de pressão ao longo dos vasos sanguíneos e devido às forças da gravidade, mas existem determinadas resistências provocadas pelas tensões de corte exercidas pelas paredes dos vasos no fluido. Para caracterizar reologicamente o sangue é necessário ter em conta alguns parâmetros como a viscosidade, a temperatura, a rigidez das

células e a sua agregação, uma vez que o escoamento sanguíneo varia conforme os tecidos por onde flui e as suas funções.

O escoamento do sangue [10] é um escoamento contínuo e oscilatório e pode ser considerado laminar ou turbulento. O escoamento laminar acontece apenas quando o sangue flui nos vasos sanguíneos de menores dimensões, nos quais as forças viscosas são superiores às forças de inércia. Neste escoamento, a velocidade tem uma componente ao longo do eixo do escoamento e a viscosidade atenua instabilidades. Nos vasos sanguíneos maiores, a força de inércia é a força que prevalece e o escoamento é turbulento, uma vez que as partículas do sangue têm um movimento irregular, fazendo com que a velocidade tenha uma componente transversal ao longo do eixo do escoamento.

Os fluidos podem ser considerados como Newtonianos ou não-Newtonianos [10-12] conforme o comportamento dos fluidos durante o escoamento. Os primeiros são fluidos em que para uma certa temperatura, a viscosidade não se altera com a alteração da velocidade, ou seja a sua viscosidade é constante, uma vez que a relação entre a tensão de corte e a velocidade é linear. Os fluidos não-Newtonianos são fluidos em que a viscosidade altera consoante a deformação que é exercida, ou seja, a viscosidade não é constante, uma vez que a variação da tensão de corte com a velocidade é não linear.

Assim sendo, o sangue [10] é considerado um fluido não-Newtoniano, apesar do seu constituinte maioritário, o plasma, ter comportamento Newtoniano, e a sua viscosidade diminui quando a taxa de deformação aumenta (pseudoplástico) e tem tensão de cedência.

2.3.1 *Plasma*

Como já foi referido, o plasma tem um comportamento Newtoniano [10], ou seja a viscosidade do mesmo não depende da taxa de deformação, ao contrário do sangue, como se pode verificar no gráfico da Figura 10.

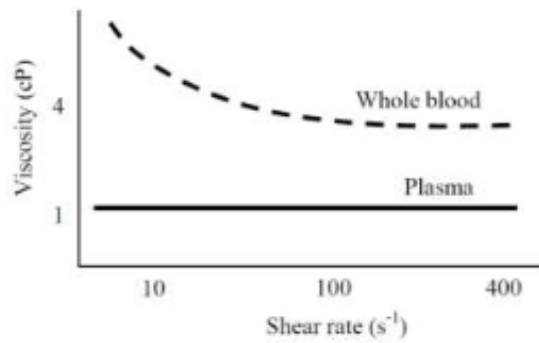


Figura 10 - Viscosidades do plasma e Viscosidade do sangue [10].

Como o sangue é um fluido composto por plasma com partículas em suspensão, a viscosidade do plasma interfere na viscosidade do sangue, principalmente quando as taxas de deformação são altas.

2.3.2 Hematócrito

O hematócrito (Hct) é a porcentagem de volume ocupada pelos glóbulos vermelhos no volume total de sangue [10].

A quantidade de células [10, 13] que o sangue contém influencia o seu comportamento não-Newtoniano, uma vez que quanto maior a porcentagem volúmica de células, maior é a viscosidade do sangue.

O hematócrito também tem influência nos perfis de velocidade [12, 14-16]. Para soluções muito diluídas (menos que 1% Hct), o perfil de velocidade possui forma parabólica. Enquanto para soluções em que o hematócrito é superior a 1%, o perfil de velocidades apresenta uma forma de perfil pistão. Os perfis de velocidade estão representados na Figura 11.

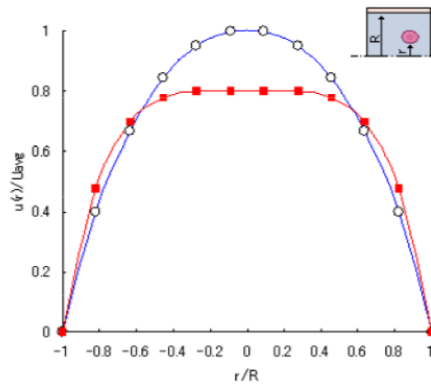


Figura 11 - Perfil de velocidade para hematócrito superior (vermelho) e inferior (azul) a 1% [12].

Os perfis de velocidade [16] também são altamente influenciados por outros parâmetros, como por exemplo: o diâmetro do microcanal, a taxa de deformação e o fluido em suspensão.

2.3.3 Rigidez das células

A deformabilidade das células [10] afeta a forma como o sangue flui e, conseqüentemente, a viscosidade também é afetada. Na Figura 12 a viscosidade do sangue é comparada com a viscosidade de uma suspensão de esferas rígidas (a agregação das partículas não é tida em consideração) e como se pode ver, para uma concentração de 60%, a viscosidade da suspensão atinge valores a tender para o infinito, o que quer dizer que a suspensão não consegue fluir. Tal não acontece com o sangue, que continua a fluir independentemente da percentagem de células contidas nele.

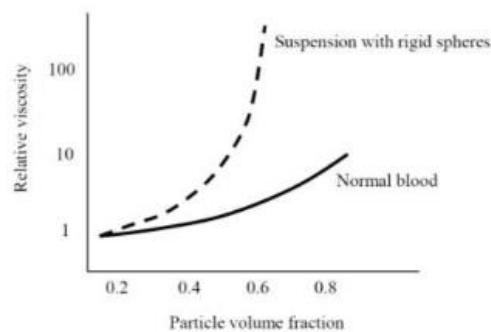


Figura 12 - Comparação da viscosidade do sangue e da viscosidade de uma suspensão de esferas rígidas [10].

2.3.4 Aglomeração das células

Por vezes, as células presentes no sangue têm a capacidade de formar aglomerações de células [10], dependendo da concentração de fibrinogénio e globulina. Com o aumento da taxa de deformação, a aglomeração de células diminui, o que leva a uma diminuição da viscosidade, tal como é ilustrado na Figura 13.

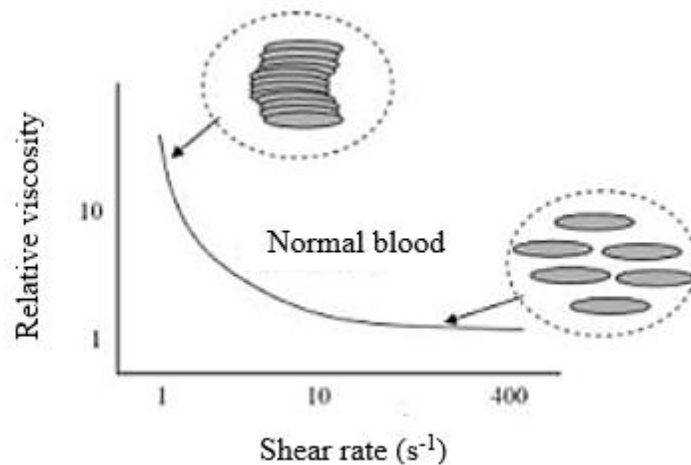


Figura 13 - Viscosidade elevada a baixas taxas de deformação indicam que ocorre a formação de aglomerados [10].

2.3.5 Temperatura

Para todos os fluidos, a temperatura [10] tem uma grande influência na sua viscosidade. A viscosidade do sangue aumenta com a diminuição da temperatura, aumentando cerca de 2% a cada °C que diminui.

2.3.6 Viscosidade do sangue

Como já foi referido, a viscosidade do sangue [10] sofre uma variação com a viscosidade do plasma que o constitui, com a percentagem volúmica de células que contém, com a aglomeração

e rigidez das mesmas e com a temperatura. Assim sendo, a sua viscosidade aumenta com o aumento do hematócrito. Por outro lado, quando a deformação aumenta, a aglomeração das células sanguíneas diminui, fazendo com que a viscosidade também diminua.

Tudo isto contribui para o comportamento pseudo-plástico que o sangue apresenta. Para além desta característica, o sangue também tem tensão de cedência que está relacionada com os glóbulos vermelhos, uma vez que estes induzem forças de coesão, tornando o início do escoamento mais difícil.

A viscosidade aparente do sangue também é afetada pelo diâmetro dos vasos sanguíneos [12, 13, 17-19], sendo que com a diminuição do diâmetro a viscosidade do sangue também diminui. Este efeito é o chamado efeito *Fåhræus-Lindqvist* e só acontece em diâmetros inferiores a 300 μm e superiores a 7 μm e está representado na Figura 14.

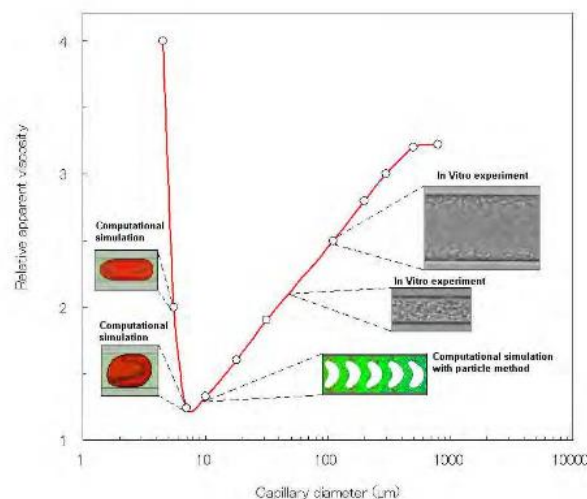


Figura 14 - Efeito de *Fåhræus-Lindqvist* [13].

O efeito *Fåhræus-Lindqvist* [12, 13, 17-19] pode ser explicado pela diminuição do hematócrito, que acontece com a redução do diâmetro, e que leva à diminuição da viscosidade. No entanto, este efeito também pode ser explicado pela formação da camada livre de células (ou camada de plasma) perto da parede do microcanal (os constituintes migram para o ponto de maior velocidade, que é o centro do vaso, como se pode verificar na Figura 15), onde as forças de

corrente são máximas, uma vez que o plasma que se encontra junto às paredes reduz o atrito entre a parede e os glóbulos vermelhos, provocando a diminuição da viscosidade aparente do sangue. Estudos posteriores [13, 20] verificaram que a viscosidade continua a diminuir até diâmetros de cerca de 10 μm , mas o efeito de *Fåhræus-Lindqvist* é invertido quando utilizados diâmetros de 5 a 7 μm .

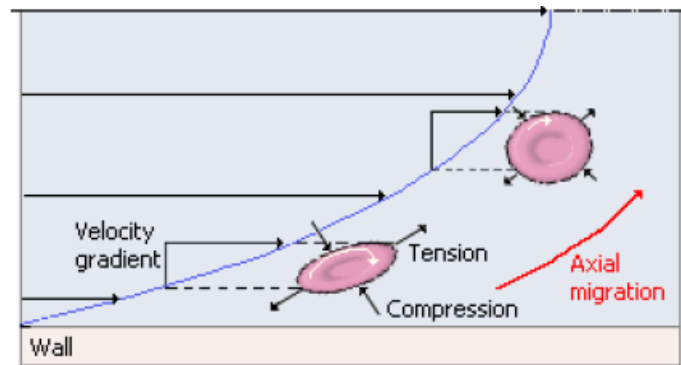


Figura 15 - Migração das células para o centro do vaso [12].

3 Embolias gasosas

A embolia gasosa [21-23] é uma patologia causada pela entrada de gás nos vasos sanguíneos. Trata-se de uma lesão iatrogénica que está presente em muitos procedimentos médicos em quase todas as especialidades clínicas e que pode levar a um estado grave do paciente e até mesmo à morte.

As embolias estão divididas em duas categorias, consoante o local onde elas se alojam e como elas entram no sistema circulatório: embolias gasosas arteriais e embolias gasosas venosas.

3.1 Embolia gasosa arterial

A embolia gasosa arterial [21, 24, 25] acontece quando ocorre a entrada de ar nas veias pulmonares ou diretamente na corrente sanguínea arterial. O ar pode entrar nas artérias devido a uma expansão excessiva dos pulmões por mudanças de pressão ou como resultado de uma embolia paradoxal.

As principais causas destas embolias são o uso da circulação extracorpórea [26] (utilizadas, por exemplo em cirurgias cardíacas e transplantes), em certos procedimentos cirúrgicos [23], como neurocirurgias em que o paciente está sentado [27] e durante a prática de mergulho [28], em que pode ocorrer uma expansão gasosa pulmonar e conseqüentemente uma rutura dos alvéolos e a entrada de ar nas veias pulmonares, caso os mergulhadores ascendam muito rápido.

Embora a obstrução possa ocorrer em qualquer artéria, a obstrução das artérias coronária e cerebral [21] são consideradas as mais graves, devido à vulnerabilidade do coração e do cérebro a períodos curtos de hipoxia, podendo levar à morte do indivíduo.

A embolia gasosa arterial coronária [25] produz isquemia do miocárdio nas áreas fornecidas pelos vasos afetados. Pode ser temporária e com uma recuperação rápida, ou pode persistir, mesmo depois das bolhas de ar desaparecerem.

A embolia gasosa arterial cerebral [22, 29, 30] tem conseqüências que são proporcionais ao diâmetro da bolha de gás. Para pequenos diâmetros, ocorre uma lesão do endotélio vascular e

absorção do gás pelo tecido, levando a uma lesão cerebral mínima. Para diâmetros maiores, mais difícil se torna a absorção das bolhas de gás, provocando uma lesão isquêmica de primeiro grau e edema cerebral e, conseqüentemente, o aumento de pressão intracraniana, desencadeando numa reação inflamatória cerebral. Na Figura 16 está representada uma embolia gasosa na artéria cerebral.

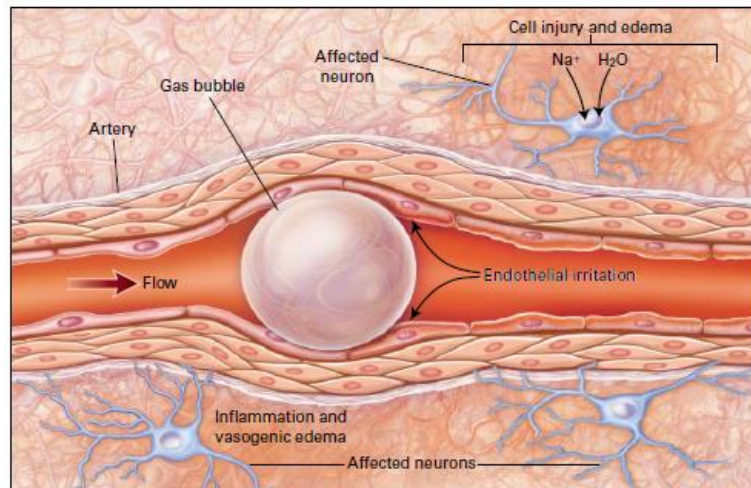


Figura 16 - Embolia Gasosa Arterial Cerebral [21].

3.1.1 Diagnóstico da embolia gasosa arterial

O critério de diagnóstico mais importante deste tipo de embolias [21] é o historial médico do paciente, uma vez que a suspeita de embolia gasosa é baseada nos sintomas iniciais e na relação desses sintomas com algum procedimento invasivo.

O diagnóstico pode ser realizado através de uma tomografia computadorizada [31] ou de uma ressonância magnética [21]. A tomografia computadorizada pode distinguir uma embolia gasosa de, por exemplo, um enfarte, mas é um exame com sensibilidade e especificidade baixas. A ressonância magnética mostra a concentração de água no tecido lesado, mas pode falhar quando os sintomas são leves.

3.1.2 *Tratamento da embolia gasosa arterial*

O tratamento inicial a ser realizado aquando uma embolia gasosa [21] é interromper a intervenção que gerou a embolia e proteger e fazer a manutenção das funções vitais. Existem algumas opções de tratamento para a embolia gasosa arterial:

- Oxigénio hiperbárico [32]: consiste num aumento de pressão externa e de oxigénio, o que provoca uma redução do diâmetro, prevenindo assim um edema cerebral;
- Terapia de infusão [33]: diminui a viscosidade do sangue, facilitando assim a circulação sanguínea;
- Anticoagulante [34]: diminui a formação de êmbolos plaquetários e leucocitários que estão associados à bolha de ar;
- Barbitúricos [35]: consiste na redução do consumo de oxigénio no cérebro e da pressão intracraniana.

3.2 **Embolia gasosa venosa**

A embolia gasosa venosa [21, 36] acontece quando o gás entra na circulação venosa e percorre o ventrículo direito até à circulação pulmonar. O gás é transportado pelas artérias pulmonares até aos pulmões, causando alterações nas trocas gasosas, arritmias cardíacas, hipertensão pulmonar, tensão do ventrículo direito e até insuficiência cardíaca.

Este tipo de embolia gasosa pode ocorrer em vários cenários clínicos [21, 37], como por exemplo, a entrada de gás, por ingestão através das veias da garganta e durante a gravidez ou após o parto, através das veias do miométrio, devido a uma grande variedade de traumas, de alguns procedimentos clínicos (hemodiálise [38], laparoscopias [39], neurocirurgias em que o paciente está sentado [40] e má colocação de cateteres centrais [41], sendo esta última a principal causa das embolias gasosas) e ainda pode ocorrer depois da prática de mergulho com ar comprimido [42].

3.2.1 *Diagnóstico da embolia gasosa venosa*

Os sintomas [37, 43] deste tipo de embolias gasosas não são específicos, o que dificulta o seu diagnóstico. No entanto pode ser realizado através de, por exemplo, ecocardiograma transesofágico [44] (atualmente é o método de diagnóstico mais eficaz), *doppler* precordial [45] (é o método mais sensível dos métodos não evasivos), cateterização da artéria pulmonar [46], *end-tidal* de dióxido de carbono [47] (é o método mais prático e mais usado numa sala de operação) e medição da saturação de oxigénio [46] (diagnóstico tardio).

3.2.2 *Tratamento da embolia gasosa venosa*

Como este tipo de embolia gasosa não apresenta sintomas específicos, a sua prevenção é o melhor tratamento [21, 36]. Mas quando o gás já se encontra na circulação venosa, primeiramente deve-se identificar e conter a fonte de infusão de ar.

Existem alguns procedimentos a realizar aquando uma embolia gasosa venosa [48]: desobstruir a via da saída do ventrículo direito posicionando o paciente em decúbito lateral, fazer massagem cardíaca e extrair as bolhas de gás, através de um cateter venoso central [49]. Para além destes procedimentos, também se pode administrar oxigénio a 100% e tratar a embolia com oxigénio hiperbárico.

4 Revisão da literatura

A microfluídica é uma área em grande desenvolvimento e é definida como a ciência que estuda o escoamento de pequenas quantidades de fluido (de 10^{-9} a 10^{-18} L) em microcanais com dimensões reduzidas (de dezenas a centenas de micrómetros) e com aplicações nas mais diferentes áreas, nomeadamente na biologia, na medicina, na eletrónica e na química [50, 51].

A microfluídica [50, 51] compreende o estudo dos fenómenos físicos, mas também aspetos da biologia molecular e da química analítica. Em química analítica tem-se destacado, uma vez que permite usar pequenas quantidades de amostras e reagentes, realizar separações e deteções com alta resolução e sensibilidade, baixo custo e processos rápidos. A microfabricação e os sistemas microfluídicos são áreas que estão muito relacionadas e o aparecimento de técnicas de microfabricação de baixo custo tem levado a que a aplicação de dispositivos microfluídicos se expanda a várias áreas.

Os dispositivos de microfluidos são cada vez mais implementados na terapia de certas patologias, como por exemplo, no tratamento de tumores. Bardin et al. [52] estudaram a implementação de um dispositivo microfluídico de focagem de fluxo capaz de gerar quantidades de emulsões de gotas em escala clínica e adequadas em tamanho e funcionalidade para serem utilizadas em tratamentos *in vivo*, como por exemplo no tratamento de doenças cancerígenas.

4.1 Microfabricação

A microfabricação pode ser definida como a produção de dispositivos e componentes à escala micrométrica e tem assumido um lugar de destaque nos mais variados setores tecnológicos. Assim, a microfabricação e a sua evolução constante levam a uma elevada aplicabilidade em áreas como a biomédica, a eletrónica, as telecomunicações e fibras óticas, a indústria automóvel e a farmácia, sendo que as suas aplicações são cada vez mais complexas e eficazes [53].

Na Tabela 1 apresentam-se algumas das aplicações atuais de dispositivos que podem ser obtidos através da microfabricação para vários setores, mas direcionados para a área da biomédica.

Tabela 1 - Aplicações de dispositivos obtidos por microfabricação (adaptado de [54]).

<i>Sector</i>	<i>Dispositivos</i>
<i>Microeletrónica</i>	Pacemakers
	Implantes auditivos
	Sensores diversos
<i>Micro-ótica</i>	Microscopia ótica
	Sensores de fibra ótica
<i>Microfluídico</i>	Testes de DNA
	Endoscopia
	Cirurgia pouco invasiva
	Cirurgia laser
	Micro-reactores
	Micro-bombas
	Auxiliares cardíacos
	Sensores de caudal
Micro-válvulas	
<i>Micromecânica</i>	Sensores de pressão sanguínea

Os desafios tecnológicos colocados pela necessidade de obter estruturas e dispositivos cada vez mais pequenos têm impulsionado as tecnologias de fabricação de microcomponentes que, por sua vez, oferecem novas soluções, permitindo o aumento da complexidade de execução dos componentes obtidos [53].

Os sistemas microfluídicos (que permitem o estudo de reduzidos volumes de fluidos e que são obtidos por microfabricação de forma a usar microcanais de dimensões de dezenas a centenas de micrómetros) e os microeletromecânicos [50, 55] têm levado ao desenvolvimento de novas técnicas e à aplicação de novos materiais na microfabricação.

Inicialmente, o estudo dos microfluidos era realizado através de sistemas fabricados por fotolitografia ou gravura em vidro quartzo ou silício [56]. No entanto, estes materiais apresentavam processos de fabrico complexos, com tempo e custo elevados, dificuldades de ligação e fragilidade dos materiais [56, 57]. Desta forma, surgiu a necessidade de utilizar

técnicas de fabricação alternativas e processos de prototipagem rápida, bem como novos materiais, nomeadamente materiais elastoméricos, como é o caso do polidimetilsiloxano (PDMS).

O PDMS [58] tornou-se um material cada vez mais utilizado na prototipagem devido às inúmeras vantagens que apresenta: permeabilidade a gases, apto para culturas de células, biocompatibilidade, baixo custo, transparência, fácil manuseamento à temperatura ambiente e boa adesão a outro tipo de materiais.

Duffy et al. [59] demonstraram que a facilidade de projetar redes de canais microfluídicos num programa de desenho assistido por computador (CAD, da designação inglesa *Computer Aided Design*), a fabricação e selagem direta de dispositivos e a velocidade e baixo custo de todo o processo tornam a prototipagem rápida de sistemas microfluídicos em PDMS útil nas fases exploratórias no desenvolvimento de sistemas de análise total em microescala e facilita a produção em grande escala. Os autores também utilizaram o método de litografia suave para criarem redes de canais microfluídicos em PDMS, sendo que começaram por criar um molde, tendo como referência a geometria desenhada num programa CAD, seguidamente adicionaram o PDMS sobre o molde e curaram o mesmo.

A microfabricação e os sistemas microfluídicos permitem o estudo do escoamento sanguíneo [60], utilizando pequenos volumes de amostra, com resultados a curto prazo e possibilita executar várias operações em simultâneo.

Os processos utilizados para produzir microcomponentes [61] diferem uns dos outros relativamente às suas capacidades, às dimensões dos componentes obtidos, à relação entre altura e largura, ao objetivo pelo que esses componentes são fabricados, ao tipo de resistência que se pretende, entre outras características. Algumas das técnicas utilizadas na microfabricação são: deposição química em fase vapor, deposição física de vapor [62], fotolitografia [63], *shadow masking* [64], litografia suave [65, 66] e xurografia [67, 68]. No entanto, as duas técnicas mais utilizadas atualmente na microfabricação para sistemas microfluídicos são a litografia suave e a xurografia [60], no entanto a primeira é uma técnica que utiliza moldes obtidos por outras técnicas (tais como, a fotolitografia e a xurografia), tornando-a lenta e, no caso de moldes produzidos por fotolitografia, de elevado custo.

4.1.1 *Fotolitografia*

A fotolitografia foi das primeiras técnicas utilizadas para a construção de dispositivos microfluídicos [63]. A fotolitografia [63, 69] é uma técnica que consiste na construção de uma estrutura, que é obtida depositando uma fina camada de resina fotossensível sobre uma placa de vidro ou silício, com a ajuda de uma centrifugadora de deposição e, posteriormente, é exposta aos raios ultravioleta através da transferência de um padrão de uma máscara com a geometria pretendida. Esta geometria pode ser a estrutura de canais pretendida ou um molde. O molde pode ser utilizado posteriormente para o fabrico dos microcanais por litografia suave.

No entanto, esta técnica apresenta inúmeras desvantagens [66]: tem custos elevados, não permite modelar superfícies não planas de forma eficaz, não é muito flexível na geração de padrões para funcionalidades químicas específicas, apenas gera microestruturas bidimensionais e os materiais que se podem utilizar são muito limitados.

4.1.2 *Litografia suave*

A litografia suave [65, 66] é uma técnica de microfabricação que permite a obtenção de um determinado objeto em PDMS, ou outro polímero, a partir de um molde. O molde pode ser fabricado por várias técnicas, sendo a fotolitografia das mais comuns. Assim sendo, é um processo de transferência de um determinado padrão para a superfície de um substrato que se pretende gravar, através de um molde. Esta técnica tem características importantes na microfabricação e que complementam as técnicas mais convencionais: é uma técnica mais rápida e com custos mais reduzidos que a fotolitografia, utilização de uma maior variedade de materiais, permite o controlo das superfícies ao nível molecular, é fácil de aprender, simples de aplicar e acessível a uma ampla gama de utilizadores e formação de microestruturas e sistemas tridimensionais. No entanto também apresenta algumas desvantagens, tais como deformação do molde elastomérico e alguns defeitos no padrão formado.

Xia and Whitesides [66] demonstraram cinco técnicas diferentes de litografia suave: impressão por microcontacto, moldagem de réplicas, microtransferência, micromoldagem em capilares e micromoldagem assistida por solvente e concluíram que as técnicas de litografia suave

complementam a fotolitografia e estendem micromodelação em dimensões, materiais e geometrias aos quais a fotolitografia não pode ser aplicada.

Unger et al. [70] descreveram uma técnica designada por litografia suave multicamada. Esta técnica combina a litografia suave com a capacidade de unir várias camadas padronizadas de um material elastomérico. As estruturas com múltiplas camadas são obtidas através de várias camadas do material elastomérico, sendo cada uma delas moldada separadamente a partir de um molde microfabricado, sofrendo posteriormente uma cura. Por fim, a camada superior é removida do seu molde e colocada em cima da camada inferior e uma cura adicional faz com que as duas camadas se liguem irreversivelmente. Os autores conseguiram concluir que a litografia suave por multicamadas apresentava uma série de vantagens: possibilidade de prototipagem rápida, e facilidade de fabrico. O método evita problemas de adesão entre camadas e problemas de tensão térmica, uma vez que as camadas são todas do mesmo material. Este processo pode ser usado para construir estruturas complexas, como válvulas e bombas microfluídicas.

Segundo Whitesides et al. [65] a litografia suave é particularmente útil no campo dos μ TAS. No entanto um dos problemas desta área é a integração de microdetetores nos sistemas de microanálise, independentemente do material em que são fabricados. Mas a litografia suave permite integrar sistemas fabricados em material elastomérico em dispositivos eletrónicos. Dispositivos implantáveis têm a vantagem de serem mais biocompatíveis e mais confortáveis para o recetor do que os dispositivos feitos com materiais rígidos.

4.1.3 Xurografia

A xurografia [67, 68] é uma técnica de microfabricação de microcanais de baixo custo, uma vez que utiliza materiais e equipamentos que se utilizam na indústria de publicidade e impressão. Tal como noutras técnicas, as geometrias utilizadas nesta técnica são obtidas por um *software* CAD e posteriormente as estruturas são obtidas em vinil, ou noutro material similar, através de uma *plotter* de corte. A xurografia tanto pode ser utilizada para produzir microcanais diretamente como moldes para litografia suave [57].

Bartholomeusz et al. [57] demonstraram que a xurografia permite a produção de microestruturas de forma mais rápida e estudaram a aplicação de diversos materiais utilizados

na indústria gráfica com o objetivo de encontrar o material que apresenta melhores resultados e melhor precisão em relação às medidas conforme as dimensões das microestruturas vão sendo mais reduzidas. Os materiais com resultados mais satisfatórios foram películas térmicas e Rubylith, uma vez que este foi o material que possibilitou produzir moldes para estruturas em PDMS com menores dimensões e uma qualidade elevada.

A xurografia permite fabricar sistemas microfluídicos que possibilitam o estudo de vários fenómenos do escoamento sanguíneo, tais como: estudar a camada livre de células [60, 68] e estudar o comportamento dos glóbulos vermelhos durante o escoamento [71].

Pinto et al. [60] propuseram a utilização da xurografia, uma vez que é uma técnica rápida, simples e de baixo custo, para fabricar duas geometrias: um microcanal com duas bifurcações, uma divergente seguida de uma convergente para realizar medições da camada livre de células e um dispositivo de focagem de fluxo para simular embolias gasosas e permitir analisar o comportamento das bolhas.

Com este estudo, os autores conseguiram comprovar que através da xurografia a qualidade do microcanal tende a diminuir com a diminuição das dimensões das geometrias, devido à limitação da *plotter* de corte utilizada. No entanto, as experiências com os microcanais em PDMS apresentaram bons resultados, uma vez que possibilitaram a medição da camada livre de células e também permitiram gerar bolhas de forma a simular embolias gasosas e, conseqüentemente, estudar os fenómenos que ocorrem com as mesmas.

4.1.4 *Outros métodos*

A fabricação utilizando um escoamento laminar [72] veio permitir a microfabricação dentro de capilares ou outros espaços fechados de reduzidas dimensões, no entanto, esta técnica é mais útil para o fabrico de um reduzido número de sistemas e para uso em laboratório e não é adequado para a fabricação em grande escala.

Outros métodos de microfabricação podem ser encontrados no artigo de revisão realizado por Faustino et al. [73].

4.2 Estudos sobre embolias gasosas

Uma embolia gasosa [21] consiste na presença de uma bolha gasosa na circulação sanguínea. Morgagni [74] descreveu pela primeira vez esta situação em 1769 e em 1821, Magendie [75] fez o primeiro relato clínico acerca desta patologia.

As bolhas e o seu transporte no corpo de um indivíduo [21, 76] podem ter origem durante ou depois de uma descompressão, sendo que as mesmas se formam dentro dos vasos sanguíneos (caso dos mergulhadores e astronautas) ou quando o ar é injetado na corrente sanguínea (através de práticas terapêuticas, como procedimentos cirúrgicos e traumas pulmonares por ventilação mecânica).

Os estudos relacionados com o escoamento de bolhas são poucos, sendo esta uma área em expansão. Existem alguns estudos experimentais, sendo que a maioria são estudos *in vitro* utilizando sangue ou fluidos análogos ao sangue [77-80], quase não existindo estudos *in vivo* [81]. No entanto, são cada vez mais desenvolvidos estudos numéricos [76, 79, 82, 83].

Atualmente, as simulações numéricas e o processamento de imagem [76] oferecem cada vez mais estimativas da quantidade e das dimensões das bolhas. O crescimento destas bolhas depende de transferências de calor e de massa. Mas em relação às bolhas formadas por descompressão, o seu crescimento deve-se principalmente a transferências de massa. A presença de bolhas na circulação e o seu comportamento é importante nos processos inflamatórios, independentemente da sua origem. A composição do gás das bolhas em comparação com a composição dos gases dissolvidos no sangue afeta o tempo que as mesmas demoram a ser eliminadas, mas também influenciam a solubilidade e a difusão que estes gases apresentam em relação aos tecidos. Assim sendo, o comportamento reológico e a interação das bolhas com os componentes da parede dos vasos sanguíneos determinam a resposta dada pelo organismo à inflamação.

Taha e Cui [83] estudaram o movimento de bolhas longas dentro dos capilares e a capacidade de as mesmas serem utilizadas para o aumento de transferências de massa e de calor em vários processos químicos e biológicos, utilizando o *software* Fluent. Os autores obtiveram a velocidade e o diâmetro das bolhas durante um escoamento, bem como a velocidade ao redor da bolha, sendo que os resultados obtidos estavam de acordo com os estudos experimentais em

que se basearam, comprovando que a simulação numérica foi realizada com sucesso e que permite o estudo em questão.

Angeli e Gavriilidis [79] realizaram um estudo experimental e numérico com o intuito de estudar as características hidrodinâmicas durante o escoamento de bolhas de Taylor, de forma a compreender o comportamento das mesmas e a melhorar o funcionamento dos dispositivos microfluídicos que operam nestes regimes.

Os autores estudaram estas características tentando compreender e prever, por exemplo, a espessura da película de líquido que envolve as bolhas, a velocidade das mesmas e a queda de pressão durante o escoamento para canais de secção circular e para canais de secção quadrada. Os resultados que os autores obtiveram estão de acordo com os previstos para o escoamento desenvolvido em canais circulares. Contudo a presença de impurezas e incertezas sobre os valores de tensão superficial na interface gás-líquido levaram a que os resultados apresentassem uma certa discrepância e que os mesmos não estivessem de acordo com os previstos teoricamente e com os obtidos através de simulações numéricas.

Bento et al. [84] estudaram o escoamento de bolhas Taylor na microcirculação, mais propriamente a forma como estas bolhas perturbam o escoamento sanguíneo ao nível das células presentes no sangue. Para tal estudaram a influência das bolhas na camada livre de células e na concentração das células e conseguiram concluir que a presença de bolhas provoca alterações da espessura da camada livre de células, levando a uma distribuição heterogénea das células em volta das bolhas.

Alguns estudos já foram realizados para a implementação da emboloterapia gasosa, com o objetivo de implementar um sistema microfluídico para a produção de microgotas, as quais são utilizadas para o tratamento de doenças cancerígenas [77, 85, 86]. Eshpuniyani et al. [85] e Calderón et al. [77] estudaram a implementação de um sistema microfluídico para a produção de bolhas em microcanais com bifurcações, em PDMS. Os autores verificaram que, como as bolhas se alojam junto às bifurcações, as mesmas poderiam ser utilizadas para o tratamento de doenças cancerígenas através do bloqueio dos vasos do tumor. Este mecanismo consiste na utilização de bolhas de perfluorocarbono que podem ser vaporizadas por ultrassons, formando bolhas de gás que obstruem o vaso da microcirculação do tumor, impedindo que o escoamento continue. Os dados obtidos experimentalmente mostram que as bolhas têm mais facilidade em se alojarem do que em se desalojarem nas bifurcações, levando a que permaneçam nas mesmas.

Desta forma, o escoamento é obstruído, impedindo que os glóbulos vermelhos cheguem ao tumor, provocando a necrose do mesmo.

Valassis et al. [86] também analisaram a aplicação de um sistema microfluídico na emboloterapia gasosa, tal como os autores anteriores, mas estudando o transporte de microbolhas num escoamento pulsante. Concluíram que o facto de o escoamento ser pulsante faz com que a formação e o alojamento das bolhas seja afetado, nomeadamente no comprimento das mesmas. Concluíram também que a capacidade das bolhas permanecerem alojadas depois de atingirem um estado estacionário nas bifurcações faz da emboloterapia um bom tratamento para doenças cancerígenas e que é importante compreender onde esse alojamento irá ocorrer.

Para estudar embolias em escoamentos microfluídicos são utilizados sistemas bifásicos, que podem ser de gás/líquido e líquido/líquido. Cubaud e Ho [78] descreveram as condições experimentais que devem ser utilizadas para obter um escoamento em sistema gás/líquido constante, em microcanais com uma geometria em forma de cruz, com dois tamanhos diferentes. À medida que a razão entre a velocidade do ar e da água aumenta, os regimes do escoamento progridem da seguinte forma (Figura 17): escoamento borbulhante, em que existem bolhas de ar de pequeno diâmetro no escoamento do fluido; escoamento de cunha e escoamento de bolhas de *Taylor*, em que as bolhas de ar têm largura igual à do microcanal, ocupando praticamente toda a secção transversal do microcanal utilizado; escoamento anular, no qual um núcleo de gás é envolvido por uma película líquida nas paredes e escoamento seco, em que o líquido apenas flui nos cantos do microcanal e as paredes do mesmo estão secas.

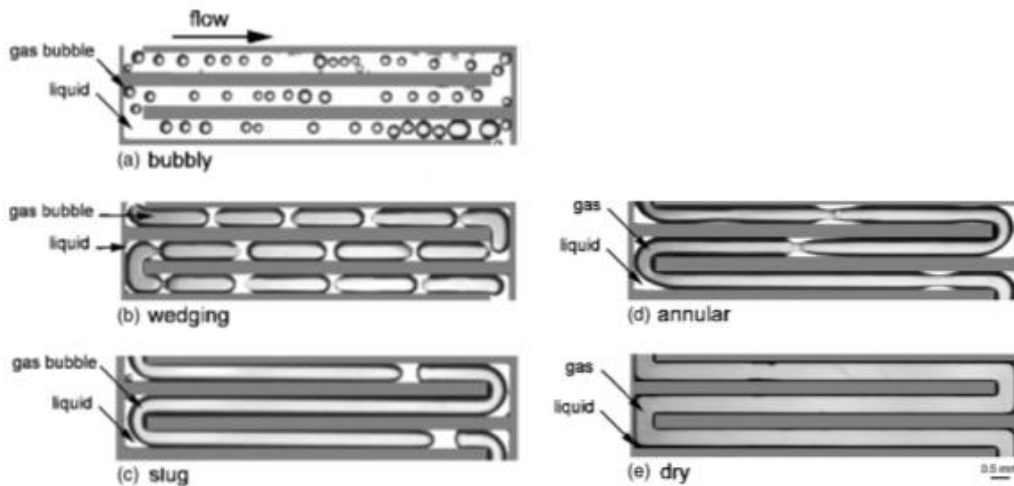


Figura 17 - Regimes em escoamento gás-líquido em microcanais: a) escoamento borbulhante; b) escoamento de cunha; c) escoamento de bolhas de Taylor; d) escoamento anelar; e) escoamento seco (adaptado de [78]).

Os autores também mediram as quedas de pressão, sendo estas correlacionadas com o caudal do líquido e o caudal do gás e verificaram que a transição de um escoamento borbulhante para o escoamento de bolhas de Taylor causa uma grande queda de pressão. Desta forma, e tendo em conta os caudais utilizados, conseguiram desenvolver uma expressão para a pressão que é proporcional ao número de bolhas presentes no canal.

Thulasidas et al. [80] também analisaram quantitativamente os processos de transferência de calor e de massa no escoamento de *bubble-train*. A velocidade foi determinada através de um sistema de velocimetria por imagem de partículas (PIV, da designação inglesa *particle imaging velocimetry*). Dependendo da dimensão dos capilares utilizados no escoamento, os autores observaram vórtices de contra rotação ou um escoamento de *bypass* dentro dos canais.

4.3 Escoamento de sangue em microcanais

Para o desenvolvimento deste trabalho é importante perceber o que ocorre durante o escoamento sanguíneo. Assim sendo, fez-se uma revisão dos estudos já realizados acerca deste assunto, muitos dos quais relatam o efeito do hematócrito.

Existe uma lei, conhecida por lei de Murray [87] que é uma fórmula que relaciona o raio de um vaso com os raios dos vasos filhos quando ocorre uma bifurcação. Doutel et al. [87] estudaram

o escoamento na artéria coronária com base na lei de Murray, uma vez que as zonas de baixa tensão de corte e elevado índice de corte oscilatório em bifurcações são propensas ao desenvolvimento de certas patologias, como a aterosclerose. Analisaram a influência das dimensões nas zonas de baixa tensão de corte na parede e no desenvolvimento do escoamento e verificaram que o principal fator que leva a grandes regiões de baixa tensão de corte é o chamado índice de expansão, que é uma relação entre as áreas de secção transversal dos ramos das bifurcações e a área de secção transversal do ramo principal, e que o mesmo não é suficientemente pequeno para impedir regiões com valores de tensão de corte baixos, fazendo com que a lei de Murray não leve a uma minimização da aterosclerose. Em relação aos ângulos das bifurcações, conseguiram concluir que os mesmos não minimizam o tamanho das regiões de baixa tensão de corte.

Tsukada et al. [88] produziram microcanais de forma a obter um modelo capilar e realizaram a medição da deformabilidade dos glóbulos vermelhos *in vitro*. Ao escolherem apropriadamente a largura do microcanal e o caudal utilizado conseguiram observar a deformação dos glóbulos vermelhos de forma semelhante ao que acontece nos capilares. A exatidão da medida de deformabilidade foi confirmada pela comparação do índice de deformação de glóbulos vermelhos saudáveis com glóbulos vermelhos cuja membrana foi endurecida. Os autores também estudaram a deformabilidade de glóbulos vermelhos em sangue de pacientes com Diabetes Mellitus e conseguiram concluir que estes glóbulos vermelhos apresentam uma deformabilidade menor, o que pode provocar uma alteração da viscosidade e, conseqüentemente, o aumento da tensão de corte nas paredes dos vasos sanguíneos.

Lima et al. [89] realizaram um estudo relacionado com as velocidades de escoamento em vasos sanguíneos, mais concretamente capilares, de secção quadrada. Para tal, através de um microcanal de secção quadrada e utilizando um sistema de velocimetria por imagem de partículas combinado com um microscópio invertido (micro-PIV confocal) efetuaram o escoamento de uma suspensão de glóbulos vermelhos em água destilada. Em 2008, Lima et al. [90] também estudaram os perfis de velocidade para o escoamento de água pura e sangue com 17% de Hct através de um sistema micro-PIV confocal. E verificaram que a forma dos perfis de velocidade dependia do hematócrito e concluíram que é importante considerar as informações fornecidas pelas velocidades instantâneas, mesmo quando o número de Reynolds é baixo.

Lima et al. [91] utilizaram soro fisiológico e sangue como fluidos e realizaram o escoamento com caudal constante, num microcanal retangular em PDMS. Usando um sistema micro-PIV confocal, conseguiram obter medições sucessivas dos perfis de velocidade. Para o soro fisiológico, os resultados estavam em concordância com o estudo analítico, enquanto para o sangue com 20% de Hct verificaram pequenas variações nos perfis de velocidade devido, possivelmente, às interações entre glóbulos vermelhos vizinhos, à alta taxa de corte nas paredes e a certas variações temporárias no hematócrito. Os autores também concluíram que o sistema de micro-PIV confocal, em conjunto com os microcanais em PDMS, são efetivamente um bom método para o estudo dos perfis de velocidade.

Lima et al. [92] estudaram o escoamento em microcanais circulares em PDMS, utilizando vários fluidos contendo Dextrano 40 e diferentes hematócritos. Os resultados obtidos mostraram que a dispersão lateral de glóbulos vermelhos aumenta com o hematócrito.

Em 2009, Lima et al. [93] utilizaram a técnica anterior mas com o objetivo de medir a camada livre de células e as trajetórias dos glóbulos vermelhos. Através dos resultados obtidos conseguiram concluir que a trajetória dos glóbulos vermelhos depende da percentagem de Hct, sendo que o deslocamento e a dispersão radial dos glóbulos vermelhos aumentam com o hematócrito. Também conseguiram concluir que existe um elevado potencial dos estudos computacionais para a análise da reologia do sangue em pequenos microcanais, onde o cariz não-newtoniano do sangue é significativo.

Mais recentemente, Lima et al. [94] estudaram o comportamento do escoamento de um fluido contendo Dextrano 40 e nanopartículas magnéticas com 25 nm através de um microcanal em vidro. O campo magnético é aplicado externamente por um íman permanente e através de um sistema micro-PTV, os autores conseguiram medir o comportamento do escoamento de nanopartículas magnéticas com diferentes caudais e diferentes campos magnéticos. Conseguiram concluir que a trajetória das nanopartículas depende da força magnética e hidrodinâmica.

Tanaka et al. [95] estudaram a migração de células durante o escoamento de sangue com elevada percentagem de Hct (o mais elevado foi 40% de Hct) num microcanal, sendo que as células em estudo são células cancerígenas. Os autores mediram a probabilidade de haver migração celular, examinaram as interações célula-célula, a deformabilidade das células e as variações do tamanho das mesmas. Conseguiram concluir que as células cancerígenas

conseguem migrar para uma certa posição para nível de Hct até 10% e que os resultados obtidos são importantes para o desenvolvimento de sistemas microfluídicos que consigam separar as células cancerígenas do sangue.

Também existem estudos utilizando várias geometrias nos microcanais, a fim de descobrir a influência das mesmas durante o escoamento. Alguns desses estudos estão presentes na Tabela 2.

Tabela 2 – Alguns estudos da influência da geometria no escoamento sanguíneo.

Autores	Geometria	Dimensões	Caudal	Hct	Metodologia	Conclusões
Faivre et al. [96]	Microcanal com contração.	Largura: 100 μm ; Largura da contração: 15-30 μm ; Comprimento da contração: 50-300 μm .	0.17– 16.7 $\mu\text{L}/\text{min}$.	0.1%-2.6% e 16%.	Experimental.	O aumento da secção transversal da contração, juntamente com a deformabilidade das células produzem um grande aumento da camada livre de células depois da contração.
Leble et al. [97]	Microcanal com uma bifurcação divergente, seguida de uma convergente.	Largura: 160/159 μm ; Larguras da bifurcação divergente: 86/88 μm ; Larguras da bifurcação convergente: 84/83 μm ; Comprimento entre as bifurcações: 3666 μm ; Ângulos das bifurcações: 60°.	0.18 e 0.20 $\mu\text{L}/\text{min}$.	14%.	Experimental e numérico.	Concluíram que quando os glóbulos vermelhos fluem num microcanal com uma bifurcação divergente, seguida de uma convergente, a velocidade dos mesmos nas duas bifurcações são assimétricas. Os glóbulos vermelhos têm tendência a fluir mais lentamente na região anterior à bifurcação divergente e mais rapidamente logo a seguir à confluência.
Cidre et al. [98]	Microcanal com uma bifurcação simétrica.	Largura: 150 μm ; Larguras da bifurcação: 75 μm ; Ângulo das bifurcações: 60°.	0.18 $\mu\text{L}/\text{min}$.	14%.	Experimental (através de um sistema micro-PIV/PTV) e numérico.	Concluíram que as trajetórias dos glóbulos vermelhos podem-se alterar devido à aglomeração dos mesmos junto ao ponto de divergência da bifurcação.
Novais et al. [99]	Microcanais apresentados na Figura 18.	As dimensões encontram-se na Figura 18.	2, 5 e 10 $\mu\text{L}/\text{min}$.	5, 10 e 15%.	Experimental.	Os resultados obtidos demonstraram que o hematócrito e a geometria do microcanal influenciam a espessura da camada livre de células (CLC). A CLC aumenta durante o escoamento numa zona de contração/expansão, sendo este aumento maior para o hematócrito inferior. No entanto, os diferentes caudais utilizados não demonstraram influenciar na espessura da camada de plasma.

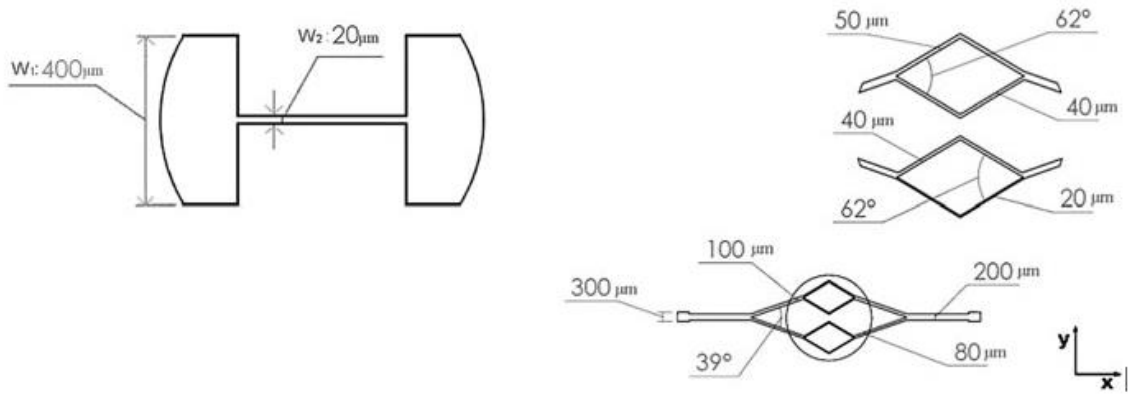


Figura 18 - Geometrias utilizadas num microcanal com contração e num microcanal com bifurcações [99].

5 Materiais e métodos

No presente estudo pretende-se analisar e estudar embolias gasosas em microcanais com bifurcações e confluências. Assim neste capítulo descrevem-se todos os métodos e materiais utilizados para a realização deste estudo. Inicialmente descrevem-se os métodos de fabricação dos microcanais, os fluidos utilizados e por último todo o circuito utilizado para a visualização do escoamento através de um microscópio.

5.1 Fabricação dos microcanais

Os microcanais foram obtidos por litografia suave a partir de moldes produzidos por dois métodos, por xurografia e por fotolitografia. A xurografia [67, 100] é uma técnica de baixo custos, como já foi referido, e está disponível no laboratório do CEFT na FEUP. Os moldes obtidos por fotolitografia são de SU-8 já existentes no grupo de investigação.

5.1.1 *Moldes obtidos por xurografia*

Com este método foram fabricados moldes de microcanais com duas geometrias diferentes, um com bifurcação e confluência simétricas e outro com bifurcação e confluência assimétricas. Para a planificação das geometrias em 2D utilizou-se o *software* AutoCAD [101], que é um programa de desenho assistido por computador que é comercializado pela Autodesk desde 1982 e que permite a construção de projetos e desenhos técnicos em 2 dimensões e modelos tridimensionais. Na Figura 19 estão representadas os modelos bidimensionais obtidos.

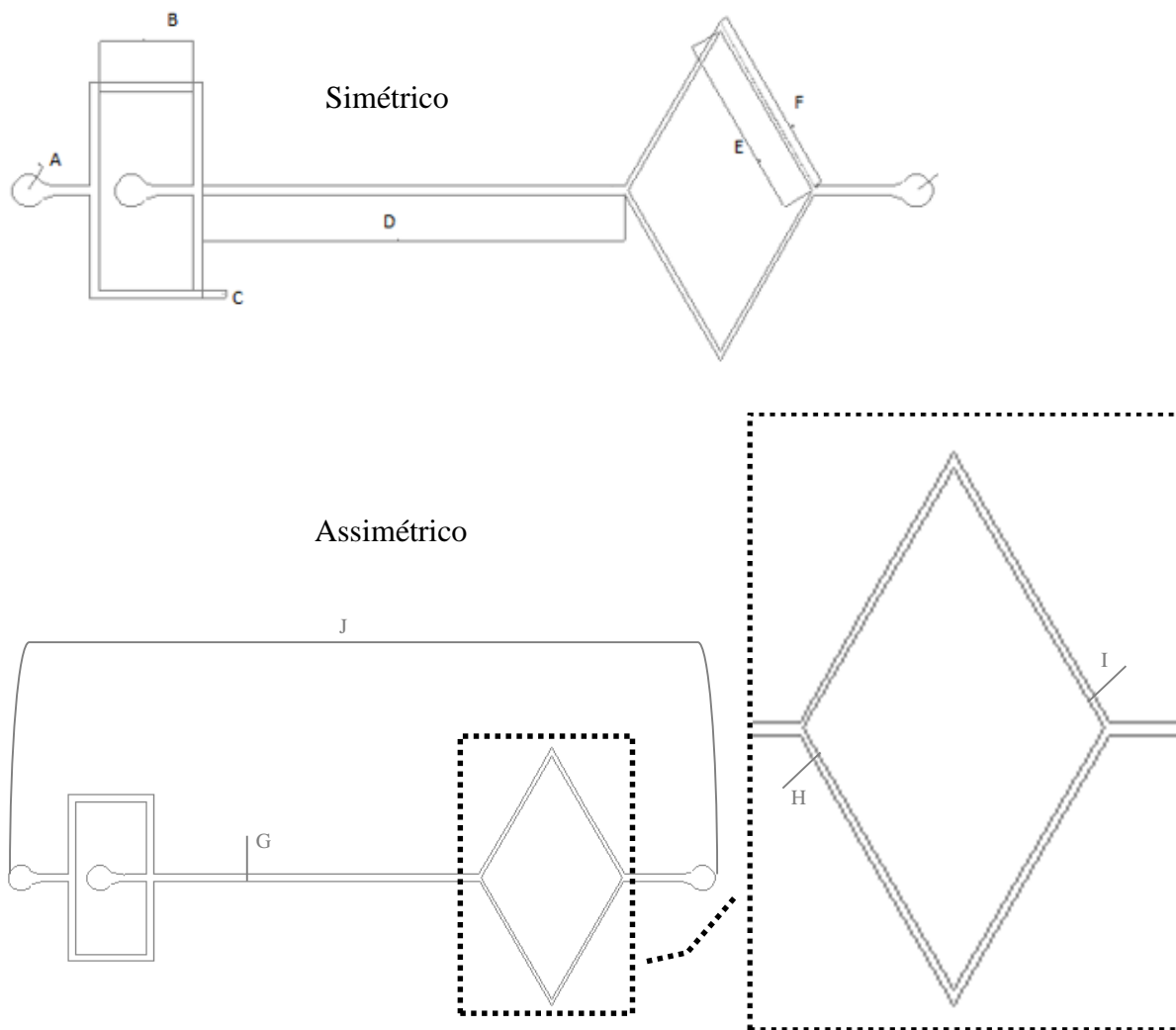


Figura 19 - Modelos bidimensionais obtidos através do AutoCAD.

Na tabela seguinte encontram-se as dimensões utilizadas em ambos os microcanais, sendo que as letras correspondem às letras utilizadas para identificar as dimensões na Figura 19.

Tabela 3 – Dimensões utilizadas nos microcanais projetados no AutoCAD.

Microcanal	Dimensões (μm)									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>Simétrico</i>	1050	6000	600	27200	11826	12173	600	300	300	59194
<i>Assimétrico</i>	1050	6000	600	27200	11826	12173	600	316.6	305.8	59194

Depois as geometrias foram importadas no *software* CorelDRAW [102], comercializado pela Corel Corporation que permitiu selecionar uma geometria, copiá-la e transferi-la como uma peça única para o *software* GreatCut, sendo que este é um *software* de apoio à *plotter* de corte. A *plotter* de corte [102] é um equipamento semelhante a uma impressora mas que contém uma lâmina, a qual corta num certo material, neste caso papel de vinil com cerca de 0.1 mm de espessura, um determinado formato (geometria). Assim, utilizou-se a *plotter* de corte Expert 24, representada na Figura 20, para recortar o negativo dos microcanais em estudo.

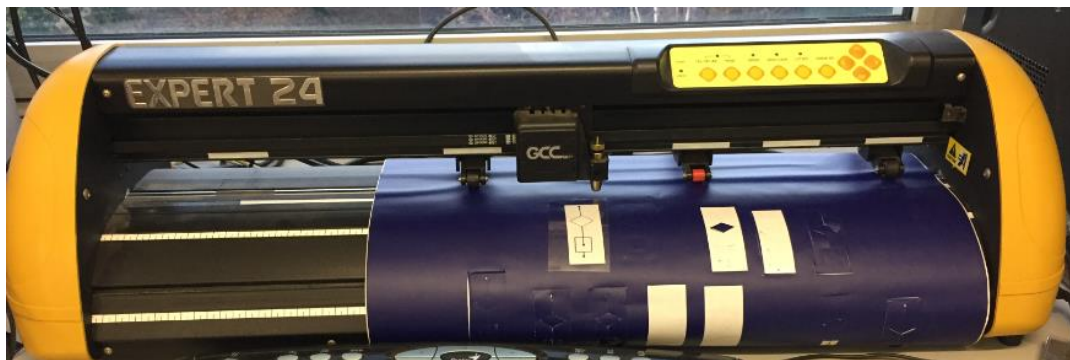


Figura 20 - *Plotter* de corte Expert 24.

Após a obtenção dos modelos em vinil foi necessário colocá-los numa caixa de *petri*, com o auxílio de um papel de transporte, como demonstrado na Figura 21.

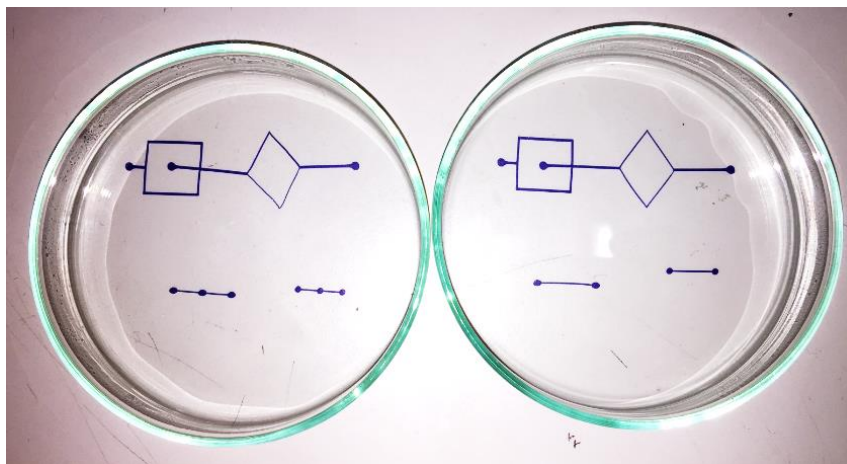


Figura 21 – Caixa de *petri* contendo os moldes das geometrias.

5.1.2 Moldes obtidos por fotolitografia

Para obter microcanais através de litografia suave [56, 66, 103-105] é necessário fabricar os moldes através de outra técnica, como por exemplo, através de fotolitografia.

Inicialmente a geometria é desenhada utilizando um *software* CAD e depois é impressa obtendo-se uma máscara de poliéster, o fotolito. Este fotolito é então utilizado como máscara para criar um padrão num determinado substrato. Depois de definir os padrões no fotolito, os mesmos são transferidos para filmes fotossensíveis e depositados em substratos de silício, obtendo assim moldes para criar modelos em PDMS. Todo este processo está descrito na Figura 22.

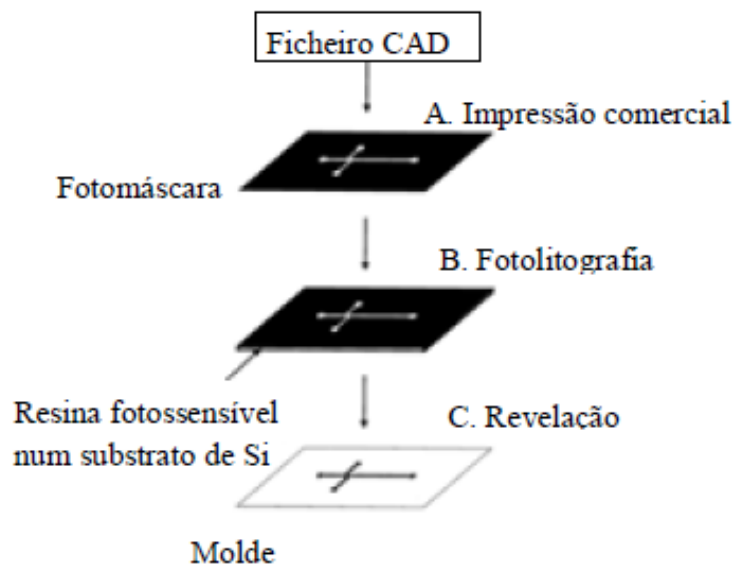


Figura 22 – Obtenção do molde através de fotolitografia (adaptado de [56]).

Os moldes em SU-8 são exemplos deste tipo de fabricação e são os moldes utilizados no presente estudo e estão representados na Figura 23. Estes moldes permitem a sua reutilização durante o processamento do PDMS cerca de 50 vezes sem que haja degradação ou com uma degradação mínima.



Figura 23 - Moldes em SU-8 utilizados no presente estudo.

Os moldes de SU-8 necessitam ser silanizados de forma a evitar que o PDMS adira aos moldes. Para isso foi colocada uma gota de tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrooctyl-1-trichlorosilane numa caixa de *petri* e tapou-se a mesma com as caixas de *petri* contendo os moldes SU-8. A silanização é feita através do vapor em contacto com o SU-8. Esta operação decorreu durante uma hora numa *hotte* (Figura 24).



Figura 24 - Silanização dos microcanais.

5.1.3 Microcanais obtidos por litografia suave

Os moldes produzidos quer por xurografia quer por fotolitografia foram utilizados para produzir os canais em PDMS por litografia suave.

O PDMS [100, 102, 106] é um elastómero de silicone com muitas características importantes para estudos na área da biomédica, incluindo o presente estudo: é biocompatível, é um material com custos baixos, é transparente e é fácil de manusear à temperatura ambiente.

Para a fabricação dos modelos em PDMS foram necessários os seguintes equipamentos e materiais: balança analítica, misturador, bomba de vácuo, *spin coater*, estufa, base (silicone elastomérico), agente de cura, modelos bidimensionais, x-ato, pinça, *tips*, álcool etílico, copos descartáveis, lâminas.

Inicialmente foi necessário preparar duas misturas de base (PDMS) e de agente de cura, com o auxílio da balança analítica, que está na Figura 25 (A). Uma das misturas numa proporção de 5:1 para colocar nas placas de *petri* que contém os moldes e outra numa proporção de 20:1 para colocar nas lâminas utilizadas para selar os microcanais. Ambas as misturas foram colocadas num misturador, que está na Figura 25 (B), durante 5 minutos, o que levou à formação de bolhas de ar.

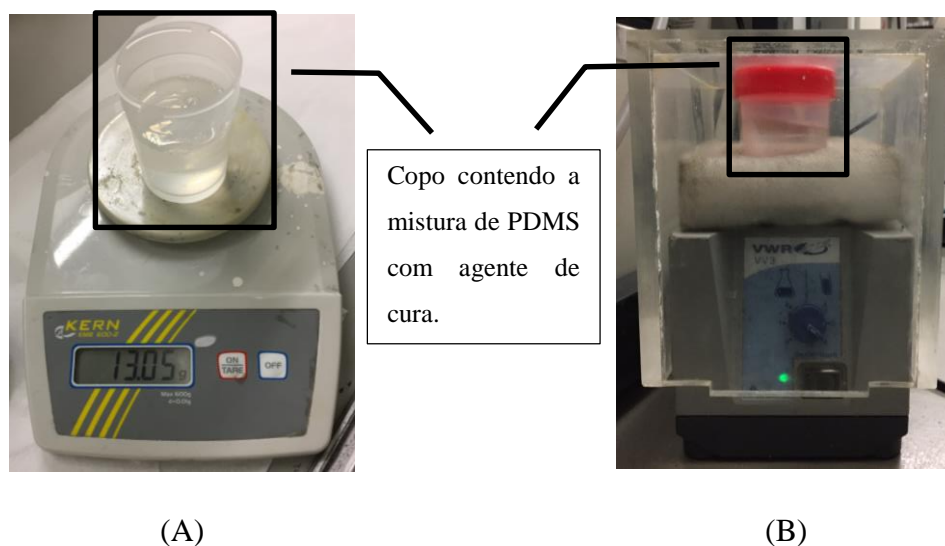


Figura 25 – A) Balança analítica; B) Misturador.

Para remover as bolhas de ar, o PDMS com agente de cura numa proporção de 5:1 foi adicionado às placas de *petri* com os moldes e a outra mistura (proporção 20:1) foi mantida nos copos descartáveis. As placas de *petri* e os copos descartáveis contendo PDMS foram colocados no interior de uma câmara de vácuo, representada na Figura 26, até as bolhas desaparecerem.



Figura 26 - Bomba de vácuo utilizada para remover as bolhas.

Após a remoção das bolhas, as caixas de *petri* foram colocadas na estufa, a 80 °C, durante 20 minutos, de forma a fazer uma cura parcial do PDMS. A mistura de PDMS e de agente de cura numa proporção de 20:1 foi utilizada para preparar as lâminas com o auxílio do *spin-coater*, que está na Figura 27 (A).



(A)



(B)

Figura 27 – A) *Spin-coater*; B) Lâminas que foram colocadas no *Spin-coater*.

As lâminas foram limpas e posteriormente colocadas no *spin-coater*, como se pode ver na Figura 27 (B). Foi depositada uma gota da mistura na lâmina. Ligou-se o vácuo ao *spin-coater*, de maneira a fixar as lâminas ao mesmo e ligou-se o equipamento a 5000 rpm durante 50 segundos, de forma a espalhar uniformemente o PDMS sobre a lâmina e obter uma camada muito fina de PMDS sobre a mesma. Depois de preparadas, as lâminas foram colocadas na estufa a 80 °C durante 10 minutos.

Depois de finalizada a cura parcial, o PDMS solidificado foi cortado e retirado das caixas. Foram feitos furos de entrada e saída nos modelos, com o auxílio de *tips* e de uma pinça, como se pode ver na Figura 28.

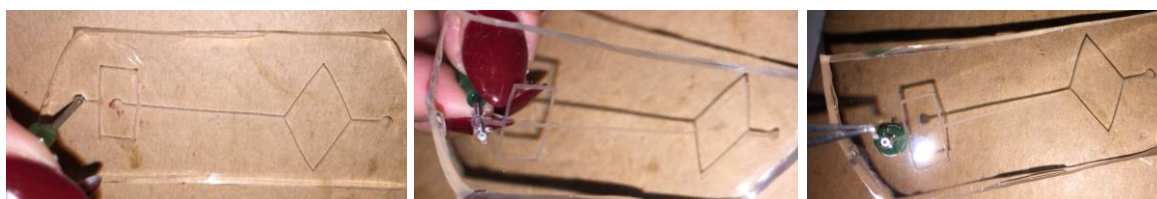


Figura 28 - Realização dos furos de entrada e de saída nos microcanais.

Por fim colocaram-se os microcanais sobre as lâminas, de forma a ficarem completamente selados e colocaram-se novamente na estufa a 80 °C durante 24 horas, obtendo-se os modelos representados na Figura 29.

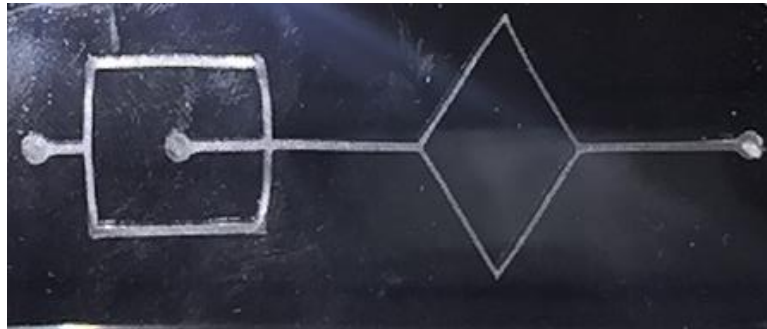


Figura 29 - Microcanais fabricados.

5.2 Fluidos utilizados

Os fluidos utilizados nas experiências foram fluidos Newtonianos e sangue ovino. Os fluidos Newtonianos preparados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Fluidos Newtonianos preparados.

Composição	
1	Solução aquosa de Dextrano 40 (10%) + 2% Dodecil sulfato de sódio (SDS, da designação inglesa <i>sodium dodecyl sulfate</i>)
2	Solução aquosa de Dextrano 40 (10%) + 2% SDS + partículas fluorescentes

Optou-se por utilizar soluções com Dextrano 40, uma vez que o Dextrano 40 é o fluido base utilizado nas amostras de sangue descritos a seguir. O SDS utilizado nas soluções tem como função evitar a aglomeração de partículas.

Quanto ao sangue ovino, este foi recolhido e colocado num tubo de ensaio com anticoagulante. Posteriormente prepararam-se duas soluções, uma com hematócrito de 5% e a outra com 10%. Para isso realizaram-se duas lavagens do sangue com soro fisiológico, separando-se as células do plasma através de centrifugação. Após as lavagens foram colocados 25 μL e 75 μL de hematócrito em dois tubos de ensaio e adicionou-se Dextrano 40 até se completar 5 mL de amostra. A Figura 30 mostra as várias etapas necessárias para a obtenção destas soluções.

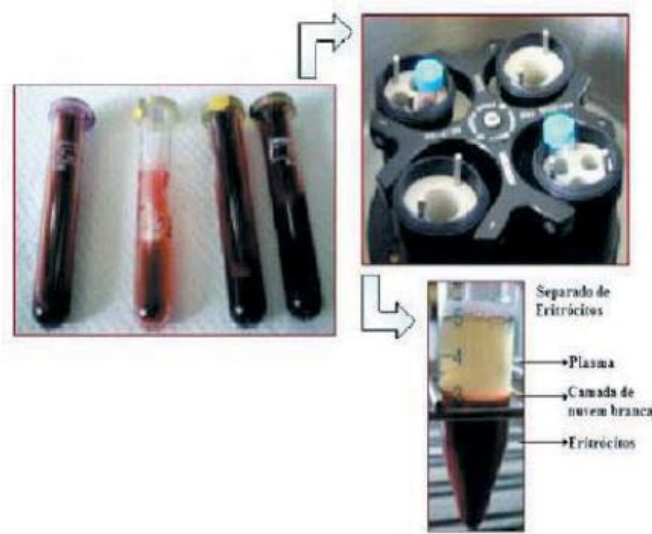


Figura 30 - Etapas necessárias para a obtenção das amostras com 5 e 10% de Hct.

5.3 Visualização dos escoamentos nos microcanais fabricados

Para visualizar os escoamentos foram utilizados os seguintes equipamentos e materiais: um microscópio invertido Leica DMI 5000 M, uma câmara digital Leica DFC350 FX, uma câmara de alta velocidade FastcamMINI (Figura 32), uma bomba de seringa Nemesys, uma bomba de pressão Elveflow PG1113, os microcanais fabricados, o fluido, uma seringa e tubos de ligação. Estes equipamentos estão representados na Figura 31.

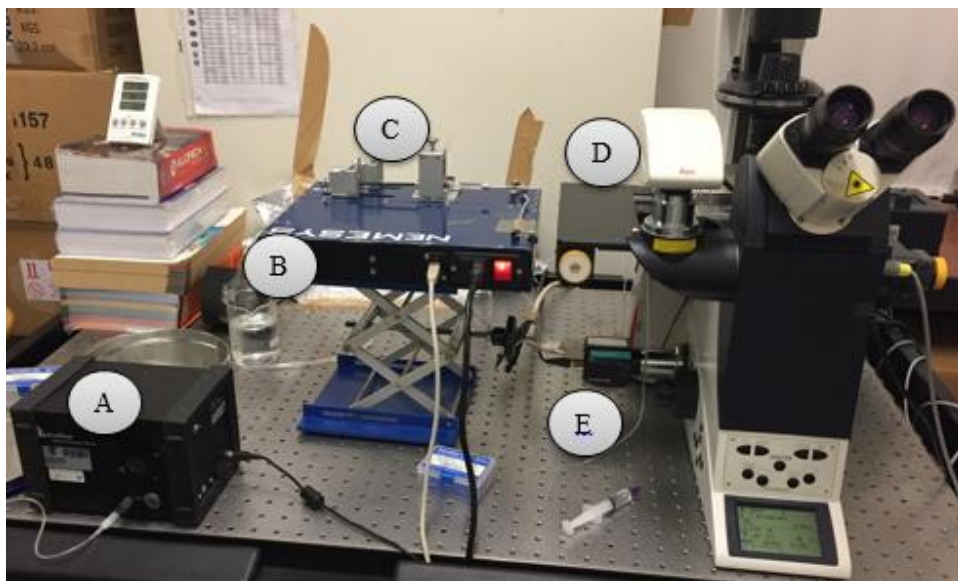


Figura 31 - Montagem utilizada para visualizar os escoamentos: A) bomba de pressão Elveflow PG1113; B) bomba de seringa Nemesys; C) seringa; D) microscópio invertido Leica DMI 5000 M; E) câmara digital Leica DFC350 FX.



Figura 32 - Câmera de alta velocidade FastcamMINI.

A bomba de seringa foi controlada através do software neMESYS UseInterface e a aquisição das imagens foi obtida através do *softwares* Leica Application Suite (quando utilizada a câmara digital) e o PHOTRON Fastcam viewer (quando utilizada a câmara de alta velocidade).

A bomba de seringa foi conectada ao *software* de apoio à mesma, de forma a ser possível variar os caudais. Encheu-se a seringa com o fluido e colocou-se a mesma na bomba. Posteriormente

ligou-se a seringa à entrada de fluido do microcanal através de um tubo de ligação. Da mesma forma, ligou-se a bomba de pressão à entrada de ar do microcanal. Estas ligações estão demonstradas nas figuras 33 e 34.

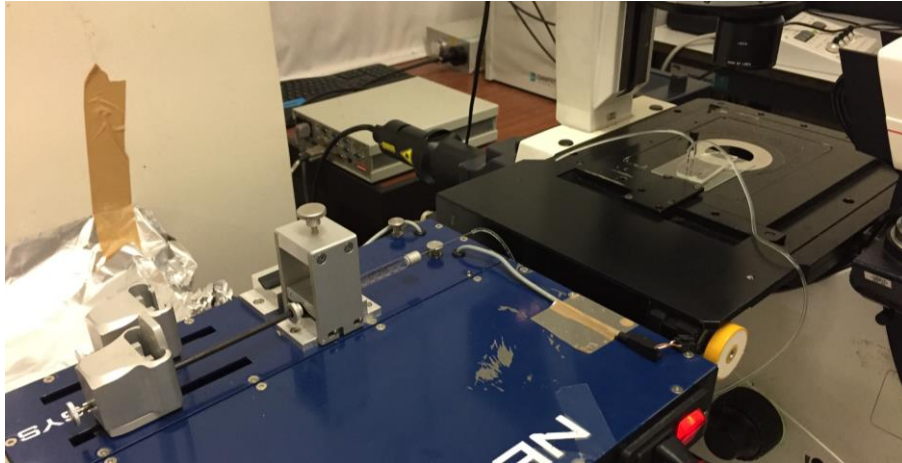


Figura 33 – Ligação da seringa ao microcanal em estudo.

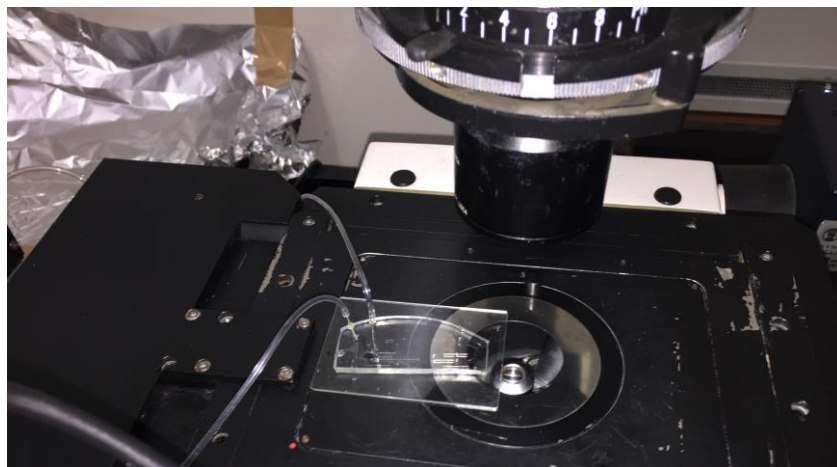


Figura 34 - Microcanal e respetivas ligações dos tubos de ligação à bomba de seringa e à bomba de pressão.

Conectou-se a câmara ao *software* da câmara, de maneira a ser possível observar e controlar o escoamento e a aquisição de imagens e de seguida introduziu-se o primeiro caudal e a primeira pressão a ser estudados, iniciando assim o escoamento com bolhas de ar. Ao longo do

escoamento foram-se adquirindo imagens e vídeos que foram posteriormente tratados e analisados.

5.4 *Software* utilizado na análise de resultados

Para tratar e analisar os resultados obtidos com o escoamento foram utilizados dois programas de computador: o ImageJ e o Excel. O ImageJ [107, 108] é um programa que permite realizar o processamento de imagens e que contém várias ferramentas que permitem a execução de uma grande variedade de tarefas.

Das ferramentas do ImageJ, uma das utilizadas foi o *Manual Tracking*, que permite realizar o seguimento do percurso de um determinado componente, neste caso, das bolhas, obtendo-se as coordenadas x e y dos pontos marcados ao longo do percurso (como se ilustra na Figura 40). Com a coordenada x é possível, posteriormente, calcular as velocidades das bolhas. Outras das ferramentas é o *Plot z-axis profile*, que depois de selecionar uma determinada área do vídeo, permite obter um gráfico com as várias tonalidades, numa determinada região ao longo do tempo. Esta ferramenta é útil para saber quando há passagem ou não de uma bolha.

6 Apresentação e discussão dos resultados

As experiências realizadas são todas com escoamento de fluidos com microbolhas, sendo sistemas de gás-líquido, em que o gás é injetado através de uma bomba de pressão constante, que permite condições constantes e replicáveis ao longo das experiências. Foram efetuados escoamentos utilizando vários caudais e pressões, em microcanais com diferentes geometrias, de forma a estudar várias características do escoamento, tais como a velocidade das bolhas e o entupimento dos microcanais. Para isso foram captadas imagens dos escoamentos ao longo do ramo principal e na zona imediatamente antes das bifurcações e analisaram-se as mesmas no *software* ImageJ.

Os microcanais utilizados foram obtidos por litografia suave. Assim, na Secção 6.1 são apresentados os resultados conseguidos com os microcanais cujo molde foi obtido por xurografia (Figura 29). Estes microcanais têm uma bifurcação seguida de uma confluência e a largura do canal principal é de 600 μm .

Na Secção 6.2 é feita a análise dos dados obtidos com as experiências realizadas nos microcanais com bifurcações sucessivas, em que o molde foi obtido por fotolitografia (Figura 35). Este microcanal apresenta dimensões inferiores às dimensões dos microcanais obtidos a partir de moldes produzidos por xurografia e a largura do canal principal é de 100 μm .

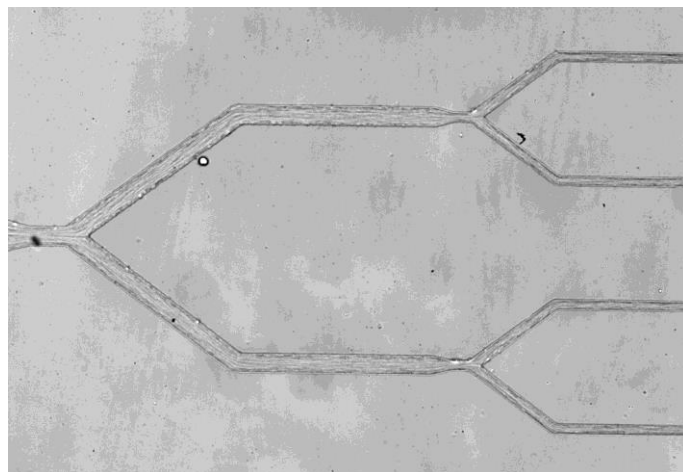


Figura 35 - Microcanal fabricado através de um molde obtido por fotolitografia. O ramo principal tem 100 μm de largura.

6.1 Microcanal com uma bifurcação seguida de confluência

No caso dos microcanais com uma bifurcação seguida de confluência, foram analisadas as características geométricas do canal e as seguintes características do escoamento: a formação das bolhas, a velocidade das bolhas e a sua frequência, o tempo entre bolhas e o desvio padrão do tempo entre as bolhas.

6.1.1 Dimensões reais dos microcanais

Ao longo das experiências foi-se verificando que as dimensões dos microcanais obtidos por xurografia eram significativamente diferentes das dimensões utilizadas nas planificações bidimensionais no AutoCAD. Assim foi necessário medir os microcanais e comparar com as dimensões de projeto. A Figura 36 mostra as dimensões estudadas.

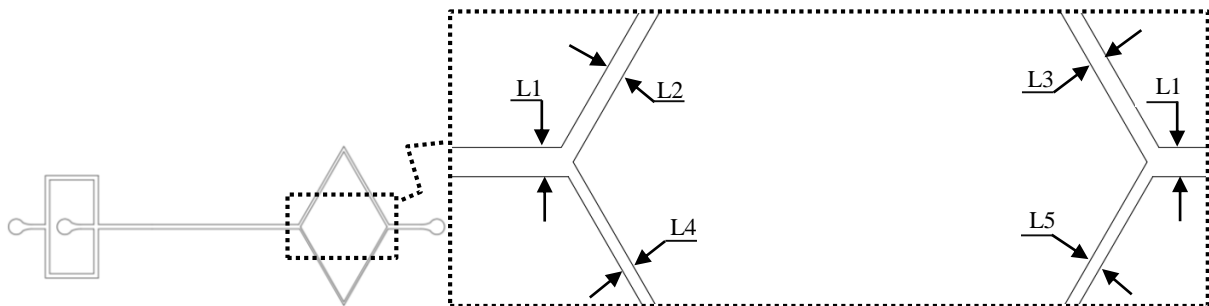


Figura 36 – Larguras dos ramos estudadas na comparação das dimensões de projeto e das dimensões reais.

Na Tabela 5 estão as dimensões de projeto e reais da largura do canal principal (realizaram-se quatro medições para o canal principal) e da largura dos ramos da bifurcação (L2 e L3) e da confluência (L4 e L5), para vários microcanais.

Comparando as dimensões de projeto com as dimensões reais, estas apresentam alguma discrepância, podendo ser explicada pela precisão da *plotter* de corte, tal como aconteceu no

estudo efetuado por Pinto et al. [60]. Este equipamento contém uma lâmina que tem uma determinada espessura o que provoca erros com algumas dezenas de micrómetros.

Este erro poderia ser minimizado aumentando a precisão da *plotter* de corte, utilizando outro tipo de papel de vinil, usando lâminas novas e utilizando outro método de fabrico mais eficaz.

Tabela 5 - Comparação entre as dimensões de projeto e as dimensões reais.

Microcanal	Canal principal (μm) – L1		Ramos (μm)		
	Dimensão teórica	Dimensão real	Dimensão teórica	Dimensão Real	
A	600	596	L2	300	287
		607	L3	300	278
		604	L4	300	272
		595	L5	300	309
B	600	602	L2	300	344
		604	L3	300	316
		607	L4	200	196
		593	L5	200	206
C	600	593	L2	300	303
		600	L3	300	289
		607	L4	300	289
		609	L5	300	311
D	600	615	L2	300	344
		598	L3	300	337
		606	L4	300	337
		617	L5	300	300
E	600	628	L2	300	353
		622	L3	300	346
		622	L4	200	209
		628	L5	200	239
F	600	665	L2	300	390
		674	L3	300	342
		659	L4	200	231
		659	L5	200	232

6.1.1 *Fluidos Newtonianos*

Como referido anteriormente foram testados alguns fluidos Newtonianos, tendo-se optado por apresentar os resultados obtidos utilizando amostras aquosas de Dextrano 40, uma vez que o Dextrano 40 também é utilizado nas amostras de sangue com Hct de 5 e 10%.

6.1.1.1 Formação das bolhas

As bolhas são formadas na zona de mistura, ou seja, no cruzamento dos ramos onde o líquido e o ar são injetados, como se pode observar na Figura 37.

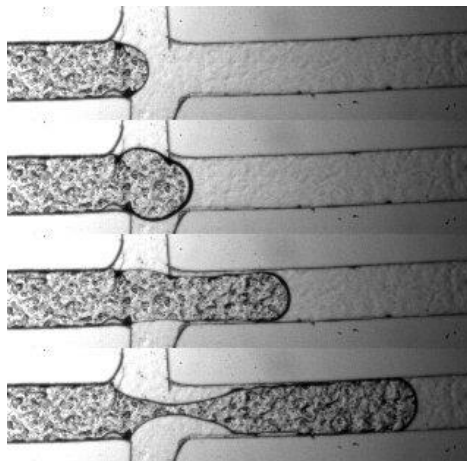


Figura 37 - Formação de uma bolha de ar durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

As bolhas formadas apresentaram dois formatos diferentes. Algumas eram biconvexas, como se pode verificar na Figura 38 e outras tinham um formato côncavo-convexo (Figura 39). O formato diferente deve-se à utilização do surfactante SDS.

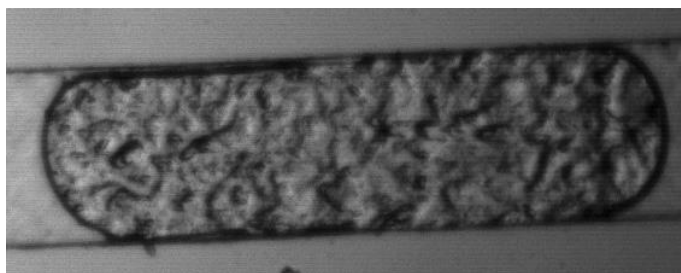


Figura 38 - Bolha biconvexa formada durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

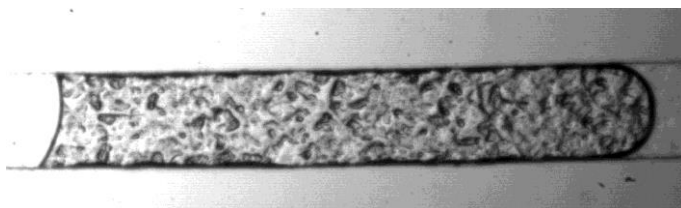


Figura 39 - Bolha com um formato côncavo-convexo formada durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 sem SDS.

6.1.1.2 Velocidade das bolhas

Um dos objetivos é estudar a velocidade das bolhas. Para isso realizou-se uma comparação da velocidade experimental com a velocidade teórica. A velocidade experimental foi obtida através da análise dos vídeos obtidos pela câmara de alta velocidade. No ImageJ foi possível fazer o seguimento das bolhas através da ferramenta *Manual Tracking*, e através da coordenada x e do tempo conseguiu-se obter a velocidade experimental. A Figura 40 mostra como se realizou o seguimento das bolhas.

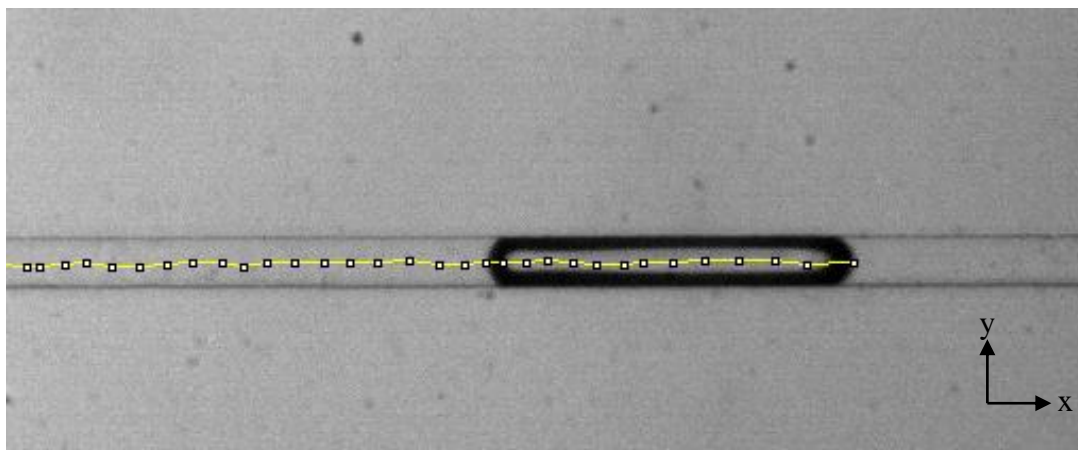


Figura 40 - Seguimento das bolhas no ImageJ.

A velocidade teórica do fluido, v_t , é obtida através da seguinte equação:

$$v_t = \frac{Q}{A} \text{ mm/s}$$

em que Q (mm^3/s) é o caudal de líquido e A (mm^2) a área da secção recta do microcanal. A área é calculada a partir da profundidade e da largura do microcanal.

A Tabela 6 contém as velocidades teóricas e a velocidade média experimental (v_{exp}) para todos os caudais e pressões utilizados, sendo que a área para os microcanais em estudo é 0.06 mm^2 .

Tabela 6 – Velocidade das bolhas, para o microcanal com uma bifurcação, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Pressão (mbar)	v_t (mm/s)	Média da v_{exp} (mm/s)
2	26	0.56	0.80
5	28	1.39	1.44
10	41	2.78	3.53
20	50	5.56	6.78

Como se pode ver na tabela anterior, a média das velocidades experimentais é sempre superior à velocidade teórica. Tal já era esperado uma vez que a velocidade das bolhas resulta da velocidade superficial do líquido mais a velocidade superficial do gás. Isto explica o facto de nalguns casos a superioridade da velocidade média em relação à velocidade teórica seja mais acentuada, já que quando é utilizada uma pressão maior que a necessária para injetar as bolhas no escoamento, ocorre um maior aumento da velocidade das mesmas. O formato das bolhas também influencia a velocidade. A velocidade das bolhas biconvexas é maior, uma vez que não encostam totalmente às paredes do microcanal.

As próximas figuras mostram os resultados obtidos para as velocidades das bolhas, durante o escoamento da solução aquosa de Dextrano 40 com SDS, ao longo do microcanal com uma bifurcação, utilizando vários caudais e pressões. Estes gráficos comparam a velocidade de uma bolha ao longo do microcanal com a velocidade teórica.

Para o caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 26 mbar obteve-se a Figura 41, onde se compara a velocidade ao longo do microcanal com a velocidade teórica. A Figura 42 mostra os resultados obtidos para a velocidade de uma bolha, utilizando um caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 28 mbar.

A Figura 43 apresenta as velocidades da bolha para o caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 41 mbar e as velocidades da bolha para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 50 mbar também foram analisadas e estão apresentadas no gráfico da Figura 44.

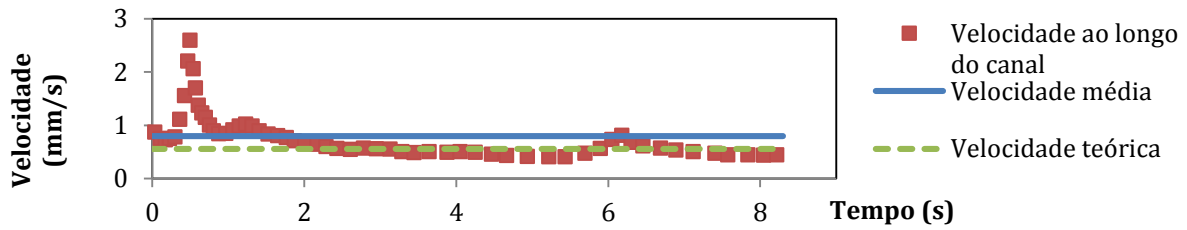


Figura 41 – Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 26 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

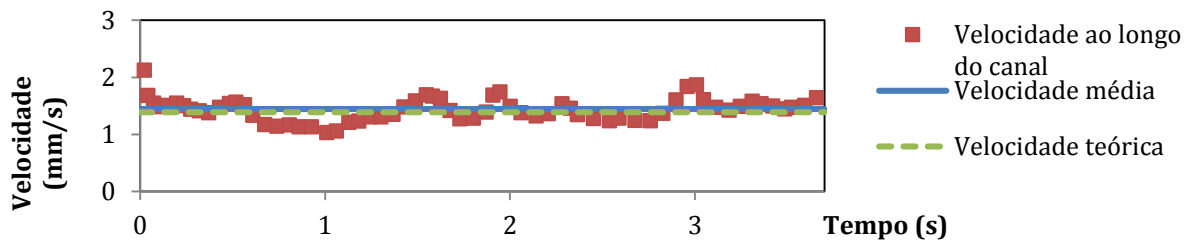


Figura 42 - Velocidade obtida para um caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 28 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

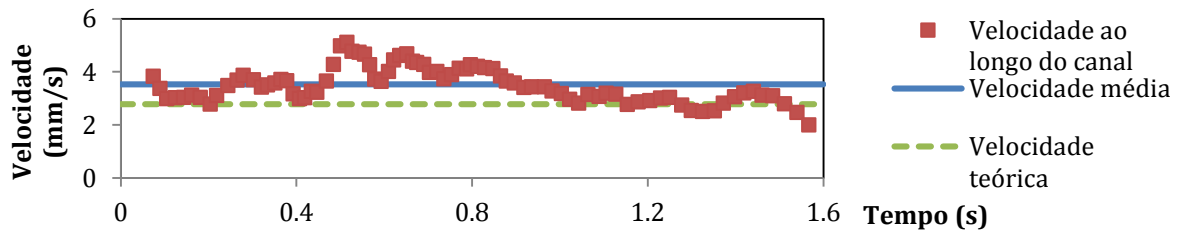


Figura 43 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 41 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

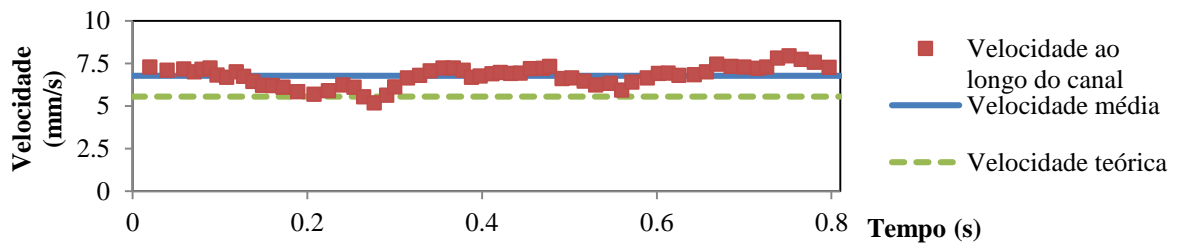


Figura 44 - Velocidade obtida para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 50 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

Como se pode verificar no gráfico da Figura 41, a velocidade tem um pico inicial provocado pelo momento em que a bolha é injetada, o que faz com que a velocidade seja alta. Este efeito nota-se mais quando utilizados caudais baixos, como é o caso. A velocidade desce até estabilizar e como se pode verificar a velocidade média é pouco superior à velocidade teórica.

Para o caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ (Figura 42), a velocidade oscila ao longo do canal devido a oscilações da pressão utilizada para injetar as bolhas. Como se pode verificar, a velocidade média é semelhante à velocidade teórica, mas ainda assim superior. Como esperado a velocidade média aumenta em relação ao caudal anterior.

Através da Figura 43 pode observar-se que a velocidade oscila ao longo do escoamento, diminuindo no final. A velocidade média é novamente um pouco superior à teórica, o que vai de encontro aos resultados anteriores.

Para o caudal mais alto (Figura 44), a velocidade média é superior à velocidade teórica, sendo neste caso um aumento mais acentuado do que nos caudais anteriores. Tal pode ser explicado devido à pressão utilizada, que por ser alta, leva a que a velocidade das bolhas aumente, uma vez que a sua velocidade resulta da soma das velocidades superficiais do gás e do líquido, como já foi referido anteriormente.

6.1.1.3 Frequência das bolhas

A frequência das bolhas foi obtida através da contagem do número de bolhas durante 5 minutos, no canal principal e nos dois ramos da bifurcação, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS:

$$\text{Frequência} = \frac{\text{número de bolhas}}{\text{tempo (s)}}$$

Foram analisados três vídeos para cada caudal, obtendo-se a seguinte tabela que contém o número de bolhas e correspondente frequência.

Tabela 7 - Frequência das bolhas no canal principal e nos dois ramos da bifurcação, utilizando um uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS.

Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Pressão (mbar)	Número de bolhas	Frequência
2	33	24	0.08
	33	25	0.08
	33	25	0.08
5	34	34	0.11
	34	35	0.12
	34	32	0.11
10	30	53	0.18
	30	43	0.14
	32	45	0.15
20	39	82	0.27
	39	82	0.27
	39	72	0.24

Como se pode ver na Tabela 7, com o aumento do caudal a frequência das bolhas é maior. Estes resultados eram os esperados, pois como já foi provado anteriormente, o aumento do caudal e da pressão leva ao aumento da velocidade das bolhas. Assim sendo, como se calculou a frequência das bolhas para diferentes caudais, para o mesmo período de tempo, o aumento do caudal e da pressão leva à formação de bolhas de menores dimensões, as quais apresentam velocidades maiores, passando em maior número durante os 5 minutos.

6.1.1.4 Tempo entre as bolhas

Para saber o tempo que decorre entre duas bolhas utilizou-se a ferramenta do ImageJ, *Plot z-axis profile*, que permite seleccionar uma determinada área do vídeo e obter um gráfico com as várias tonalidades dessa área ao longo do tempo. Desta forma, os gráficos obtidos apresentam vários picos, como se pode ver na Figura 45, que indicam pelo valor da tonalidade que há a passagem de uma bolha.

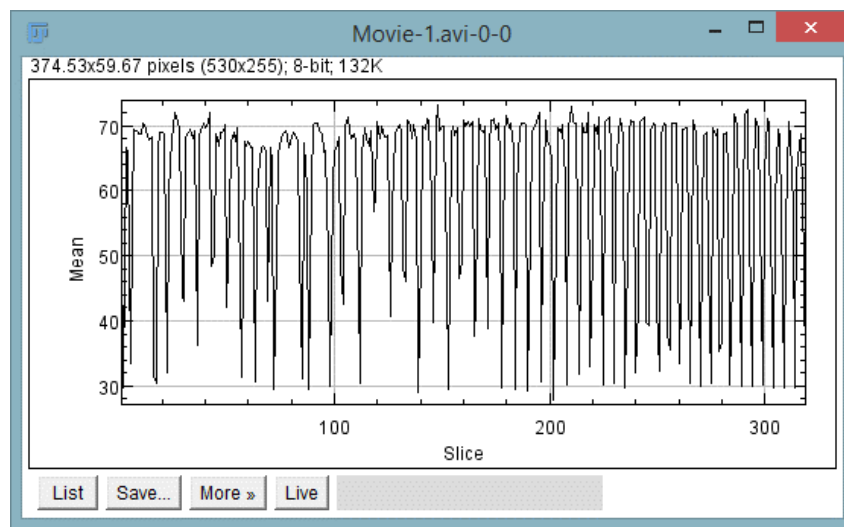


Figura 45 – Gráfico obtido no ImageJ para saber quando há passagem ou não de uma bolha.

Os vídeos utilizados neste estudo foram obtidos durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes nos microcanais com uma bifurcação, de forma a facilitar a visualização da passagem das bolhas, como se pode ver Figura 46.

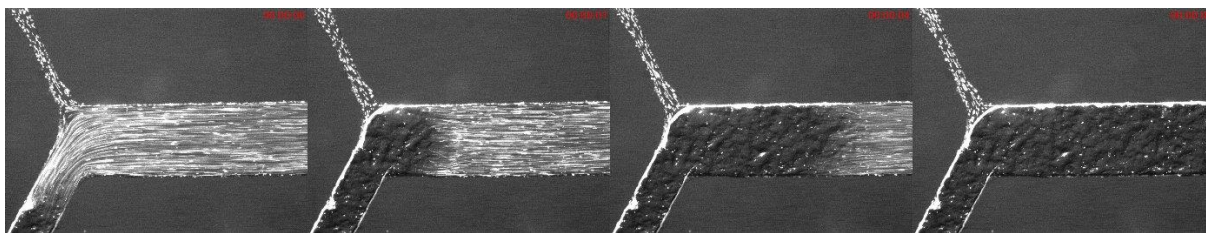


Figura 46 - Passagem das bolhas durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes nos microcanais com uma bifurcação.

Foi analisado um vídeo com um total de 24 bolhas, utilizando um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 33 mbar, para encontrar o tempo, em segundos, entre as bolhas e obteve-se o resultado representado na Figura 47. Para o caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 34 mbar, foi analisado um vídeo com um total de 35 bolhas (Figura 48).

Para o caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 30 mbar, foi analisado um vídeo com um total de 53 bolhas e o tempo entre as bolhas pode ser verificado no gráfico da Figura 49.

A Figura 50 apresenta o tempo entre as bolhas para o caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 39 mbar, onde foi analisado um vídeo com um total de 82 bolhas.

Analisando as Figuras 47 a 50 conclui-se que, o tempo entre bolhas diminui com o aumento do caudal, o que é normal, uma vez que o número de bolhas é maior. Tal acontece devido ao aumento do caudal e da pressão que provoca a formação de bolhas mais pequenas e o aumento da velocidade das mesmas. No geral, o tempo máximo entre duas bolhas diminui com o aumento do caudal.

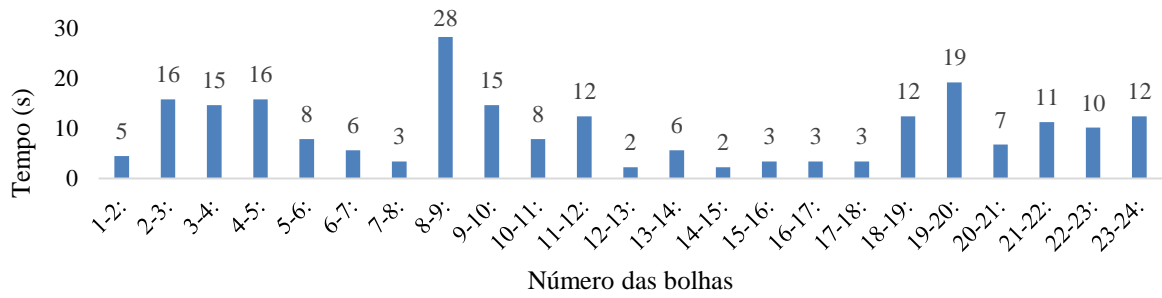


Figura 47 - Tempo que decorre entre as bolhas para o caudal de 2 µL/min, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes e microcanais com uma bifurcação.

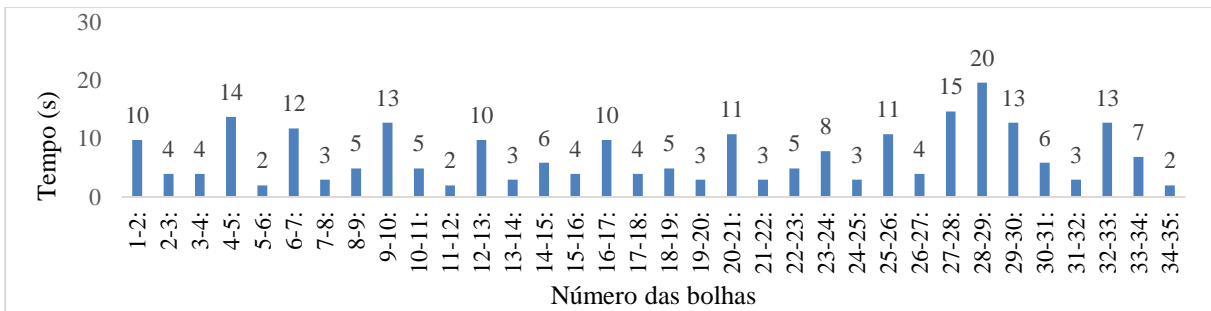
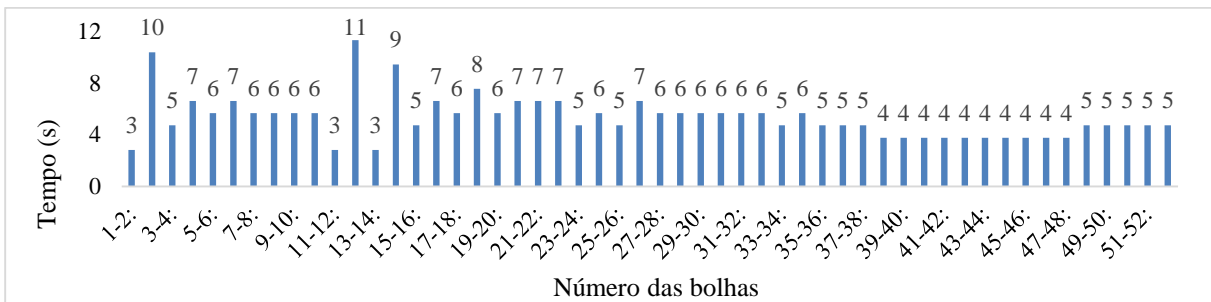


Figura 48 - Tempo que decorre entre as bolhas para o caudal de 5 µL/min, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS e partículas fluorescentes e microcanais com uma bifurcação.



6.1.1.5 Desvio padrão

Foi calculado o desvio padrão do tempo entre bolhas para todos os caudais, para o canal principal e para os dois ramos da bifurcação do microcanal. O desvio padrão pode ser calculado através da seguinte equação:

$$\text{Desvio padrão } (\sigma) = \sqrt{\frac{\sum (t_i - \bar{t})^2}{N}}$$

sendo \bar{t} o tempo total (5 minutos), t_i o tempo em que cada bolha passa e N o número total de bolhas. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Desvio padrão do tempo entre as bolhas durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS nos microcanais com uma bifurcação.

Desvio padrão (σ)				
Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Pressão (mbar)	Canal Principal	Ramo A	Ramo B
2	24	6.50	10.6	8.62
5	34	4.55	5.24	3.83
10	53	1.68	1.68	1.59
20	59	1.34	33.6	1.32

O canal principal e o ramo B apresentam desvios padrão semelhantes, uma vez que o tempo entre as bolhas também é semelhante. Para o caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$, o ramo A apresenta um desvio padrão elevado. Tal aconteceu porque o ramo entupiu durante quase todo o escoamento.

6.1.2 Experiências com sangue *in vitro*

Como já foi referido, realizaram-se experiências com amostras de sangue com 5 e 10% de Hct.

6.1.2.1 Velocidade das bolhas

Para a velocidade das bolhas são apresentados os resultados obtidos com as amostras de sangue com 10% de Hct. As velocidades teóricas são as mesmas que se obtiveram para o escoamento de fluidos Newtonianos, uma vez que se utilizaram microcanais com as mesmas dimensões.

As velocidades experimentais foram obtidas através da ferramenta *Manual Trackin*, do ImageJ.

Foram analisados três vídeos para o caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e para o caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. A Tabela 9 contém as velocidades teóricas (v_t) e a velocidade média experimental (v_{exp}) para todos os caudais e pressões utilizados.

Tabela 9 - Velocidade das bolhas, utilizando o microcanal com uma bifurcação e a amostra de sangue com 10% de Hct.

Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Pressão (mbar)	v_t (mm/s)	Média V_{exp} (mm/s)
2	36	0.56	1.72
2	32	0.56	1.97
2	34	0.56	1.19
10	48	2.78	1.64
10	54	2.78	2.73
10	59	2.78	2.62

Analisando a Tabela 9, as pressões utilizadas foram maiores que as utilizadas no escoamento da solução aquosa de Dextrano 40, como se pode ver na Tabela 6, provavelmente porque utilizando as amostras do sangue, a viscosidade do fluido é maior e a pressão utilizada para

injetar as bolhas tem que ser maior. Devido ao aumento da viscosidade do fluido a velocidade do mesmo diminui, o que explica as velocidades das bolhas serem menores durante o escoamento das amostras de sangue com 10% de Hct quando comparadas com as velocidades obtidas com a solução aquosa de Dextrano 40 (Tabela 6).

As Figuras 51, 52 e 53 correspondem aos gráficos obtidos para a velocidade das bolhas para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$. Analisando essas figuras e a Tabela 9, é possível verificar que a velocidade ao longo do canal não tem grandes oscilações, sendo que é, no geral, muito próxima da velocidade média. A velocidade ao longo do canal é superior à velocidade teórica, tal como o esperado, uma vez que a velocidade da bolha corresponde ao somatório da velocidade do fluido e do gás. No entanto, existe uma grande diferença entre a velocidade teórica e a velocidade do gás, uma vez que é complicado estabilizar a pressão (utilizando-se pressões mais elevadas) quando utilizado este fluido nos microcanais obtidos por xurografia, a um caudal tão baixo.

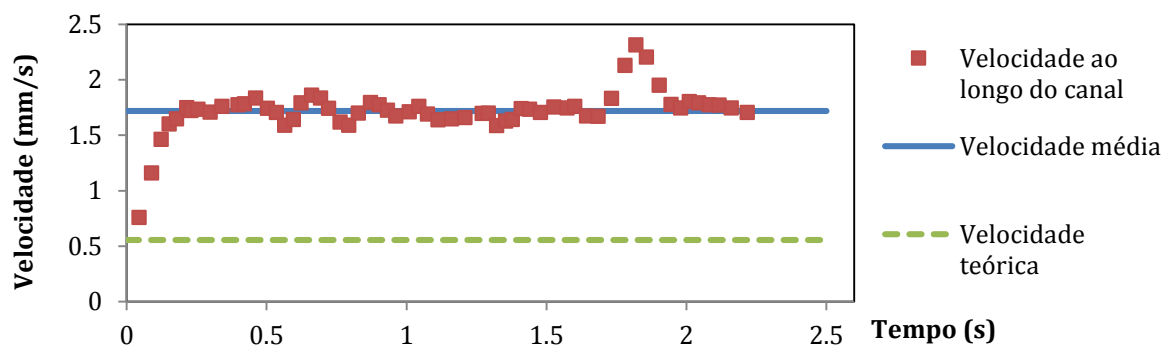


Figura 51 - Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 36 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

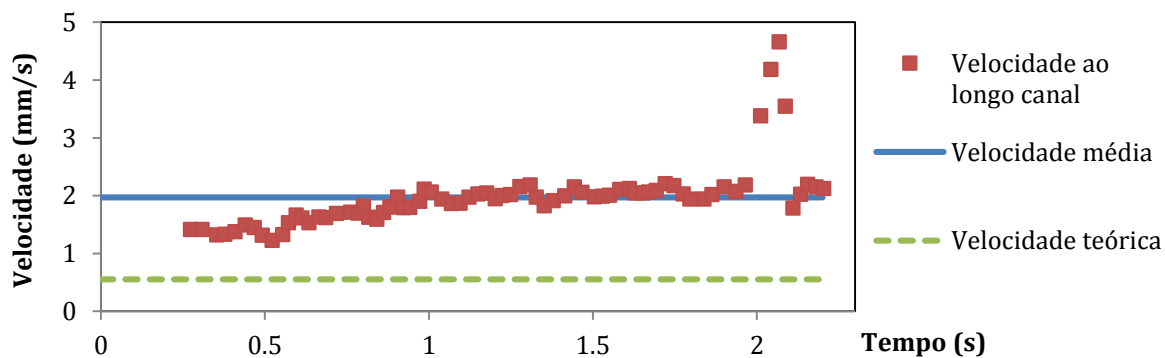


Figura 52 - Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 32 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

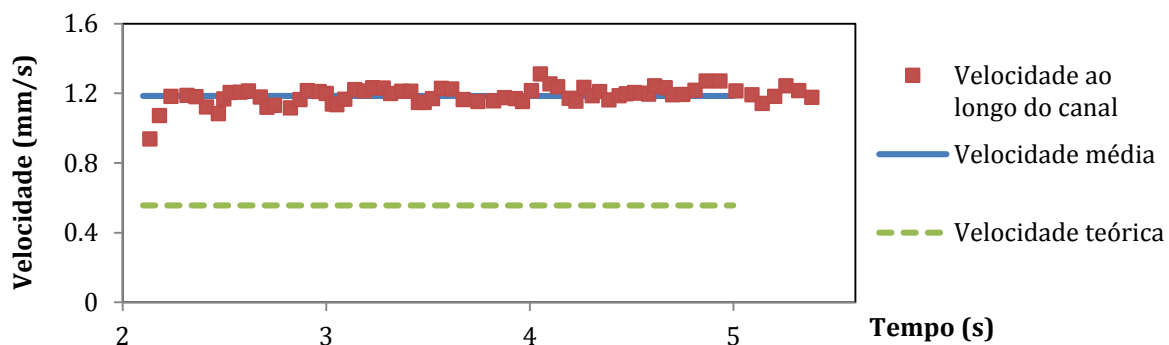


Figura 53 - Velocidade obtida para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 34 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

As Figuras 54, 55 e 56 apresentam os resultados obtidos para as velocidades das bolhas para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e diferentes pressões durante o escoamento no microcanal com uma bifurcação e utilizando uma amostra de sangue com 10% de Hct. Nas figuras é possível verificar que as velocidades ao longo do microcanal não têm grandes oscilações, sendo muito próximas da velocidade média, mas o último gráfico tem um pico nas velocidades causado pelo desentupimento de um dos ramos da bifurcação.

Na Figura 54 a velocidade média é inferior à velocidade teórica. Mas nos restantes gráficos a velocidade ao longo do microcanal é semelhante à velocidade teórica, mas sempre superior, uma vez que a velocidade das bolhas corresponde ao somatório da velocidade do fluido e do gás, como já foi referido.

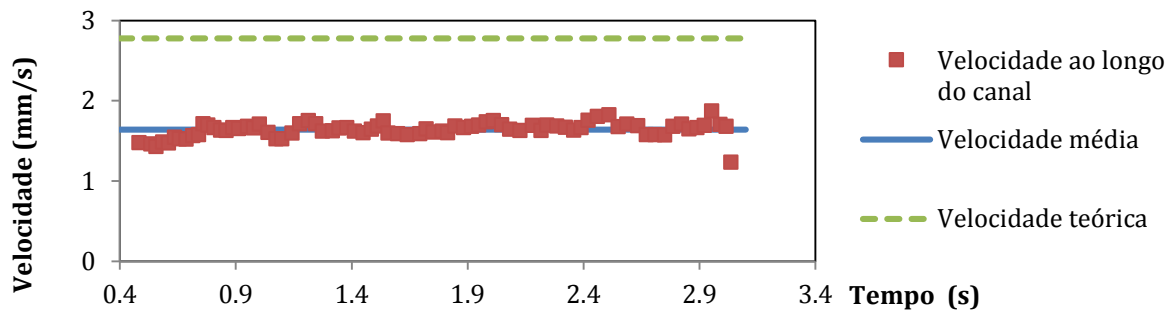


Figura 54 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 48 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

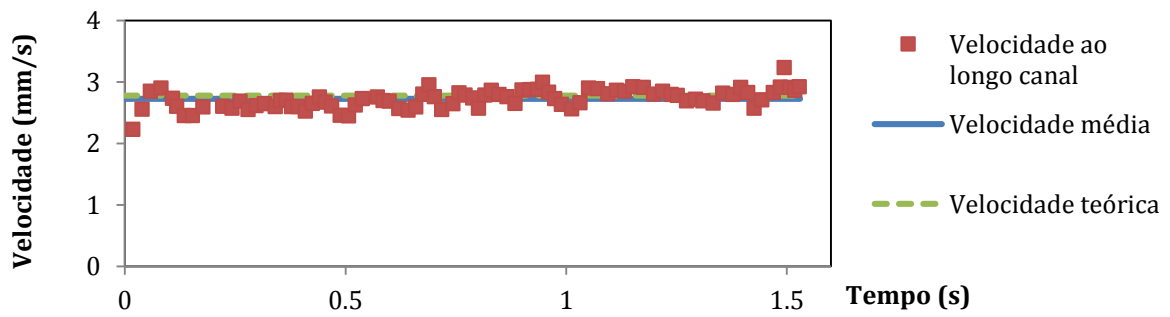


Figura 55 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 54 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

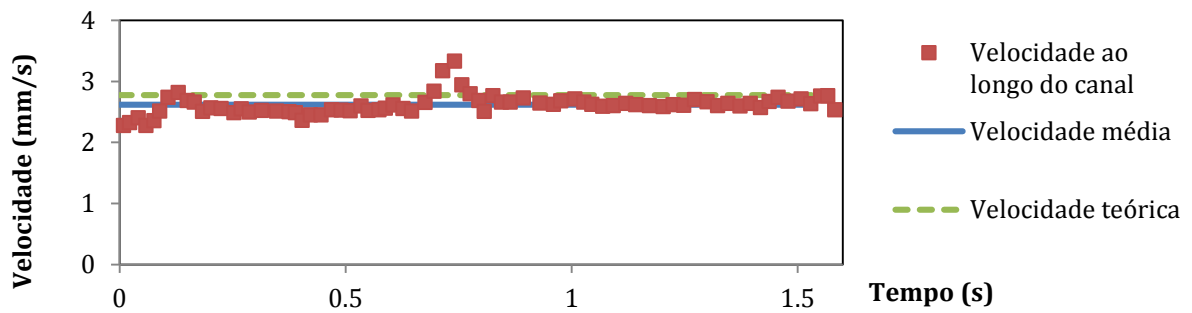


Figura 56 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 59 mbar, utilizando um microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

6.1.2.2 Passagem das bolhas nas bifurcações

Foram analisados vídeos da passagem das bolhas nas bifurcações, para vários caudais e pressões diferentes, utilizando o microcanal com uma bifurcação e uma amostra de sangue *in vitro* com 10% de Hct.

A Figura 57 apresenta uma sequência de imagens da bolha a passar na bifurcação utilizando um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 39 mbar. Ao analisar as imagens é possível observar uma diminuição da quantidade de células quando a bolha passa e uma camada de plasma no centro do microcanal à frente da bolha. A bolha apenas passa pelo ramo esquerdo da bifurcação, sendo que no ramo direito, que está entupido, é possível observar as células em recirculação.

A passagem das bolhas na bifurcação também foi analisada para o caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e para a pressão de 28 mbar (Figura 58). Nas imagens é possível observar a camada de plasma no centro do microcanal à frente da bolha, tal como Bento et al. [84] descreveram no estudo que realizaram sobre o efeito das bolhas na camada livre de células. A bolha apenas passa pelo ramo esquerdo da bifurcação, sendo que no ramo direito é possível observar uma acumulação de células.

A Figura 59 apresenta os resultados obtidos utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 56 mbar. É possível verificar que o ramo esquerdo está entupido com uma bolha de ar, sendo que a bolha analisada apenas passa pelo ramo direito.

Na Figura 60 é possível observar a passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 78 mbar. Tal como para o caudal anterior um dos ramos está entupido, fazendo com que a bolha apenas passe pelo ramo esquerdo.

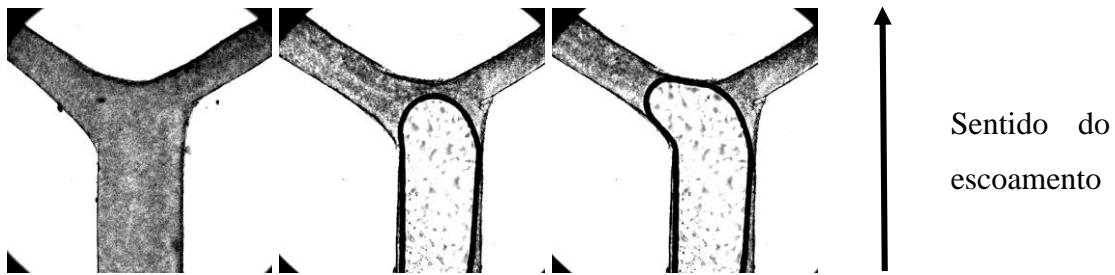


Figura 57 – Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 39 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.

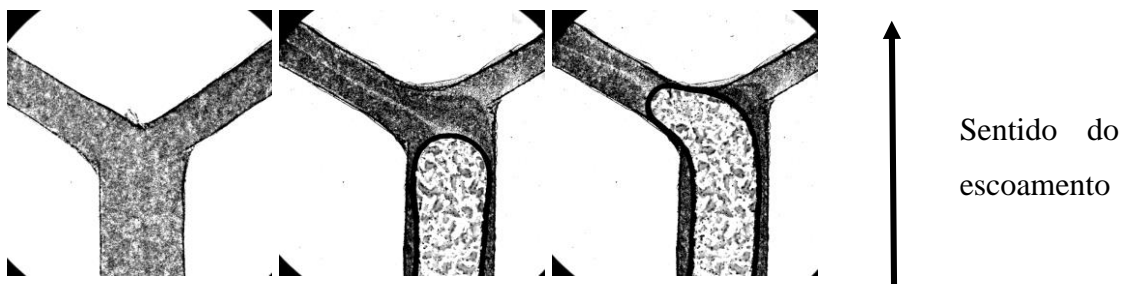


Figura 58 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 28 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.

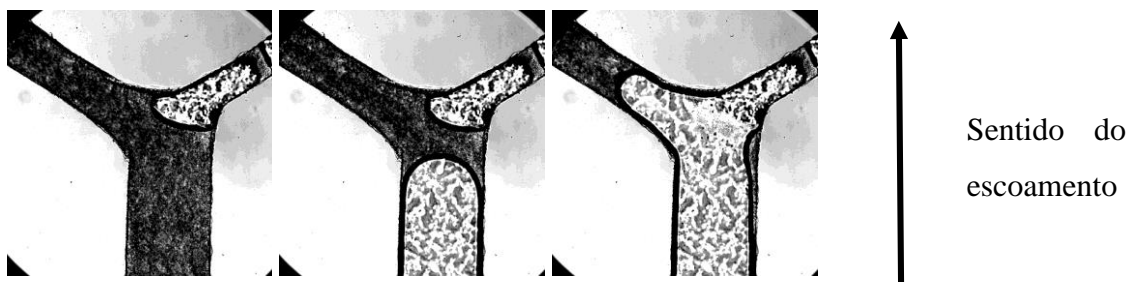


Figura 59 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 56 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.

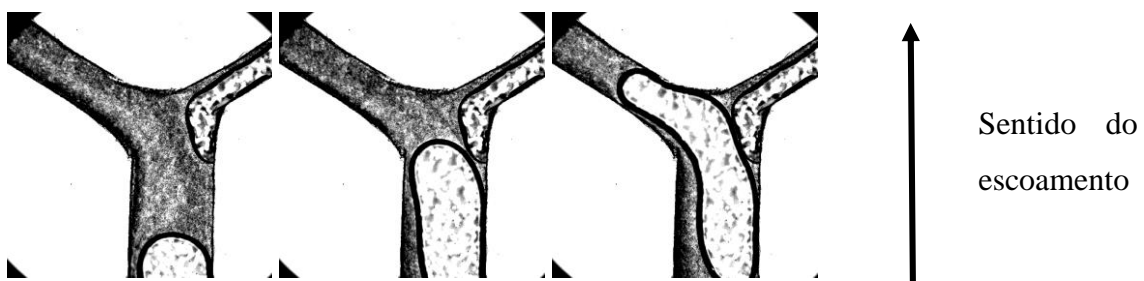


Figura 60 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 78 mbar, durante o escoamento de sangue com 10% de Hct num microcanal com uma bifurcação.

Para os caudais 10 e 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ também foram analisadas a passagem das bolhas durante o escoamento de uma amostra de sangue com 5% de Hct.

As Figuras 61 e 62 apresentam a passagem das bolhas na bifurcação utilizando uma amostra de sangue com 5% de Hct. Para o caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 41 mbar foram obtidos os resultados apresentados na Figura 61. A Figura 62 diz respeito aos resultados obtidos para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 50 mbar.

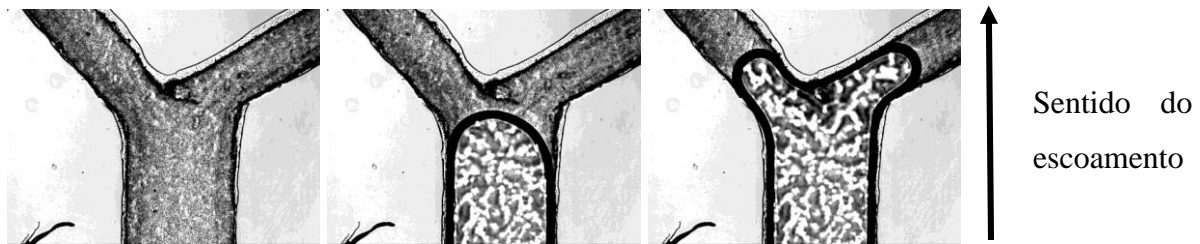


Figura 61 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 41 mbar, durante o escoamento de sangue com 5% de Hct num microcanal com uma bifurcação.

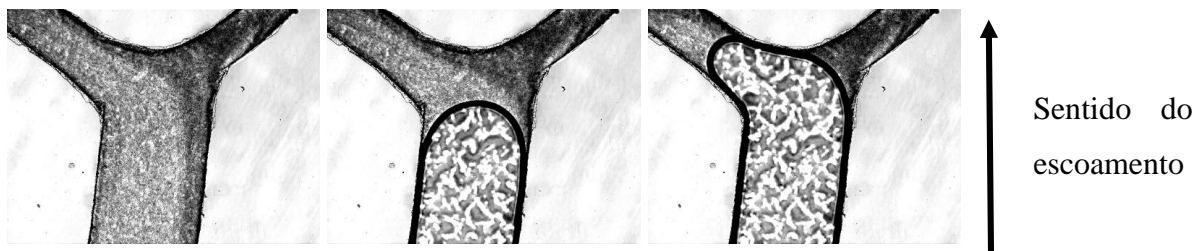


Figura 62 - Passagem de uma bolha na bifurcação utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 50 mbar, durante o escoamento de sangue com 5% de Hct num microcanal com uma bifurcação.

Nas duas figuras anteriores os dois ramos da bifurcação estão desentupidos, levando a que a bolha se divida em duas, passando uma por cada ramo.

Comparando as Figuras 59 e 61, obtidas para o mesmo caudal, verifica-se que com a diminuição de hematócrito a pressão necessária para injetar as bolhas também é menor. Tal acontece porque com a diminuição do Hct a viscosidade diminui, sendo necessário uma pressão mais baixa. O mesmo também se verificou para as Figuras 60 e 62.

6.2 Bifurcações sucessivas

Nesta secção são analisados os resultados obtidos com os microcanais com bifurcações sucessivas, cujo molde foi obtido por fotolitografia. Foram determinadas as características do escoamento, variando o fluido utilizado, e utilizando caudais e pressões diferentes. O estudo focou-se nas seguintes características do escoamento: formação das bolhas e a sua velocidade, a quantidade de bolhas, as pressões que provocam o entupimento dos microcanais e a influência das bolhas no hematócrito.

A Figura 63 apresenta a geometria deste canal e as respectivas dimensões da largura do microcanal.

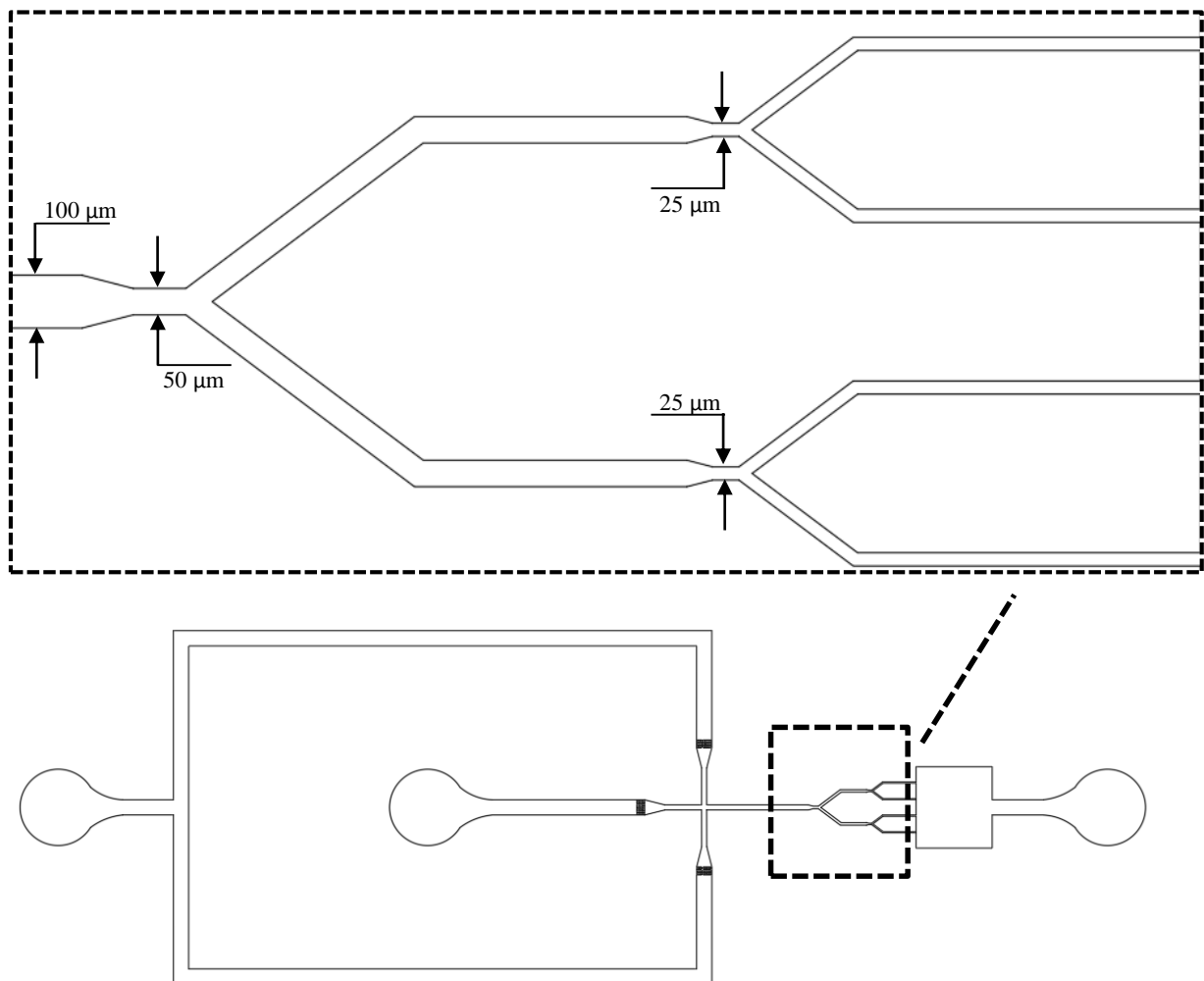


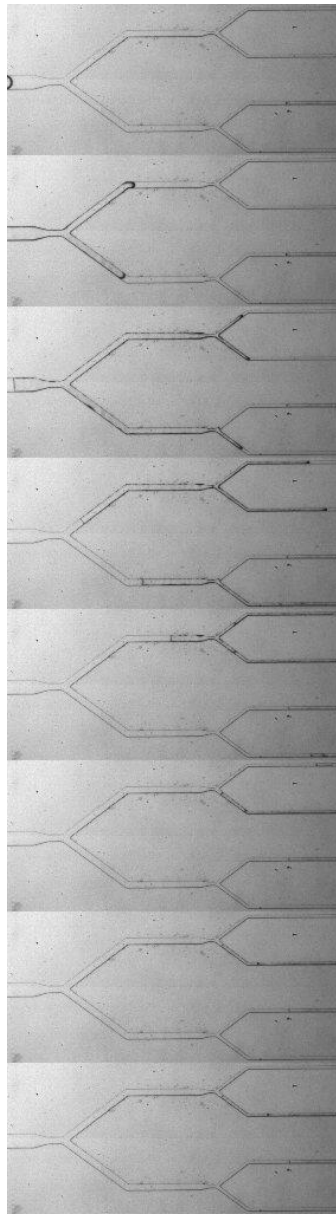
Figura 63 - Geometria do microcanal com bifurcações sucessivas.

6.2.1 *Fluidos Newtonianos*

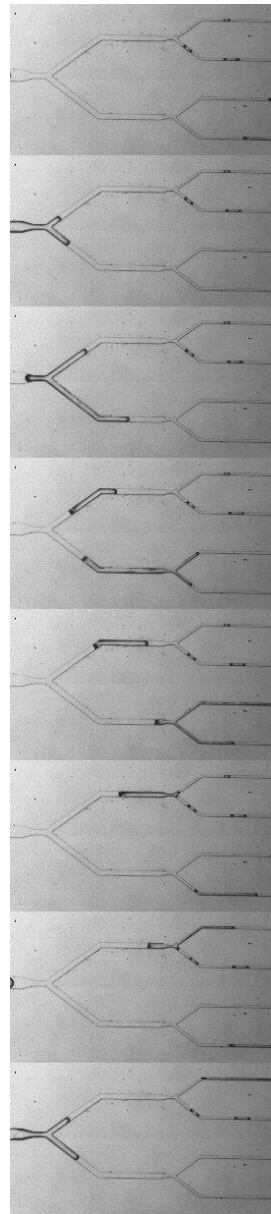
Estes resultados são os obtidos com o escoamento de soluções aquosas de Dextrano 40 com SDS, uma vez que o Dextrano 40 é o fluido base utilizado nas amostras de sangue com 5 e 10% de Hct.

6.2.1.1 Visão geral dos escoamentos

Na Figura 64 (A) está representado o escoamento para um caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 72 mbar e o escoamento para um caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 184 mbar está representado na Figura 64 (B).



(A)



(B)

Figura 64 – Visão geral do escoamento num microcanal com bifurcações sucessivas, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS: A) caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 72 mbar; B) caudal de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 184 mbar.

Nos dois casos verifica-se que quando um dos ramos está entupido, a bolha passa pelo outro ramo e a uma velocidade maior.

Na Figura 65 (A) pode-se verificar o escoamento para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar e o escoamento para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 350 mbar está representado na Figura 65 (B).

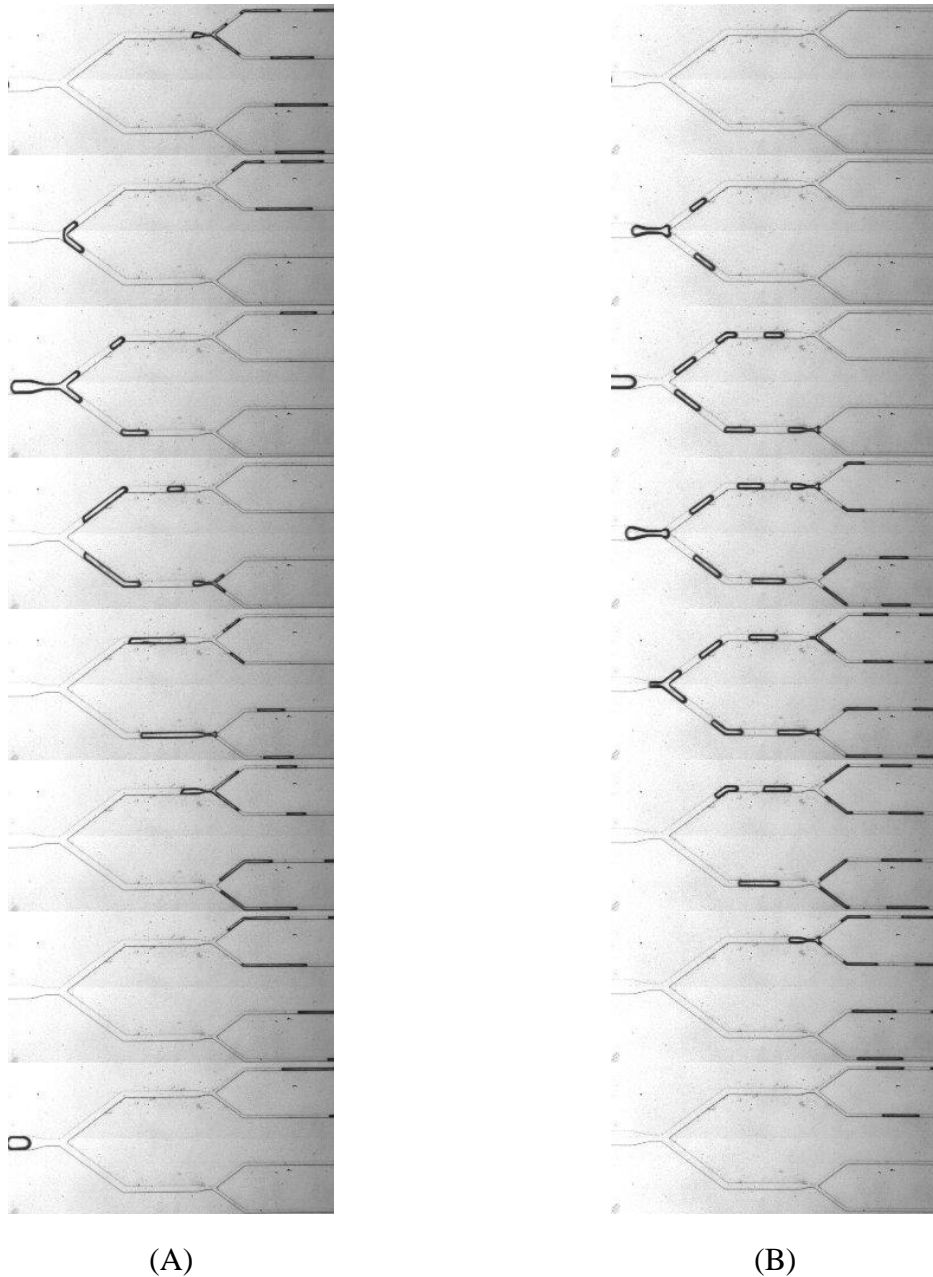


Figura 65 - Visão geral do escoamento num microcanal com bifurcações sucessivas, utilizando uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS: A) caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 220 mbar; B) caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 350 mbar.

Nas duas imagens da Figura 65 é possível verificar que as bolhas passam por todos os ramos, no entanto, por vezes, passam a uma velocidade superior por um dos ramos e apresentam maiores dimensões. Isto acontece uma vez que as bolhas anteriores influenciam as bolhas seguintes. Assim, quando as bolhas estão a passar por um dos ramos da bifurcação, ocorre uma queda da pressão nesse ramo, fazendo com o caudal aumente no outro ramo e conseqüentemente as bolhas passem mais rápido e com dimensões superiores no outro ramo.

6.2.1.2 Quantidade de bolhas

Foram analisados quatro vídeos e contadas as bolhas que passam em todos os ramos, para o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS num microcanal com bifurcações sucessivas. Os ramos em estudo estão indicados na Figura 66.

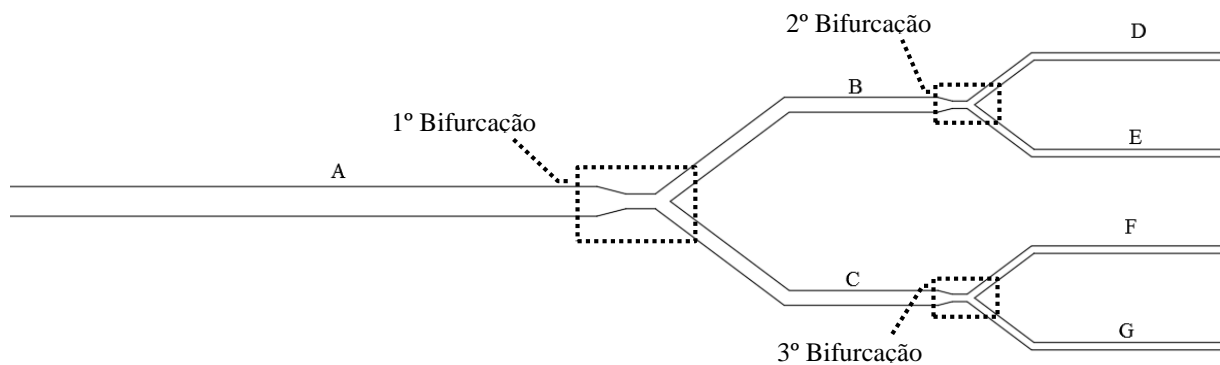


Figura 66 – Ramos estudados.

Na Tabela 10 são apresentados os resultados para a contagem de bolhas, para diferentes caudais e pressões.

Tabela 10 – Número de bolhas durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS num microcanal com bifurcações sucessivas.

<i>Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)</i>	<i>Pressão (mbar)</i>	<i>Número de bolhas em cada ramo</i>							
		A	B	C	D	E	F	G	
2	72	1	1	1	0	1	1	1	
5	133	2	2	2	2	2	2	2	
10	340	23	22	21	21	22	21	21	
20	350	30	30	30	30	30	30	30	

Tal como era esperado, com o aumento do caudal e da pressão, o número de bolhas também aumenta. No geral, as bolhas de ar passam em igual quantidade em todos os ramos, no entanto

nalguns ramos, como por exemplo o ramo D, para o caudal de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$, não passa nenhuma bolha uma vez que este ramo está entupido.

6.2.1.3 Entupimento dos microcanais

Estudaram-se as pressões máximas e mínimas que podem ser utilizadas para que o escoamento ocorra normalmente, sem entupimentos, tal como se pode verificar na Tabela 11.

Tabela 11 - Pressões que provocam o entupimento dos microcanais no escoamento de um fluido análogo ao sangue.

Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Entope
2	Entope para todas as pressões
5	Entope para todas as pressões
10	P < 150 mbar;
20	P < 350 mbar;

Como se pode verificar na Tabela 11, as pressões utilizadas no escoamento utilizando microcanais com bifurcações sucessivas (com uma largura de 100 μm) são muito superiores às pressões utilizadas com os microcanais com uma bifurcação (com largura de 600 μm). Isto acontece porque a área da secção reta do microcanal com bifurcações sucessivas é menor, levando a que a velocidade do fluido aumente, sendo necessário aumentar a pressão para conseguir injetar as bolhas de ar. Para os caudais de 2 e 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ os microcanais entupiram independentemente da pressão utilizada, uma vez que para caudais tão baixos as bolhas não conseguem escoar pelos dois ramos da bifurcação, acabando por entupir um dos ramos.

6.2.1.4 Ciclos

Para o caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$, a uma pressão elevada, cerca de 360 mbar, verificou-se que as bolhas circulavam por um dos ramos da bifurcação ou por ambos, alternando a sua passagem e fazendo um ciclo, como se pode verificar na Figura 67.

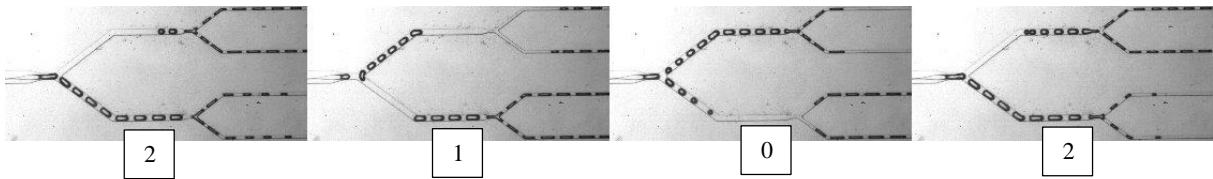


Figura 67 - Passagem das bolhas por um dos ramos, ou por ambos, alternadamente, durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS num microcanal com bifurcações sucessivas.

Os ciclos foram analisados e classificam-se as bolhas de acordo com o percurso que estas seguem: atribui-se o valor 1 às bolhas que passam no ramo superior, o valor 2 às bolhas que passam no ramo inferior e o valor 0 às bolhas que se dividem pelos dois ramos, como se pode ver na Figura 67. Seguindo este procedimento foi obtida a Figura 68.

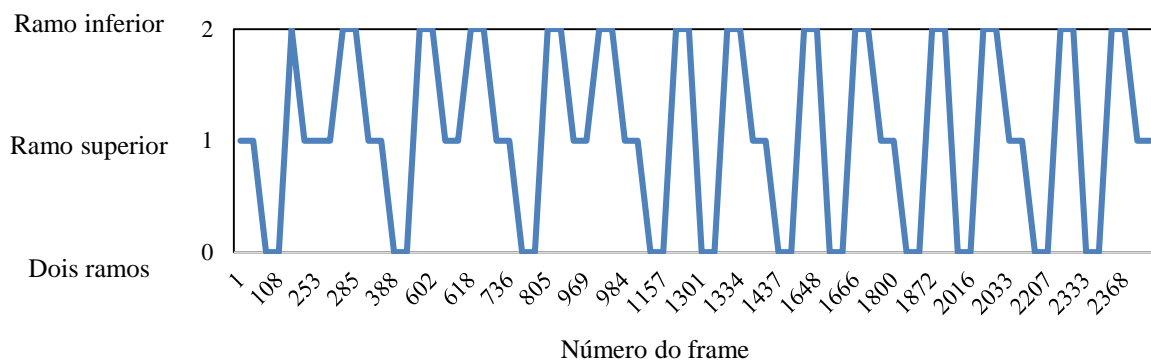


Figura 68 – Ciclos obtidos para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 360 mbar, durante o escoamento de uma solução aquosa de Dextrano 40 com SDS num microcanal com bifurcações sucessivas.

Como se pode na Figura 68, as bolhas seguem um padrão, mas no entanto há algumas variações. Com as Figuras 67 e 68 é possível explicar melhor a influência que as bolhas exercem entre si durante o escoamento. Quando as bolhas estão a passar por um dos ramos da bifurcação a queda da pressão nesse ramo aumenta, fazendo com que o escoamento passe maioritariamente pelo outro ramo. Como consequência as bolhas começam a passar pelo outro ramo. Este fenómeno repete-se ciclicamente.

6.2.2 *Experiências in vitro com sangue*

6.2.2.1 Visão geral dos escoamentos

Foram analisados os escoamentos para os caudais de 10 e 20 $\mu\text{L}/\text{min}$, utilizando uma amostra de sangue com 10% de Hct. A Figura 69 (A) apresenta uma visão geral para o escoamento na primeira bifurcação e a Figura 69 (B) apresenta uma visão geral para o escoamento na segunda bifurcação, usando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e a uma pressão de 220 mbar. A terceira bifurcação não é apresentada uma vez que é igual à segunda bifurcação.

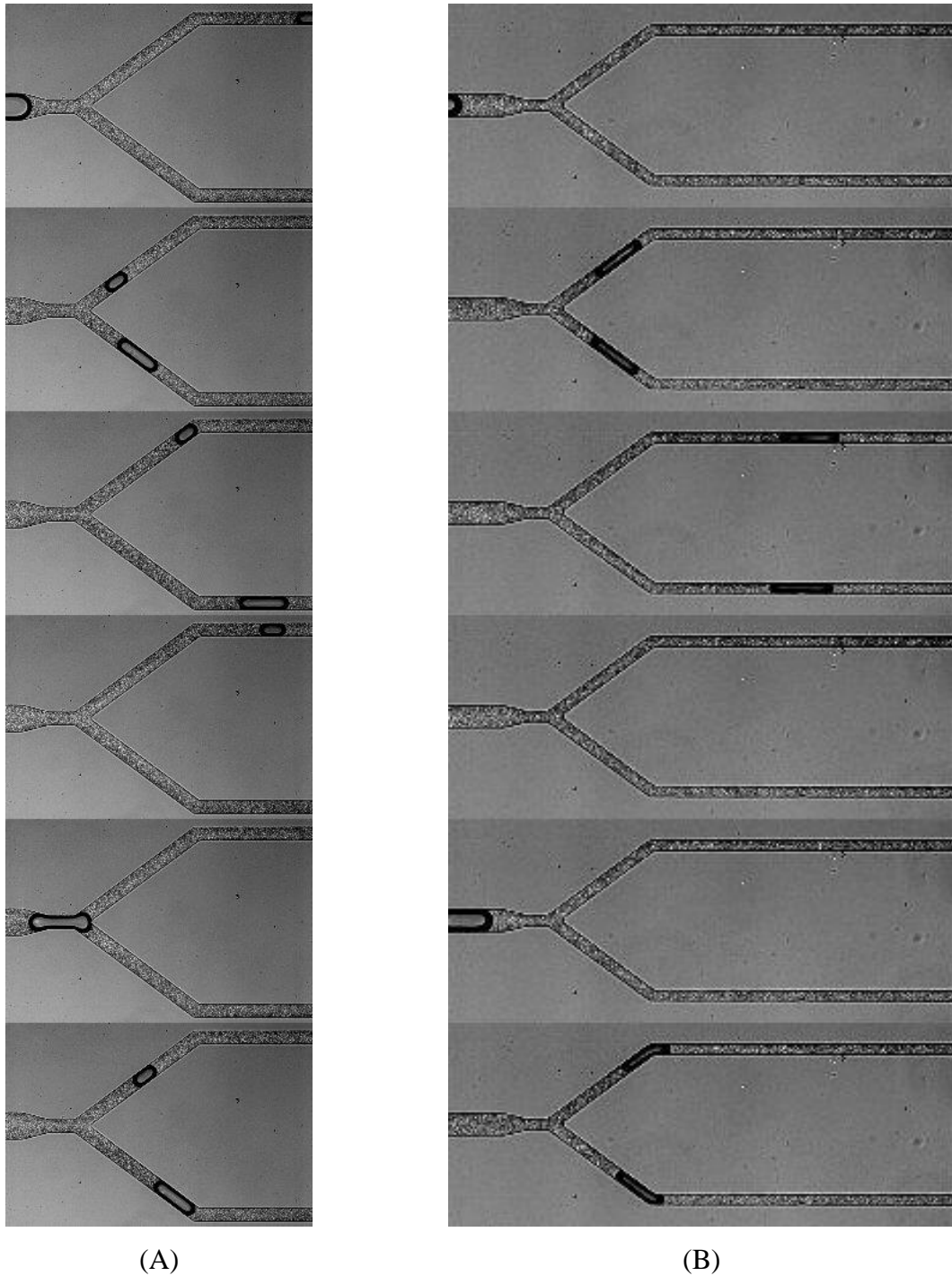
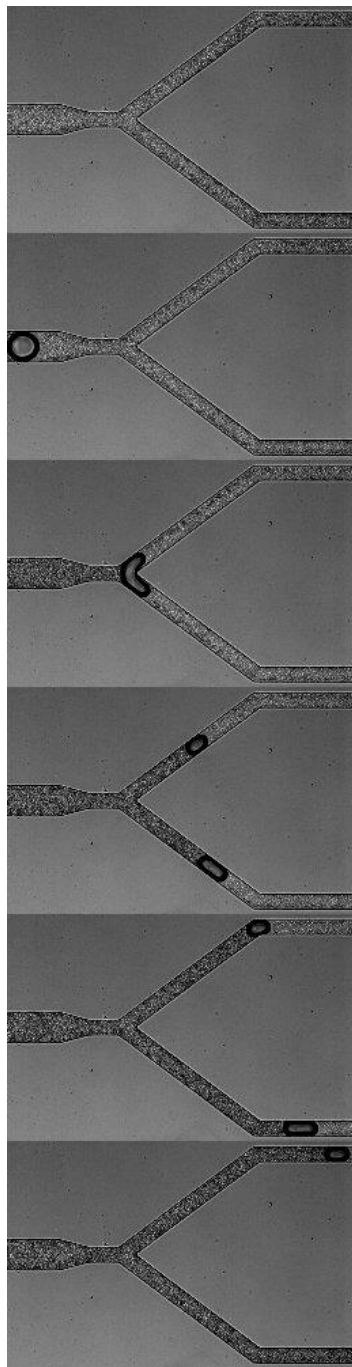
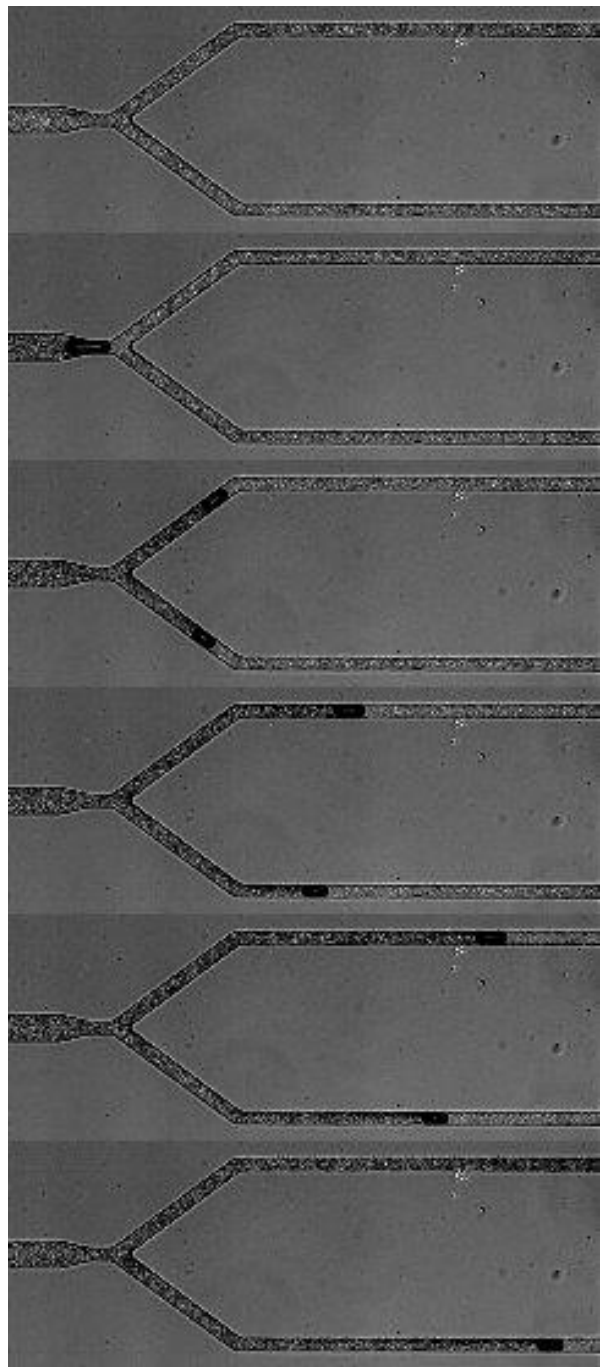


Figura 69 – Escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar: A) Primeira bifurcação; B) Segunda/terceira bifurcação.

A Figura 70 (A) apresenta uma visão geral para o escoamento na primeira bifurcação e a Figura 70 (B) apresenta uma visão geral para o escoamento na segunda bifurcação, para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e a uma pressão de 320 mbar.



(A)



(B)

Figura 70 - Escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 320 mbar: A) Primeira bifurcação; B) Segunda/terceira bifurcação.

Analisando as Figuras 69 e 70, para os dois caudais verifica-se que as bolhas passam por todas os ramos das bifurcações, uma vez que nenhum dos ramos está entupido. Mas algumas bolhas quando se dividem nas bifurcações atingem dimensões e velocidades superiores num dos ramos. Este fenómeno está relacionado com a influência que as bolhas têm no escoamento das bolhas que passam posteriormente. Quando uma bolha ainda está a passar por um dos ramos, a queda de pressão nesse ramo aumenta e o fluido começa a passar maioritariamente pelo outro ramo, fazendo com que a bolha seguinte passe mais rápido pelo ramo de menor queda de pressão.

6.2.2.2 Entupimento dos microcanais

Estudaram-se as pressões mínimas e máximas que podem ser utilizadas para que os ramos não fiquem entupidos, para os caudais de 10 e 20 $\mu\text{L}/\text{min}$, restando os resultados registados na Tabela 12.

Tabela 12 - Pressões que provocam o entupimento dos microcanais com bifurcações sucessivas, quando utilizadas amostras de sangue com 10% de Hct.

Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Entope
10	P < 220 mbar; P > 236 mbar;
20	P < 310 mbar; P > 340 mbar;

Com a utilização das amostras de sangue com 10% de Hct foi complicado conseguir estabilizar as pressões utilizadas para injetar as bolhas de ar, uma vez que com pequenas mudanças na pressão, as bolhas não escoavam ou então entupiam os microcanais.

6.2.2.3 Efeito das bolhas na quantidade de células

Ao analisar alguns vídeos foi possível observar que as bolhas exerciam um efeito na quantidade de células durante escoamento das amostras de sangue com 10% de Hct. Este efeito pode ser observado na Figura 71, para um escoamento com um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 310 mbar.

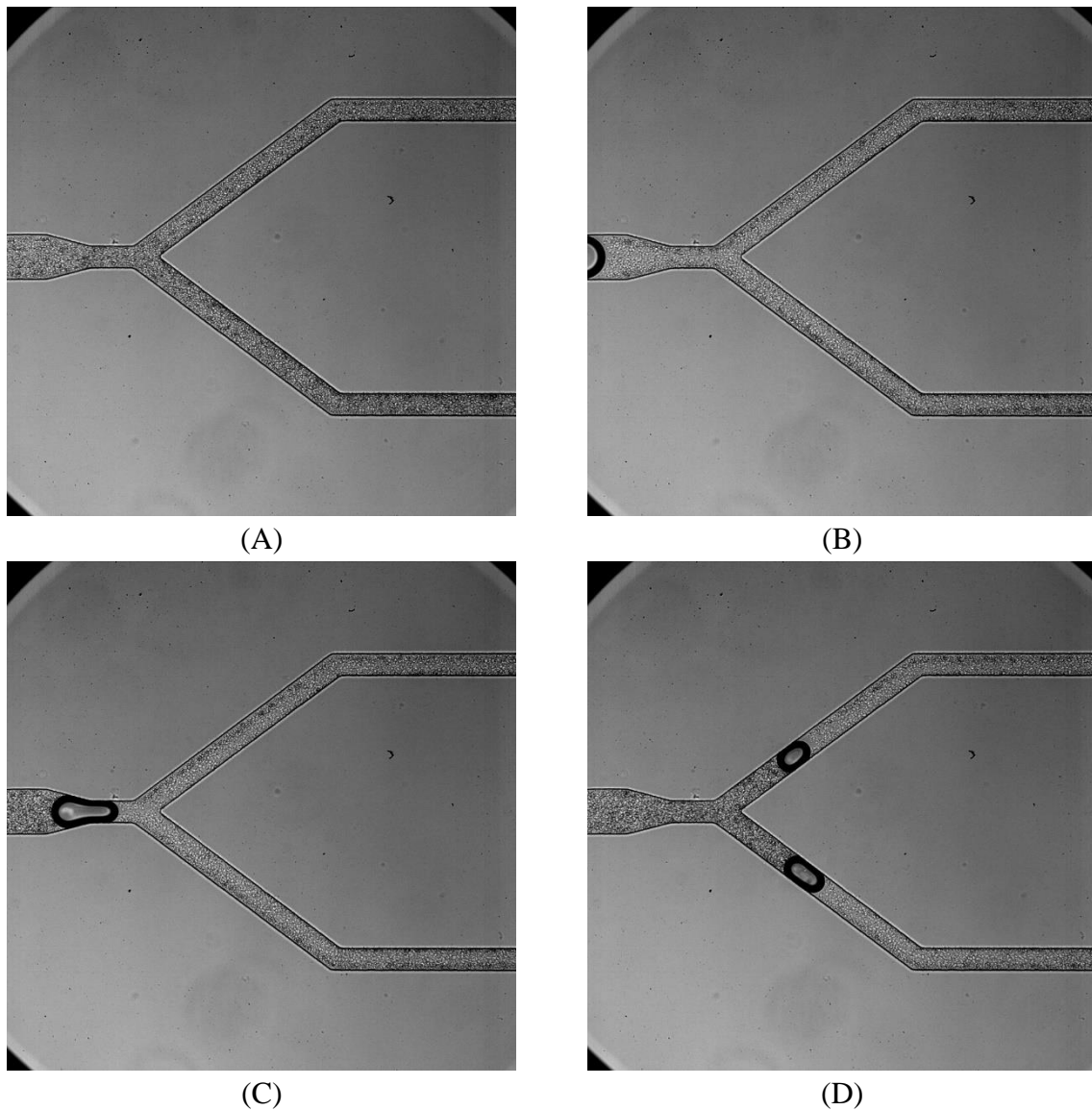


Figura 71 - Efeito das bolhas na quantidade de células, durante o escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal com bifurcações sucessivas.

Ao analisar a Figura 71 é possível verificar que inicialmente (imagem A) o fluido tem a mesma tonalidade ao longo de todo o canal. Nas imagens B e C verifica-se que a bolha provoca uma diminuição do hematócrito no fluido à sua frente. Na imagem D consegue-se observar que a quantidade de células antes das bolhas de ar é muito superior.

Na Figura 72, que apresenta uma sequência de imagens captadas durante a injeção das bolhas, é possível observar o mesmo efeito.

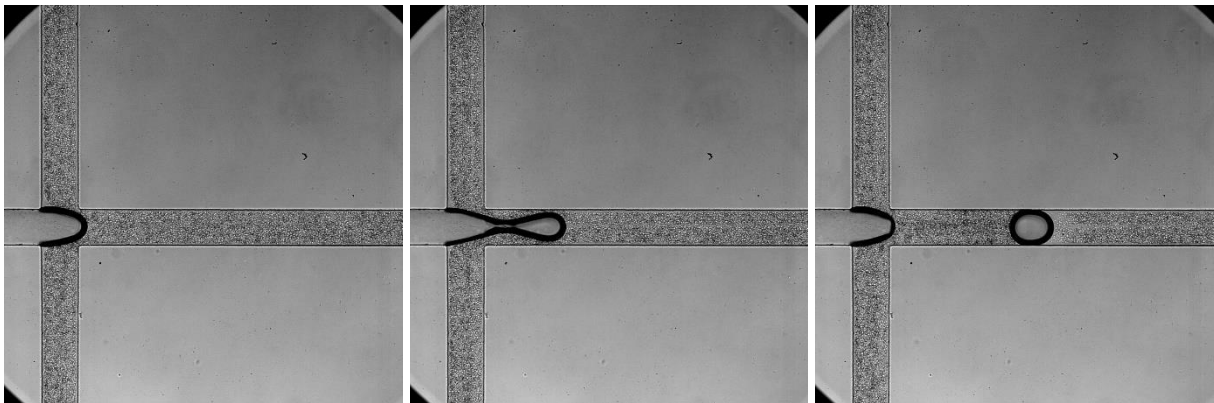


Figura 72 - Efeito das bolhas na quantidade de células durante a injeção das mesmas.

Utilizou-se a ferramenta *Plot z-axis profile* do ImageJ para analisar melhor o efeito das bolhas no hematócrito. Selecionou-se uma área do vídeo obtido durante o escoamento e obteve-se um gráfico que apresenta as tonalidades dessa área ao longo do escoamento.

A Figura 73 mostra o gráfico obtido para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 310 mbar.

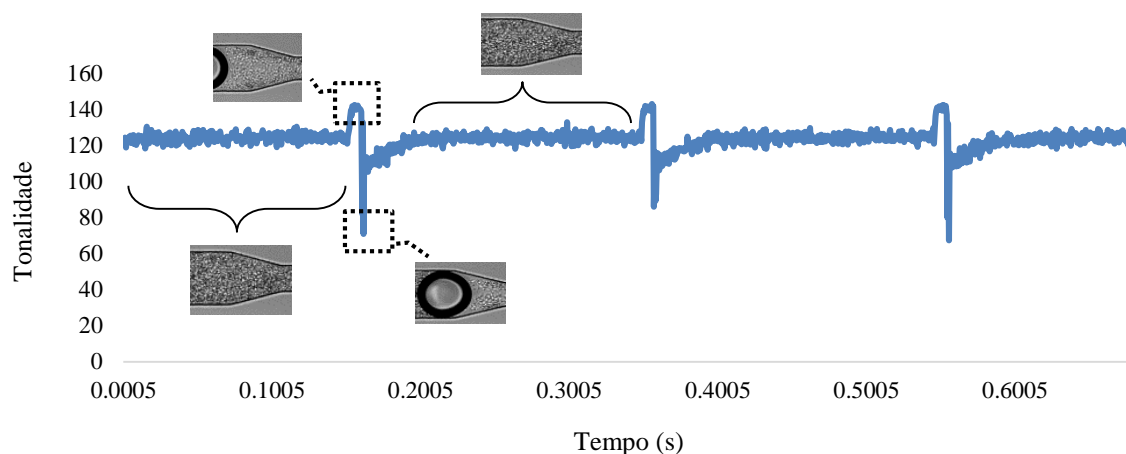


Figura 73 – Efeito das bolhas no hematócrito utilizando um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 310 mbar, durante um escoamento de uma amostra de sangue com 10% de Hct num microcanal com bifurcações sucessivas.

Analisando a Figura 73, é possível verificar que inicialmente a tonalidade é constante, indicando que a bolha não está a afetar o hematócrito. Também apresenta um pico máximo que corresponde à diminuição de hematócrito, seguido de um pico mínimo que corresponde à passagem de uma bolha. Posteriormente, o valor da tonalidade vai subindo até estabilizar. Assim sendo, é possível concluir que o hematócrito mantém-se constante, mas quando uma bolha se aproxima o hematócrito diminui e depois de a bolha passar o hematócrito vai subindo até estabilizar. Tal repete-se para todas as bolhas que passam durante um determinado tempo.

Também se analisou um vídeo obtido durante um escoamento utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar, obtendo-se a Figura 74.

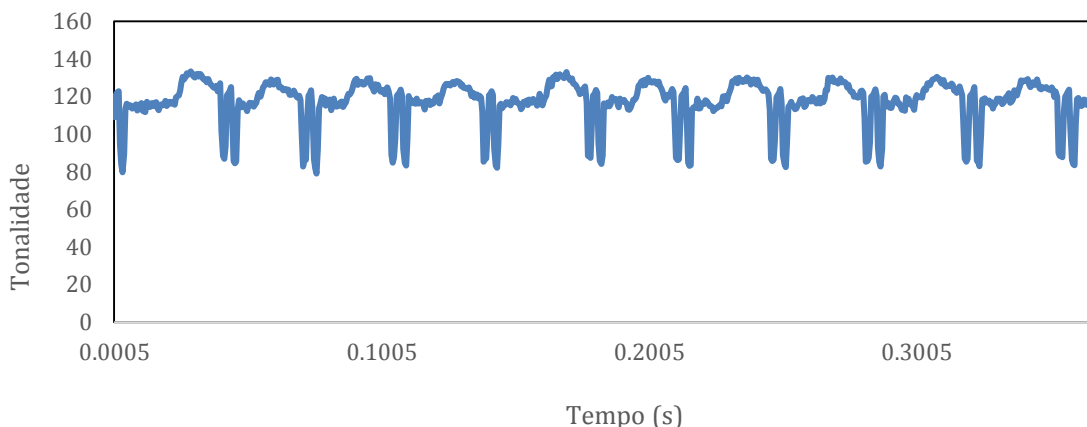


Figura 74 - Efeito das bolhas no hematócrito utilizando um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar.

Como se pode observar na figura anterior, a tonalidade não estabiliza em nenhum momento do escoamento. Tal acontece devido ao elevado número de bolhas que passam durante o escoamento, fazendo com que mesmo depois de a bolha passar, o hematócrito já esteja a ser afetado pela bolha seguinte.

6.2.2.4 Velocidade das bolhas

Estudou-se uma vez mais a velocidade das bolhas e como certos parâmetros interferem a mesma, nomeadamente o hematócrito utilizado no escoamento. A velocidade experimental foi obtida uma vez mais pela ferramenta *Manual Tracking* do ImageJ.

A velocidade teórica do fluido foi obtida da mesma forma, mas a área da secção reta do microcanal utilizado é de 0.005 mm^2 .

A Tabela 13 contém a velocidade teórica (v_t) e a velocidade média experimental (v_{exp}) para os caudais de 10 e 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e para as diferentes amostras utilizadas no escoamento (amostras de sangue com 5 e 10% de Hct) nos microcanais com bifurcações sucessivas.

Tabela 13 - Velocidade das bolhas, utilizando amostra de sangue com 5 e 10% de Hct nos microcanais com bifurcações sucessivas.

Caudal ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Pressão (mbar)	Hct	v_t (mm/s)	Média da v_{exp} (mm/s)
10	220	5%	33.3	43.1
	220	10%	33.3	40.3
20	340	5%	66.7	85.4
	310	10%	66.7	75.8

A Tabela 13 mostra que as velocidades das bolhas obtidas durante o escoamento utilizando microcanais com bifurcações sucessivas, é muito superior às velocidades das bolhas obtidas nos microcanais com uma bifurcação (Tabelas 6 e 9). A diminuição da largura dos microcanais (de 600 para 100 μm) provocou um aumento da velocidade do fluido, o que leva a um aumento da pressão necessária para injetar as bolhas de ar e, conseqüentemente, a um aumento da velocidade das bolhas, uma vez que a mesma corresponde ao somatório das velocidades do gás e do líquido.

Na Tabela 13 pode ainda ver-se que a média das velocidades experimentais, para o caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e pressão de 340 mbar, é muito superior à velocidade teórica devido à pressão elevada que se utilizou para a injeção das bolhas.

Para o caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar foram analisadas a velocidade das bolhas no escoamento de amostras de sangue com 5 e 10% de Hct como se pode verificar nas seguintes figuras. A Figura 75 apresenta os resultados obtidos para o hematócrito de 5%.

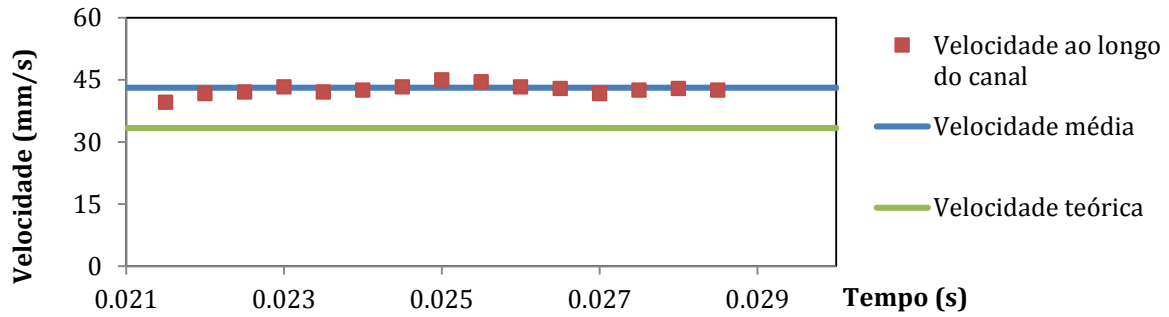


Figura 75 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 5% de Hct.

Na Figura 76 pode-se verificar a velocidade da bolha para uma amostra de sangue com Hct de 10%.

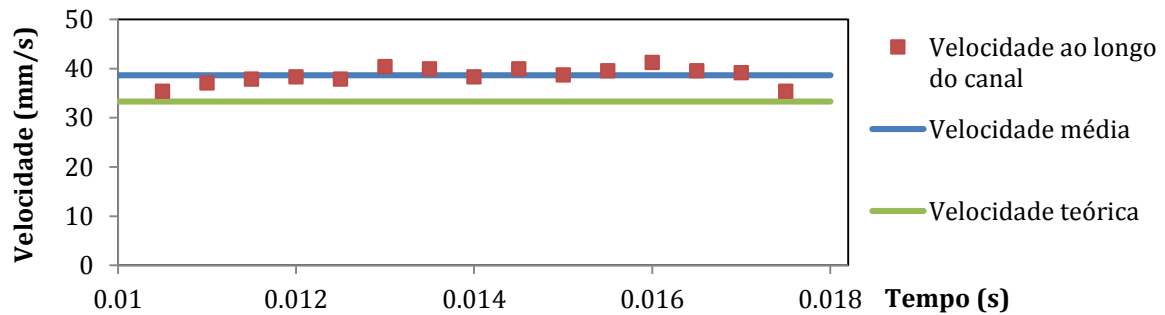


Figura 76 - Velocidade obtida para um caudal de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 220 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

Ao analisar as Figuras 75 e 76 e a Tabela 13 verifica-se que o aumento do hematócrito provoca uma diminuição da velocidade das bolhas.

Foi analisada a velocidade das bolhas no escoamento de sangue com Hct de 5 e 10%, para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$. A Figura 77 apresenta os resultados obtidos para o hematócrito de 5% e uma pressão de 340 mbar.

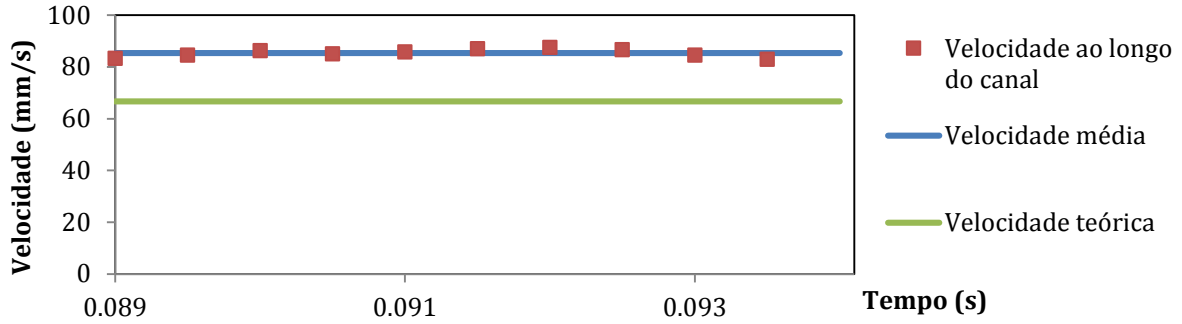


Figura 77 - Velocidade obtida para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 340 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 5% de Hct.

Na Figura 78 pode-se verificar a velocidade da bolha para uma amostra de sangue com 10% de Hct e utilizando uma pressão de 310 mbar.

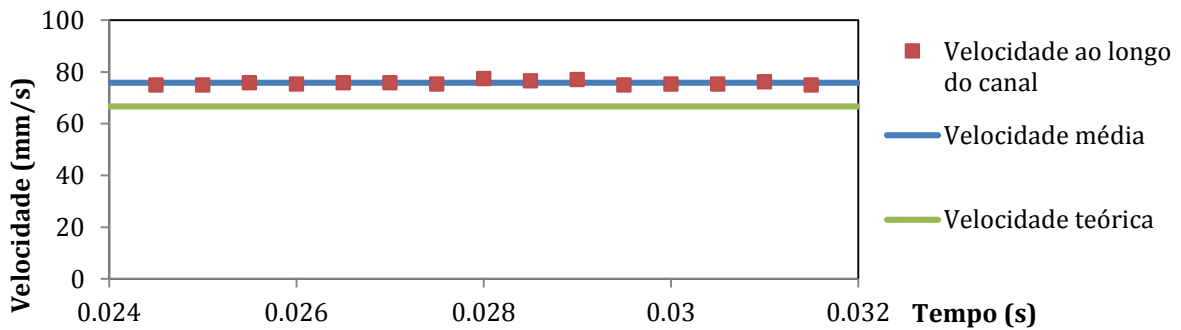


Figura 78 - Velocidade obtida para um caudal de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ e uma pressão de 310 mbar, utilizando um microcanal com bifurcações sucessivas e uma amostra de sangue com 10% de Hct.

Tal como para o caudal anterior, ao analisar as Figuras 77 e 78 e a Tabela 13 pode observar-se a diminuição da velocidade com o aumento do hematócrito utilizado. Estas diminuições acontecem uma vez que o aumento do hematócrito leva a um aumento da viscosidade do fluido, dificultando a passagem das bolhas e diminuindo a velocidade das mesmas.

Analisando todos os gráficos também é possível observar que com o aumento do caudal, a velocidade aumenta e as velocidades experimentais são superiores à velocidade teórica, uma

vez que a velocidade das bolhas corresponde à soma da velocidade do líquido e do gás. As velocidades ao longo do microcanal são constantes, sem oscilações, pois com os caudais utilizados é possível um escoamento mais estável.

6.3 Transposição dos resultados para o que acontece no corpo humano

Os parâmetros utilizados durante as experiências foram semelhantes às características da microcirculação sanguínea. A gama de velocidades estudada corresponde à gama de velocidades do sangue nos capilares, a viscosidade das soluções de Dextrano 40 corresponde à viscosidade do plasma sanguíneo. Para se estabelecer uma correspondência mais exata entre os estudos *in vitro* e as embolias *in vivo* seria necessário determinar o ângulo de contacto e a tensão superficial *in vivo*, mas não foi possível encontrar esta informação na literatura.

Quanto à geometria, as dimensões utilizadas foram semelhantes às reais, mas os microcanais fabricados têm uma geometria planar enquanto na microcirculação a geometria é cilíndrica.

Os hematócritos utilizados foram 5 e 10% e o hematócrito do sangue é cerca de 47%, no entanto o hematócrito na microcirculação é mais reduzida que o valor observado na microcirculação e pode atingir valores inferiores a 10%. Nas experiências *in vitro* não é possível utilizar hematócritos muito superiores aos que foram utilizados uma vez que não permitem a visualização do escoamento.

7 Conclusão

Este trabalho teve como objetivo principal estudar a formação e o transporte de microbolhas capazes de gerar embolias gasosas. Para isso fabricaram-se microcanais através de litografia suave utilizando moldes obtidos por xurografia e moldes obtidos por fotolitografia.

Os microcanais obtidos através dos dois moldes apresentaram bons resultados, mas os canais obtidos por xurografia, apesar de ser uma técnica menos dispendiosa, apresentam alterações nas dimensões dos microcanais. Tal pode ter ocorrido devido à precisão da *plotter* de corte e à qualidade do papel utilizado. A passagem do vinil para as placas de *petri* ou a remoção dos microcanais das placas de *petri* também pode ter danificado os mesmos, alterando a sua dimensão.

A fotolitografia, apesar de dispendiosa, possibilitou estudo em microcanais com uma largura de 100 μm , o que não é possível com a xurografia.

No escoamento foram utilizados fluidos Newtonianos e amostras de sangue com 5 e 10% de Hct. Dos fluidos Newtonianos optou-se por utilizar as soluções contendo Dextrano 40, por ser o fluido base utilizado nas amostras de sangue com 5 e 10% de Hct.

Foram testados vários caudais e pressões para injetar as bolhas de ar no escoamento e foram obtidos os resultados seguintes:

- As bolhas formadas apresentam dois formatos, dependendo da utilização de SDS no fluido utilizado: bolhas biconvexas (com SDS) e bolhas concavas-convexas (sem SDS). As dimensões das bolhas são irregulares, uma vez que o seu tamanho depende da sua formação. A quantidade de bolhas que passam durante um determinado tempo aumenta com o aumento do caudal utilizado, uma vez que com o aumento do caudal é necessário aumentar a pressão o que provoca bolhas mais pequenas e que fluem no escoamento a velocidades maiores;
- Dependendo do caudal utilizado é possível usar uma gama alargada de pressões, sendo que para pressões demasiado baixas ou demasiado altas, as bifurcações dos microcanais tendem a entupir. Para os caudais de 2 e 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ os microcanais

entupiram independentemente da pressão utilizada, uma vez que para caudais baixos as bolhas tinham tendência a ficar presas nos ramos das bifurcações;

- No estudo do entupimento dos microcanais obtidos através dos moldes obtidos por xurografia não se conseguiram resultados fiáveis, uma vez que os microcanais não eram iguais devido a erros próprios da técnica de xurografia;
- Ao analisar a passagem das bolhas nas bifurcações foi possível verificar que quando um ramo da bifurcação entope, a bolha passa pelo outro ramo, a uma velocidade maior. Quando os ramos não estão entupidos as bolhas passam por todos os ramos das bifurcações, mas por vezes passam a uma velocidade superior por um dos ramos e apresentam maiores dimensões. Isto acontece uma vez que as bolhas anteriores influenciam as bolhas seguintes. Assim, quando as bolhas estão a passar por um dos ramos da bifurcação, ocorre uma queda da pressão nesse ramo, fazendo com o caudal aumente no outro ramo e conseqüentemente as bolhas passem mais rápido e com dimensões superiores no outro ramo;
- Com o aumento do hematócrito utilizado, a viscosidade aumenta. Com este aumento é necessário aumentar a pressão utilizada para injetar as bolhas de ar;
- A velocidade das bolhas foi estudada durante o escoamento de soluções aquosas de Dextrano 40 com SDS e de amostras de sangue *in vitro* com 5 e 10% de Hct, utilizando microcanais obtidos através dos dois moldes referidos anteriormente. Para todos os escoamentos foi possível verificar que com o aumento do caudal é necessário aumentar a pressão para injetar as bolhas de ar e, conseqüentemente, a velocidade das bolhas aumentou, uma vez que a sua velocidade corresponde ao somatório da velocidade do fluido e do gás;
- Também se verificou que, ao utilizar amostras de sangue *in vitro* em vez de soluções aquosas de Dextrano 40, a viscosidade aumenta provocando uma diminuição da velocidade das bolhas, uma vez que a presença de células dificulta a sua passagem. O mesmo também se observou com o aumento do hematócrito;

- A velocidade das bolhas também foi afetada pelos microcanais utilizados. Como os microcanais obtidos através do molde obtido por fotolitografia apresentavam dimensões mais reduzidos, fazendo com que a área da secção reta do microcanal seja menor, a velocidade do fluido foi maior e foi necessário utilizar pressões mais elevadas para injetar as bolhas de ar. Tudo isto provocou um aumento da velocidade das bolhas durante o escoamento;
- O tempo que decorre entre a passagem das bolhas diminui com o aumento do caudal, uma vez que o número de bolhas também é superior;
- Também se verificou que a passagem das bolhas afeta o hematócrito e foi possível concluir que o hematócrito mantém-se constante durante o escoamento, mas quando uma bolha se aproxima a quantidade de células à frente da bolha diminui e depois de a bolha passar o hematócrito vai subindo até estabilizar.

7.1 Trabalhos futuros

Relativamente a trabalhos futuros, o tema deste trabalho pode ser muito mais explorado, de maneira a estabelecer uma ligação entre os resultados obtidos e o que acontece no corpo humano durante uma embolia gasosa. Para isso são sugeridos os seguintes trabalhos futuros:

- Utilizar microcanais com uma bifurcação seguida de uma confluência obtidos através de moldes fabricados por fotolitografia, de forma conseguir resultados mais fiáveis, nomeadamente no estudo do entupimento e desentupimento dos microcanais. Estas geometrias já estão desenhadas;
- Encontrar um sistema de injeção de bolhas únicas, ou seja, um sistema que permita injetar apenas uma bolha para que o escoamento da bolha não seja influenciado por outras bolhas;

- O estudo do entupimento dos microcanais tem que ser muito mais explorado, uma vez que este fenómeno é importante para perceber o que acontece no corpo humano durante uma embolia gasosa. Para isso deveria realizar-se o escoamento com bolhas únicas, utilizando as geometrias referidas anteriormente. Neste estudo é necessário utilizar vários caudais, de forma a descobrir para quais o microcanal entope e se com o aumento do caudal é possível desentupir os ramos das bifurcações;
- Estudar a influência das bolhas nas camadas livres de células durante o escoamento e principalmente junto às bifurcações;
- Quanto à influência das bolhas na concentração de células no escoamento, seria de grande interesse estudar se este fenómeno acontece apenas devido à injeção das bolhas. Para isso seria importante fazer algumas experiências, como por exemplo inverter o sentido do escoamento e verificar se a distribuição de células se mantém ou se também inverte.

Referências bibliográficas

1. Seeley Rod, R. and T. Stephens Trent e Philip, *Anatomia e Fisiologia*. 6ª edição, 2003.
2. Williams, P.L., R. Warwick, M. Dyson, and L.H. Bannister, *Gray's anatomy*. Vol. 378. 1989: Churchill livingstone Edinburgh.
3. Berne, R.M., M.N. Levy, and E.L. Ochoa, *Fisiologia*. 1987: Panamericana.
4. Arthur, C., M. Guyton, and J. Hall, *Textbook of medical physiology*. WB Saunders, Philadelphia, 2000: p. 96-252.
5. Teixeira, C., *Apontamentos da unidade curricular de Anato-Histo-Fisiologia I*. 2013/2014.
6. Hoff, B.A., J. Pettit, and P. Moss, *Essential Hematology*. 2001, Italy: Blackwell Science.
7. Junqueira, L. and J. Carneiro, *Histologia básica*. 1999. **9**: p. 223-283.
8. Staff, B., *Blausen Gallery 2014*. Wikiversity Journal of Medicine, 2014. **1**.
9. Martins e Silva, J., *Reologia do sangue-Importância da deformabilidade eritrocitária*. O Médico, 1982. **105**: p. 131-153.
10. Rosa, S., *Apontamentos da unidade curricular de Biofluidos*. 2014/2015.
11. Pinho, F., *Alguns conceitos basicos de Hemodinamica; Biomecanica do Corpo Humano*. MIB, Departamento de Engenharia Mecanica, MIEM, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2009.
12. Lima, R., T. Ishikawa, Y. Imai, and T. Yamaguchi, *Blood flow behavior in microchannels: past, current and future trends*. Single and two-phase flows on chemical and biomedical engineering, 2012: p. 513-547.
13. Garcia, V., R. Dias, and R. Lima, *In vitro blood flow behaviour in microchannels with simple and complex geometries*, in *Applied Biological Engineering-Principles and Practice*. 2012, InTech.
14. Parthasarathi, A.A., S.A. Japee, and R.N. Pittman, *Determination of red blood cell velocity by video shuttering and image analysis*. Annals of biomedical engineering, 1999. **27**(3): p. 313-325.
15. Fedosov, D.A., B. Caswell, A.S. Popel, and G.E. Karniadakis, *Blood Flow and Cell-Free Layer in Microvessels*. Microcirculation, 2010. **17**(8): p. 615-628.
16. Goldsmith, H. and V. Turitto, *Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic principles and applications*. ICTH-Report-Subcommittee on Rheology of the International Committee on Thrombosis and Haemostasis. Thrombosis and haemostasis, 1986. **55**(3): p. 415-435.
17. Chien, S., *Blood flow in small tubes*. *Handbook of Physiology, Section 2. The Cardiovascular System*, 1984. **4**: p. 217-249.
18. Maeda, N., *Erythrocyte rheology in microcirculation*. The Japanese journal of physiology, 1996. **46**(1): p. 1-14.
19. Fåhræus, R. and T. Lindqvist, *The viscosity of the blood in narrow capillary tubes*. American Journal of Physiology--Legacy Content, 1931. **96**(3): p. 562-568.
20. Pries, A., D. Neuhaus, and P. Gaehtgens, *Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 1992. **263**(6): p. H1770-H1778.
21. Muth, C.M. and E.S. Shank, *Gas embolism*. New England Journal of Medicine, 2000. **342**(7): p. 476-482.
22. Hulst, R.A., J. Klein, and B. Lachmann, *Gas embolism: pathophysiology and treatment*. Clinical physiology and functional imaging, 2003. **23**(5): p. 237-246.
23. Malik, N., P.L. Claus, J.E. Illman, S.J. Kligerman, M.R. Moynagh, D.L. Levin, D.A. Woodrum, A. Arani, S.P. Arunachalam, and P.A. Araoz, *Air embolism: diagnosis and management*. 2017.
24. Orebaugh, S. and A. Grenvik, *Air embolization, Textbook of Critical Care*. 1995, Edited by Ayres SM, Grenvik A, Holbrook PR, Shoemaker WC. Philadelphia, WB Saunders.

25. Durant, T.M., M. Oppenheimer, M. Webster, and J. Long, *Arterial air embolism*. American heart journal, 1949. **38**(4): p. 481-500.
26. Blanc, P., A. Boussuges, K. Henriette, J. Sainty, and M. Deleflie, *Iatrogenic cerebral air embolism: importance of an early hyperbaric oxygenation*. Intensive care medicine, 2002. **28**(5): p. 559-563.
27. Meyer, P.-G., H. Cuttaree, B. Charron, M.-M. Jarreau, A.-C. PERIE, and C. Sainte-Rose, *Prevention of venous air embolism in paediatric neurosurgical procedures performed in the sitting position by combined use of MAST suit and PEEP*. BJA: British Journal of Anaesthesia, 1994. **73**(6): p. 795-800.
28. Weiss, L.D. and K.W. Van Meter, *Cerebral air embolism in asthmatic scuba divers in a swimming pool*. Chest, 1995. **107**(6): p. 1653-1654.
29. Gorman, D. and D. Browning, *Cerebral vasoreactivity and arterial gas embolism*. Undersea biomedical research, 1986. **13**(3): p. 317-335.
30. Muth, C.-M. and E. Shank, *Cerebral arterial gas embolism: should we hyperventilate these patients?* Intensive care medicine, 2004. **30**(5): p. 742-743.
31. Voorhies, R.M. and R.A. Fraser, *Cerebral air embolism occurring at angiography and diagnosed by computerized tomography: case report*. Journal of neurosurgery, 1984. **60**(1): p. 177-178.
32. Dexter, F. and B.J. Hindman, *Recommendations for hyperbaric oxygen therapy of cerebral air embolism based on a mathematical model of bubble absorption*. Anesthesia & Analgesia, 1997. **84**(6): p. 1203-1207.
33. Smith, R.M., K.B. Van Hoesen, and T.S. Neuman, *Arterial gas embolism and hemoconcentration*. The Journal of emergency medicine, 1994. **12**(2): p. 147-153.
34. Kizer, K.W., *Corticosteroids in treatment of serious decompression sickness*. Annals of emergency medicine, 1981. **10**(9): p. 485-488.
35. Hoffman, W.E., F.T. Charbel, G. Edelman, and J.I. Ausman, *Thiopental and desflurane treatment for brain protection*. Neurosurgery, 1998. **43**(5): p. 1050-1053.
36. Gordy, S. and S. Rowell, *Vascular air embolism*. International journal of critical illness and injury science, 2013. **3**(1): p. 73.
37. Mirski, M.A., A.V. Lele, L. Fitzsimmons, and T.J. Toung, *Diagnosis and treatment of vascular air embolism*. Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 2007. **106**(1): p. 164-177.
38. Zwang, N.A., S.U. Nigwekar, and D.J. Steele, *Hemodialysis Complications*, in *Core Concepts in Dialysis and Continuous Therapies*. 2016, Springer. p. 39-51.
39. Kawahara, T., M. Hagiwara, H. Takahashi, M. Tanaka, K. Imai, J. Sawada, T. Kunisawa, and H. Furukawa, *Cerebral Infarction by Paradoxical Gas Embolism During Laparoscopic Liver Resection with Injury of the Hepatic Vessels in a Patient without a Right-to-Left Systemic Shunt*. The American journal of case reports, 2017. **18**: p. 687.
40. Losasso, T.J., S. Black, D.A. Muzzi, J.D. Michenfelder, and R.F. Cucchiara, *Detection and hemodynamic consequences of venous air embolism. Does nitrous oxide make a difference?* Anesthesiology, 1992. **77**(1): p. 148-152.
41. Hsu, M. and S.O. Trerotola, *Air embolism during insertion and replacement of tunneled dialysis catheters: a retrospective investigation of the effect of aerostatic sheaths and over-the-wire exchange*. Journal of Vascular and Interventional Radiology, 2015. **26**(3): p. 366-371.
42. Eftedal, O.S., S. Lydersen, and A.O. Brubakk, *The relationship between venous gas bubbles and adverse effects of decompression after air dives*. Undersea & Hyperbaric Medicine, 2007. **34**(2): p. 99.
43. Tovar, E.A., C. Del Campo, A. Borsari, R.P. Webb, J.R. Dell, and P.B. Weinstein, *Postoperative management of cerebral air embolism: gas physiology for surgeons*. The Annals of thoracic surgery, 1995. **60**(4): p. 1138-1142.
44. Furuya, H., T. Suzuki, F. Okumura, Y. Kishi, and T. Uefuji, *Detection of air embolism by transesophageal echocardiography*. Anesthesiology, 1983. **58**(2): p. 124-129.

45. Soriano, S., M. McManus, L. Sullivan, R. Scott, and M. Rockoff, *Doppler sensor placement during neurosurgical procedures for children in the prone position*. Journal of neurosurgical anesthesiology, 1994. **6**(3): p. 153-155.
46. Chang, J.-L., M.S. Albin, L. Bunegin, and T.-K. Hung, *Analysis and comparison of venous air embolism detection methods*. Neurosurgery, 1980. **7**(2): p. 135-141.
47. Brechner, T.M. and V.L. Brechner, *An audible alarm for monitoring air embolism during neurosurgery*. Journal of neurosurgery, 1977. **47**(2): p. 201-204.
48. Alvaran, S.B., J.K. Toung, T.E. Graff, and D.W. Benson, *Venous Air Embolism: Comparative Merits of External Cardiac Massage, Intracardiac Aspiration, and Left Lateral Decubitus Position*. Anesthesia & Analgesia, 1978. **57**(2): p. 166-170.
49. De Angelis, J., *A simple and rapid method for evacuation of embolized air*. The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 1975. **43**(1): p. 110-111.
50. Whitesides, G.M., *The origins and the future of microfluidics*. Nature, 2006. **442**(7101): p. 368-373.
51. Crevillén, A.G., M. Hervás, M.A. López, M.C. González, and A. Escarpa, *Real sample analysis on microfluidic devices*. Talanta, 2007. **74**(3): p. 342-357.
52. Bardin, D., T.D. Martz, P.S. Sheeran, R. Shih, P.A. Dayton, and A.P. Lee, *High-speed, clinical-scale microfluidic generation of stable phase-change droplets for gas embolotherapy*. Lab on a Chip, 2011. **11**(23): p. 3990-3998.
53. Evans, B. and R. Mehalso, *How small is small? A guide to the new microfabrication design and process techniques*. Medical device and diagnostic industry, 2001. **23**(11): p. 50-57.
54. Vasco, J.O.C., *A Micro-Fabricação aplicada ao processo de Micro-Injeção*. 2006.
55. Cong, H. and T. Pan. *Microfabrication of conductive PDMS on flexible substrates for biomedical applications*. in *Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, 2009. NEMS 2009. 4th IEEE International Conference on*. 2009. IEEE.
56. Anderson, J.R., D.T. Chiu, H. Wu, O. Schueller, and G.M. Whitesides, *Fabrication of microfluidic systems in poly (dimethylsiloxane)*. Electrophoresis, 2000. **21**(1): p. 27-40.
57. Bartholomeusz, D.A., R.W. Boutté, and J.D. Andrade, *Xurography: rapid prototyping of microstructures using a cutting plotter*. Journal of Microelectromechanical Systems, 2005. **14**(6): p. 1364-1374.
58. Jo, B.-H., L.M. Van Lerberghe, K.M. Motsegood, and D.J. Beebe, *Three-dimensional micro-channel fabrication in polydimethylsiloxane (PDMS) elastomer*. Journal of microelectromechanical systems, 2000. **9**(1): p. 76-81.
59. Duffy, D.C., J.C. McDonald, O.J. Schueller, and G.M. Whitesides, *Rapid prototyping of microfluidic systems in poly (dimethylsiloxane)*. Analytical chemistry, 1998. **70**(23): p. 4974-4984.
60. Pinto, E., V. Faustino, R.O. Rodrigues, D. Pinho, V. Garcia, J.M. Miranda, and R. Lima, *A rapid and low-cost nonlithographic method to fabricate biomedical microdevices for blood flow analysis*. Micromachines, 2014. **6**(1): p. 121-135.
61. Vasco, J., N. André, and P. Bartolo. *Micro-fabrication: The State-of-the-art*. in *Proceedings of the 2 nd. International Conference on Advanced Research and Rapid Prototyping: Virtual Modeling and Rapid Manufacturing—Advanced Research in Virtual and Rapid Prototyping*. 2005.
62. Li, B., P.A. Clark, and K. Church. *Robust direct-write dispensing tool and solutions for micro/meso-scale manufacturing and packaging*. in *ASME 2007 International Manufacturing Science and Engineering Conference*. 2007. American Society of Mechanical Engineers.
63. Khumpuang, S., H. Maekawa, and S. Hara, *Photolithography for minimal fab system*. IEEJ Transactions on sensors and micromachines, 2013. **133**(9): p. 272-277.
64. Maddox III, R.L., *Microelectronic shadow masking process for reducing punchthrough*. 1983, Google Patents.
65. Whitesides, G.M., E. Ostuni, S. Takayama, X. Jiang, and D.E. Ingber, *Soft lithography in biology and biochemistry*. Annual review of biomedical engineering, 2001. **3**(1): p. 335-373.

66. Xia, Y. and G.M. Whitesides, *Soft lithography*. Annual review of materials science, 1998. **28**(1): p. 153-184.
67. Pinto, E., B. Taboada, V. Faustino, D. Cidre, R.O. Rodrigues, J.M. Miranda, V. Garcia, R.P. Dias, and R. Lima, *Blood flow in microchannels manufactured by a low cost technique: xurography*. Perspectives in Fundamental and Applied Rheology, 2013.
68. Pinto, E., D. Pinho, D. Bento, T.M. Correia, V. Garcia, R.P. Dias, J.M. Miranda, and R. Lima. *Fabricação de microcanais utilizando o método de xurografia: visualização da camada livre de células*. in *Atas do 5º Congresso Nacional de Biomecânica*. 2013. Sociedade Portuguesa de Biomecânica.
69. Voldman, J., M.L. Gray, and M.A. Schmidt, *Microfabrication in biology and medicine*. Annual review of biomedical engineering, 1999. **1**(1): p. 401-425.
70. Unger, M.A., H.-P. Chou, T. Thorsen, A. Scherer, and S.R. Quake, *Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography*. Science, 2000. **288**(5463): p. 113-116.
71. Rodrigues, R.O., V. Faustino, D. Pinho, E. Pinto, D. Cidre, T. Yaginuma, B. Taboada, D. Bento, and R. Lima, *Separation and deformation of red blood cells in PDMS microchannels*. Perspectives in fundamental and applied rheology, 2013.
72. Kenis, P.J., R.F. Ismagilov, and G.M. Whitesides, *Microfabrication inside capillaries using multiphase laminar flow patterning*. Science, 1999. **285**(5424): p. 83-85.
73. Faustino, V., S.O. Catarino, R. Lima, and G. Minas, *Biomedical microfluidic devices by using low-cost fabrication techniques: A review*. Journal of biomechanics, 2016. **49**(11): p. 2280-2292.
74. Fries, C.C., B. Levowitz, S. Adler, A.W. Cook, K.E. Karlson, and C. Dennis, *Experimental cerebral gas embolism*. Annals of surgery, 1957. **145**(4): p. 461.
75. Gorman, D. and S. Mitchell, *A history of Cerebral Arterial Gas Embolism Research: Key Publications*. 1999.
76. Papadopoulou, V., M.-X. Tang, C. Balestra, R.J. Eckersley, and T.D. Karapantsios, *Circulatory bubble dynamics: from physical to biological aspects*. Advances in colloid and interface science, 2014. **206**: p. 239-249.
77. Calderón, A.J., Y.S. Heo, D. Huh, N. Futai, S. Takayama, J.B. Fowlkes, and J.L. Bull, *Microfluidic model of bubble lodging in microvessel bifurcations*. Applied Physics Letters, 2006. **89**(24): p. 244103.
78. Cubaud, T. and C.-M. Ho, *Transport of bubbles in square microchannels*. Physics of Fluids (1994-present), 2004. **16**(12): p. 4575-4585.
79. Angeli, P. and A. Gavriilidis, *Hydrodynamics of Taylor flow in small channels: a review*. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science, 2008. **222**(5): p. 737-751.
80. Thulasidas, T., M. Abraham, and R. Cerro, *Flow patterns in liquid slugs during bubble-train flow inside capillaries*. Chemical Engineering Science, 1997. **52**(17): p. 2947-2962.
81. Samuel, S., A. Duprey, M.L. Fabiilli, J.L. Bull, and J. BRIAN FOWLKES, *In vivo microscopy of targeted vessel occlusion employing acoustic droplet vaporization*. Microcirculation, 2012. **19**(6): p. 501-509.
82. Talimi, V., Y. Muzychka, and S. Kocabiyik, *A review on numerical studies of slug flow hydrodynamics and heat transfer in microtubes and microchannels*. International Journal of Multiphase Flow, 2012. **39**: p. 88-104.
83. Taha, T. and Z. Cui, *Hydrodynamics of slug flow inside capillaries*. Chemical Engineering Science, 2004. **59**(6): p. 1181-1190.
84. Bento, D., L. Sousa, T. Yaginuma, V. Garcia, R. Lima, and J.M. Miranda, *Microbubble moving in blood flow in microchannels: effect on the cell-free layer and cell local concentration*. Biomedical microdevices, 2017. **19**(1): p. 6.
85. Eshpuniyani, B., J.B. Fowlkes, and J.L. Bull, *A bench top experimental model of bubble transport in multiple arteriole bifurcations*. International journal of heat and fluid flow, 2005. **26**(6): p. 865-872.

86. Valassis, D.T., R.E. Dodde, B. Esphuniyani, J.B. Fowlkes, and J.L. Bull, *Microbubble transport through a bifurcating vessel network with pulsatile flow*. Biomedical microdevices, 2012. **14**(1): p. 131-143.
87. Doutel, E., S. Pinto, J. Campos, and J. Miranda, *Link between deviations from Murray's Law and occurrence of low wall shear stress regions in the left coronary artery*. Journal of theoretical biology, 2016. **402**: p. 89-99.
88. Tsukada, K., E. Sekizuka, C. Oshio, and H. Minamitani, *Direct measurement of erythrocyte deformability in diabetes mellitus with a transparent microchannel capillary model and high-speed video camera system*. Microvascular research, 2001. **61**(3): p. 231-239.
89. Lima, R., S. Wada, K.-i. Tsubota, and T. Yamaguchi, *Confocal micro-PIV measurements of three-dimensional profiles of cell suspension flow in a square microchannel*. Measurement Science and Technology, 2006. **17**(4): p. 797.
90. Lima, R., S. Wada, M. Takeda, K.-i. Tsubota, and T. Yamaguchi, *In vitro confocal micro-PIV measurements of blood flow in a square microchannel: the effect of the haematocrit on instantaneous velocity profiles*. Journal of biomechanics, 2007. **40**(12): p. 2752-2757.
91. Lima, R., S. Wada, S. Tanaka, M. Takeda, T. Ishikawa, K.-i. Tsubota, Y. Imai, and T. Yamaguchi, *In vitro blood flow in a rectangular PDMS microchannel: experimental observations using a confocal micro-PIV system*. Biomedical microdevices, 2008. **10**(2): p. 153-167.
92. Lima, R., M.S. Oliveira, T. Ishikawa, H. Kaji, S. Tanaka, M. Nishizawa, and T. Yamaguchi, *Axisymmetric polydimethylsiloxane microchannels for in vitro hemodynamic studies*. Biofabrication, 2009. **1**(3): p. 035005.
93. Lima, R., M. Nakamura, T. Omori, T. Ishikawa, S. Wada, and T. Yamaguchi, *Microscale flow dynamics of red blood cells in microchannels: an experimental and numerical analysis*, in *Advances in Computational Vision and Medical Image Processing*. 2009, Springer. p. 203-220.
94. Lima, R., R. Joseyphus, T. Ishikawa, Y. Imai, and T. Yamaguchi, *Micro-flow visualization of magnetic nanoparticles for biomedical applications*. Single and two-Phase Flows on Chemical and Biomedical Engineering, 2012: p. 600-612.
95. Tanaka, T., T. Ishikawa, K. Numayama-Tsuruta, Y. Imai, H. Ueno, T. Yoshimoto, N. Matsuki, and T. Yamaguchi, *Inertial migration of cancer cells in blood flow in microchannels*. Biomedical microdevices, 2012. **14**(1): p. 25-33.
96. Faivre, M., M. Abkarian, K. Bickraj, and H.A. Stone, *Geometrical focusing of cells in a microfluidic device: an approach to separate blood plasma*. Biorheology, 2006. **43**(2): p. 147-159.
97. Leble, V., R. Lima, R. Dias, C. Fernandes, T. Ishikawa, Y. Imai, and T. Yamaguchi, *Asymmetry of red blood cell motions in a microchannel with a diverging and converging bifurcation*. Biomicrofluidics, 2011. **5**(4): p. 044120.
98. Cidre, D., M. Lagoela, B. Oliveira, C.S. Fernandes, C. Balsa, R. Lima, R.P. Dias, T. Ishikawa, and T. Yamaguchi, *Análise do escoamento sanguíneo em microcanais com bifurcações*. MEFTE 2009, 2009.
99. Novais, S., D. Pinho, D. Bento, E. Pinto, T. Yaginuma, C.S. Fernandes, V. Garcia, A.I. Pereira, J. Lima, and M. Mujika, *Cell-free layer (CFL) measurements in complex geometries: contractions and bifurcations*, in *Visualization and Simulation of Complex Flows in Biomedical Engineering*. 2014, Springer. p. 119-132.
100. Mogi, K., Y. Sugii, T. Yamamoto, and T. Fujii, *Rapid fabrication technique of nano/microfluidic device with high mechanical stability utilizing two-step soft lithography*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014. **201**: p. 407-412.
101. TUTORIAL, P.D.E. and P.E. CIVIL, *AutoCAD 2009*.
102. Micheal, I.J., A.J. Vidyasagar, K.K. Bokara, N.K. Mekala, A. Asthana, and C.M. Rao, *Foil assisted replica molding for fabrication of microfluidic devices and their application in vitro*. Lab on a Chip, 2014. **14**(19): p. 3695-3699.
103. Kamei, K.-i., Y. Mashimo, Y. Koyama, C. Fockenber, M. Nakashima, M. Nakajima, J. Li, and Y. Chen, *3D printing of soft lithography mold for rapid production of polydimethylsiloxane-*

- based microfluidic devices for cell stimulation with concentration gradients*. Biomedical microdevices, 2015. **17**(2): p. 36.
104. McDonald, J.C. and G.M. Whitesides, *Poly (dimethylsiloxane) as a material for fabricating microfluidic devices*. Accounts of chemical research, 2002. **35**(7): p. 491-499.
 105. Stroock, A.D. and G.M. Whitesides, *Components for integrated poly (dimethylsiloxane) microfluidic systems*. Electrophoresis, 2002. **23**(20): p. 3461-3473.
 106. Lin, Y.-H., S.-W. Kang, and T.-Y. Wu, *Fabrication of polydimethylsiloxane (PDMS) pulsating heat pipe*. Applied Thermal Engineering, 2009. **29**(2): p. 573-580.
 107. Abramoff, M.D., P.J. Magalhães, and S.J. Ram, *Image processing with ImageJ*. Biophotonics international, 2004. **11**(7): p. 36-42.
 108. Pérez, J.M.M. and J. Pascau, *Image processing with ImageJ*. 2013: Packt Publishing Ltd.

A. Anexo

Para estudar as velocidades das bolhas utilizou-se a ferramenta *Manual Tracking* do software ImageJ.

Para isso selecionou-se as opções *Plugins* → *Tracking* → *Manual Tracking*, como se pode ver na Figura 79.

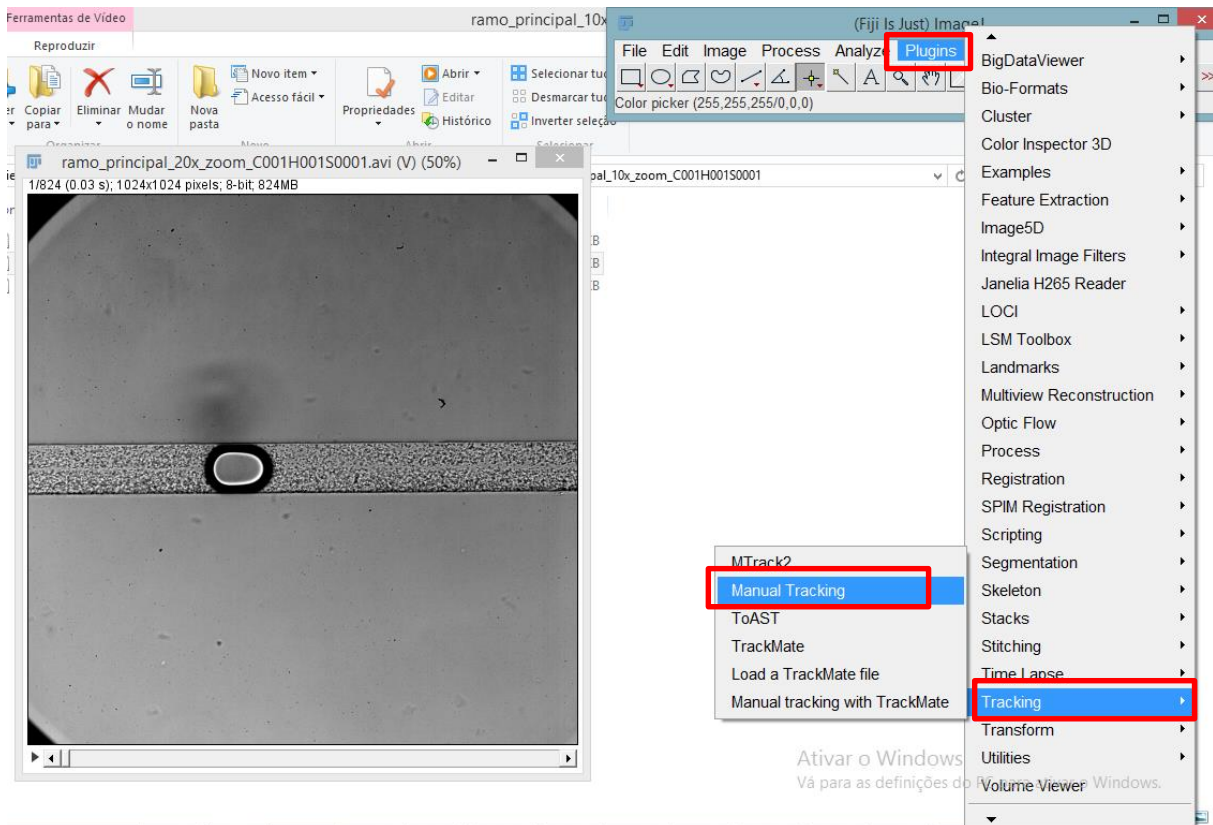


Figura 79 – Passos para utilizar a ferramenta *Manual Tracking*.

Através do plugin *Manual Tracking* seguiu-se uma bolha, ao longo do microcanal e por cada ponto marcado foi obtida as coordenadas x e y, como se pode ver na Figura 80.

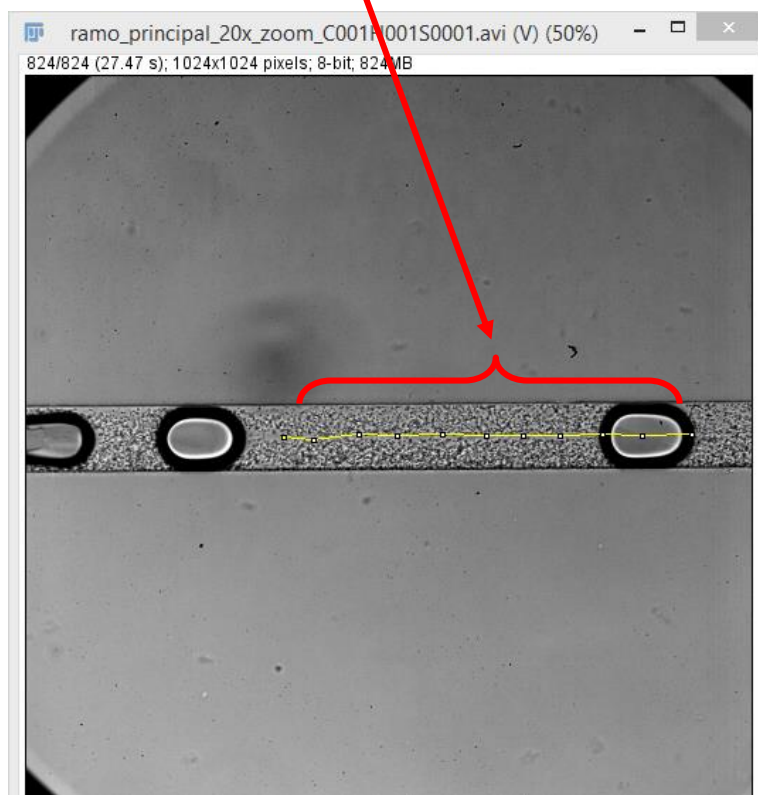
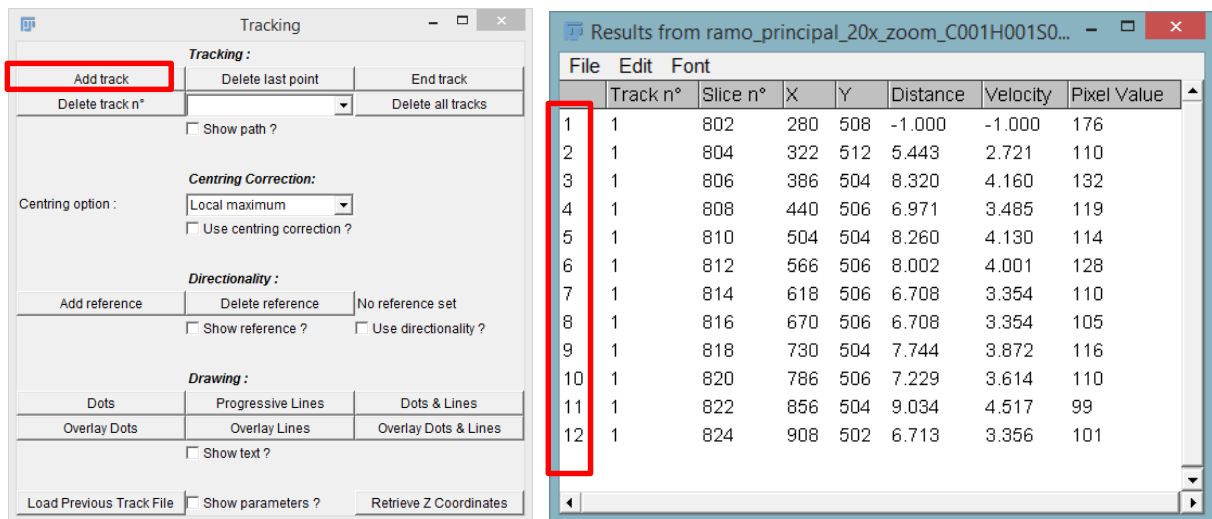


Figura 80 – Seguimento da bolha através da ferramenta *Manual Tracking*.

Por fim, com a coordenada x e com o número da frame correspondente, calculou-se a velocidade das bolhas.

Para estudar o efeito das bolhas na quantidade de células utilizou-se a ferramenta *Plot z-axis profile* do software ImageJ.

Para isso selecionou-se a área do vídeo que estava indicada pela seta na Figura 81 e posteriormente selecionou-se as opções *Image* → *Stacks* → *Plot z-axis Profile*, como se pode ver na seguinte Figura.

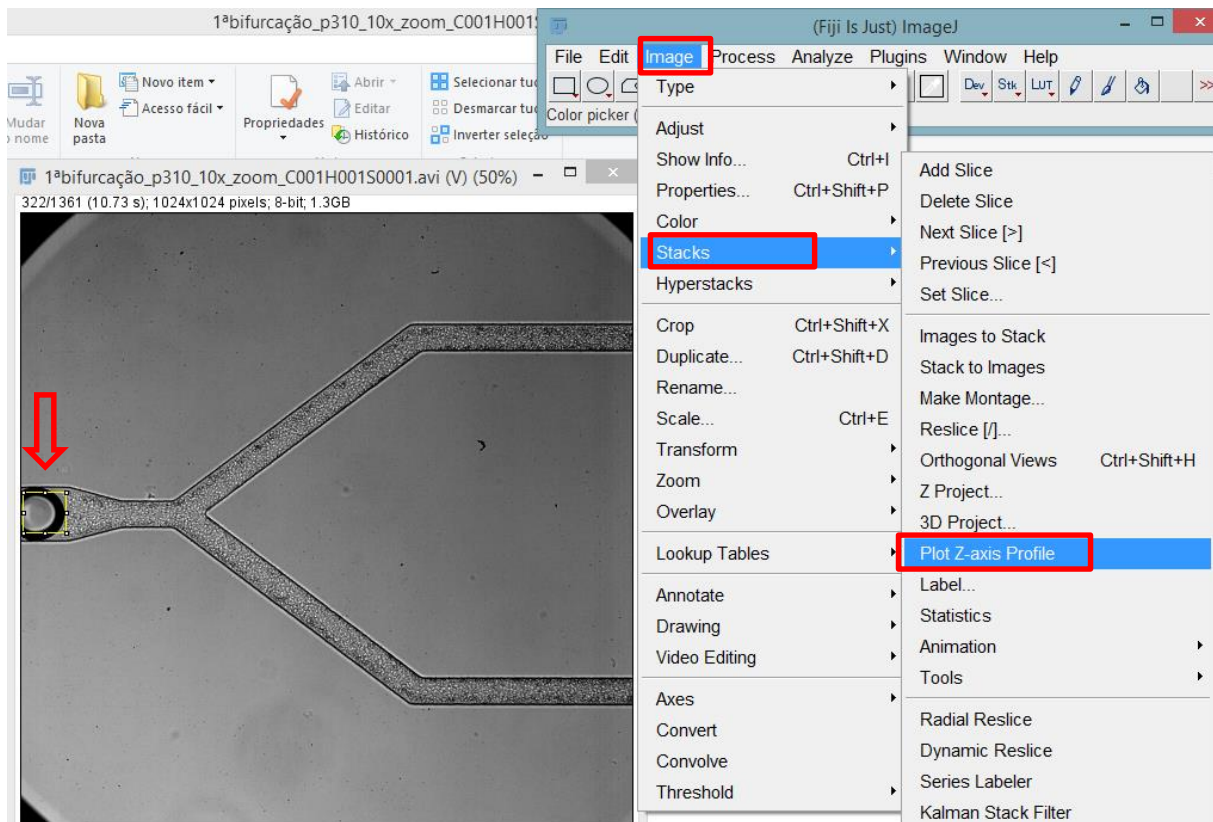


Figura 81 - Passos para utilizar a ferramenta *Plot z-axis Profile*.

A ferramenta *Plot z-axis profile* permite obter um gráfico com as várias tonalidades dessa área ao longo do vídeo (Figura 82).

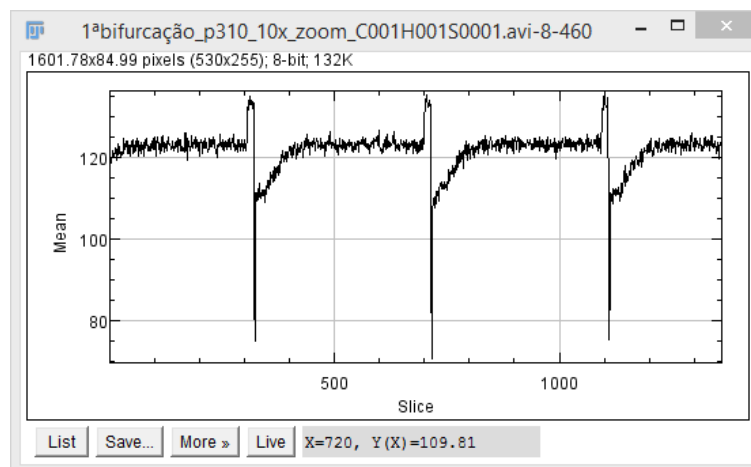


Figura 82 - Gráfico obtido pela ferramenta *Plot z-axis profile*.