

文章编号:1004-7220(2021)04-0646-06

BPX-80 离心式血泵中剪切力引发血管性血友病因子机械损伤的评价

钟敏, 葛婉宁, 张柳笛, 梅旭

(苏州大学 机电工程学院, 生物制造研究中心, 人工器官研究所, 江苏 苏州 215006)

摘要:目的 对 BPX-80 离心式血泵中剪切力引起血管性血友病因子(von Willebrand Factor, vWF)的损伤进行评价,判断其是否可以作为 vWF 损伤研究的参照泵。方法 按照 ASTM 标准搭建体外溶血测试平台,使用新鲜猪血在此平台对 BPX-80 离心式血泵进行 8 h 测试,然后评估每小时血液样本的溶血水平和 vWF 损伤,并与静态对照组进行比较。结果 在整个实验过程中,BPX-80 的溶血指数保持稳定且较低;高分子量 vWF 多聚体有少量降解,与静置对照组相比无显著性差异;vWF 抗原含量无明显变化,与静置对照组趋势基本一致。结论 BPX-80 离心式血泵血液相容性良好,可以作为 vWF 损伤以及溶血评价实验的基准参照泵,从而为新型血泵的设计与优化提供参考。

关键词:心室辅助装置;血管性血友病因子;血液损伤;非生理性剪切力

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.04.022

Evaluation on Mechanical Damage of vWF Induced by Shear Stress in BPX-80 Centrifugal Blood Pump

ZHONG Min, GE Wanning, ZHANG Liudi, MEI Xu

(Artificial Organ Technology Laboratory, Bio-Manufacturing Research Centre, School of Mechanical and Electrical Engineering, Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To evaluate the damage of von Willebrand factor (vWF) induced by shear stress in BPX-80 centrifugal blood pump, and determine whether it can be used as a reference pump for vWF damage research.

Methods An *in vitro* hemolysis test platform was established according to the ASTM standards. The BPX-80 centrifugal blood pump was tested for 8 hours by using fresh porcine blood. The hemolysis level and vWF damage of hourly blood samples were then evaluated and compared with the static control group. **Results** The hemolysis index of BPX-80 was stable and low during the test; vWF polymer with high molecular weight had a small amount of degradation, and showed no significant difference compared with the static control group; there was no significant change in the concentration of vWF antigen, which was basically consistent with the trend of the static control group. **Conclusions** BPX-80 centrifugal blood pump has good blood compatibility and can be used as the reference pump for vWF damage and hemolysis evaluation, thereby providing guidance for the design and optimization of new blood pumps.

Key words: ventricular assist device (VAD); von Willebrand factor (vWF); blood damage; non-physiological shear stress

收稿日期:2020-07-02; 修回日期:2020-08-04

基金项目:国家自然科学基金项目(31700817),江苏省自然科学基金项目(BK20170352),江苏省高校自然科学研究面上项目(17KJB416010),第62批国家博士后基金(2017M620224)

通信作者:张柳笛,讲师,硕士生导师,E-mail:liudi@suda.edu.cn

心力衰竭是当今世界范围内的重大死亡因素之一,可植入式心室辅助装置(ventricular assist device, VAD)的应用为末期心衰患者引发曙光^[1]。但是 VAD 中复杂的机械结构和其产生的非生理性剪切力会引发严重的血液机械损伤问题^[2-3]。近年来, VAD 在临床上的消化道出血并发症已引起越来越重视,植入 1 年后的发生概率高达 65%^[4]。前期研究表明, VAD 中非生理性剪切力对高分子量(high molecular weight, HMW)血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)多聚体的降解是造成这一症状的主要因素^[5-7]。

VAD 通过高速旋转来实现泵血功能,故在旋转叶片尖端等流道内高应力区域可能存在数 10 倍甚至百倍于生理范围的剪切力,从而造成血液损伤^[8-9]。连续流式 VAD 中黏性剪切力的常见范围为 100~450 Pa,在流量为 4~7 L/min 时,离心式和轴流式血泵中剪切力峰值分别可达 230、600 Pa。而在 3 L/min 和 100 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)工作点下,离心泵中个别微小区域(<0.75%)的瞬时剪切力可高达 0.3~1.1 kPa,在轴流泵中甚至超过 1.25 kPa,超出人体生理性流场中最大值近 100 倍^[10-12]。在高剪切力作用下, vWF 多聚体的三维构象会发生改变,暴露出分子中的剪切位点,使得 HMW vWF 多聚体被剪切成小分子,影响凝血过程^[13-15]。由于国内外学者对 vWF 的研究起步较晚,有关这一人体凝血过程中关键因素仍然定义模糊且缺乏评价标准^[16]。因此,建立标准化实验平台,选择标准参照泵对 vWF 损伤进行评价十分必要。

目前,国际上通常选用比较成熟的商品化非置入型血泵作为参照进行血液相容性相关测试,本文选用 BPX-80 离心式血泵,按照 ASTM 标准搭建体外溶血测试平台,对其溶血性能以及 vWF 多聚体损伤水平进行评价,旨在研究该泵中剪切力对 vWF 多聚体造成的损伤水平,判断其是否能作为新型 VAD 在溶血和 vWF 多聚体损伤评价方面的基准对照泵,从而为新型血泵的设计与优化提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验血液

本实验血液采自体温正常、无明显疾病特征的

太湖白猪,采血前禁食禁水 12 h。实验当天采用动脉穿刺技术,将血液通过 14G 大口径针头采集入一次性血袋。血袋中含有 0.4% 肝素钠抗凝剂,抗凝剂与血液的比例为 1:20。取血过程中不断轻轻摇晃血袋,使血液与肝素钠充分混匀以防止发生凝血,混匀后各袋血液的活化凝血时间(activated clotting time, ACT)都应该大于 300 s,并且在血液采集后 4 h 内将其转移到测试回路中。在血液进入回路前采用口径为 74 μm 滤网进行过滤,以除去血液中的微粒和微血栓等。全部实验用血均取自苏州大学实验动物中心,取血过程由专业人员进行操作,已通过苏州大学动物实验伦理审查。

1.2 实验设备及操作

按照 ASTM 标准搭建体外溶血测试平台,在恒定血流动力学条件下对 BPX-80 血泵进行测试(见图 1)。回路中红细胞压积(hematocrit, Hct)为(25 \pm 3)%,血液总体积为(500 \pm 50) mL。调节实验参数,使得血泵工作点如下:流量为(2 \pm 0.25) L/min,使用超声流量计(T410, Transonic Systems 公司,美国)进行实时监测;血泵进出口两端压差通过阻力阀(Qosina 公司,美国)控制为(110 \pm 3) mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),使用压力传感器(DPT-01, 上海洛瑞测控科技有限公司)实时监控。在此工作位点下, BPX-80 离心式血泵中剪切力为 100~200 Pa^[17]。

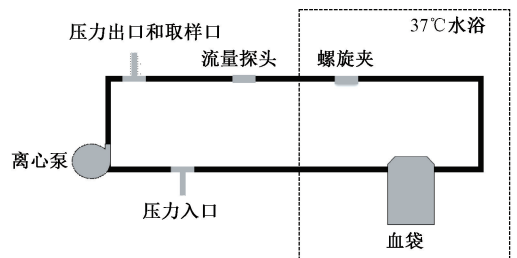


图 1 体外溶血测试平台

Fig.1 *In vitro* hemolysis testing platform

根据 ASTM 标准设置静置对照组血袋,调节血液 Hct 为(17 \pm 2)%,静置血袋中血液总体积为(100 \pm 25) mL,消除空气界面,置于水箱中保持 37 $^{\circ}\text{C}$ 实验环境。实验过程中通过泵出口处和对照组血袋上的三通接口取样,取样前缓慢摇晃血袋,使血液充分混匀,每隔 1 h 取样 1 次,丢弃前 2 mL 血液,然后第 2 次抽取 3 mL 作为样品,利用血气

分析仪测量 Hct 并且保存,用于以下所述 3 种测试。

本实验实验组为两台 BPX-80 离心式血泵,一共 8 个取样点,每个取样点取两个样品。静置实验组同样设置两组,一共 8 个取样点,每个取样点保存两个样品。

1.3 溶血测试

将上述血液样品置于 1.5 mL 离心管中在 4 ℃ 以 1 500 *g* 离心 10 min 取上清液,并用 0.01% Na₂CO₃ 溶液稀释 10 倍。然后将稀释后的样品加入 96 孔酶标板 (ELISA plates FEP-101-896, 广州洁特生物过滤股份有限公司) 中,每个样品加 4 个孔。使用酶标仪 (SpectraMax Paradigm SER 33 270-1265, Molecular Devices 公司, 美国) 在 380、415、450 nm 3 种波长下测量吸光度。血浆游离血红蛋白 (pfHb) 和溶血指数 (normalized index of hemolysis, NIH) 的计算公式^[18] 分别如下:

$$\text{pfHb} = (1.672A_{415} - 0.836A_{450} - 0.836A_{380}) \times \frac{V_{\text{Plasma}}}{V_{\text{Na}_2\text{CO}_3}} \quad (1)$$

$$\text{NIH} = \text{pfHb} \times V \times \frac{100 - \text{Hct}}{100} \times \frac{100}{Q \times T} \quad (2)$$

式中: *A* 为吸光度; NIH 为溶血指数 (g/100 L); ΔpfHb 为样品采样时间间隔内游离血红蛋白浓度增加量 (g/L); *V* 为回路体积 (L); *Q* 为流量 (L/min); Hct 为红细胞压积 (%); *T* 为采样时间间隔 (min)。实验结果的差异性通过 *t* 检验进行分析。

1.4 vWF 抗原含量测定

将血液样品在 4 ℃ 以 4 200×*g* 离心 20 min,取上清液作为待测血浆样品。vWF 抗原含量 (vWF: Ag) 通过使用一种适用猪血浆的酶联免疫吸附实验 (Elisa) 试剂盒 (Enzyme linked immunosorbent assay kit, 南京建成生物工程研究所) 进行测定。实验原理为竞争法,首先向预先包被了抗体的酶标孔中加入待测样品和标准样品,再加入生物素标记的识别抗原,在 37 ℃ 下孵育 30 min,两者于固相抗体竞争结合形成免疫复合物。经磷酸盐吐温缓冲液洗涤酶标板除去未结合的生物素抗原,然后加入辣根过氧化物酶标记的亲素,再次孵育 30 min。亲素-HRP 与生物素抗原结合,洗涤后其所结合的 HRP 催化四甲基联氨苯成蓝色,随后在酸的作用下转化

为黄色,通过酶标仪在 450 nm 波长下测得吸光度。根据标准样品的浓度和吸光度使用 ELISAcac 软件在 logistic 曲线 (四参数) 的拟合模型下计算出标准曲线的回归方程,然后根据回归方程计算出各待测样品中的 vWF 抗原浓度,由于调节 Hct 的原因导致稀释倍数不同,两组 vWF: Ag 浓度不在同一水平,将 BPX-80 组初始样品与静置对照组初始样品的比值作为修正系数,使其稀释水平达到同一状态,通过 *t* 检验分析实验结果的差异性。

1.5 vWF 多聚体分子量分析

将血液样品在 4 ℃ 以 4 200 *g* 离心 7 min 取上清液,再将上清液在 4 ℃ 以 14 000 *g* 离心 15 min 以制备贫血小板血浆 (platelet poor plasma, PPP) 样品。使用 PPP 可以确保剪切力对 vWF 的任何潜在影响都不是来自细胞之间的相互作用。将 0.6% 琼脂糖凝胶 (V900510, Vetec 公司, 美国) 放入水平电泳槽 (18 cm×40.5 cm×9.4 cm/1 L/3.0 cm, Bio-Rad 公司, 美国) 中,加入 PPP 样品在 4 ℃ 下进行电泳。将初始电流设置为 30 mA, 30 min 后提高到 50 mA,直到染料最前端离出发点 10~12 cm 后停止电泳,总过程约 3.5 h。电泳结束后将琼脂糖凝胶上分离开来的 vWF 多聚体在湿法转印槽 (blotter, 12 cm×16 cm×18 cm/450 mL, Bio-Rad 公司, 美国) 中以 70 mA 恒定电流转印到聚偏氯乙烯膜 (PVDF, Beyotime 公司, 中国) 上,总实验在 4 ℃ 下持续 16 h。转印结束后,依次对 PVDF 膜进行一抗 (polyclonal rabbit anti-human von willebrand factor, DAKO 公司, 丹麦) 孵育、二抗 (anti-goat IgG HRP-linked antibody, Cell Signaling Technology 公司, 美国) 孵育以及化学发光试剂 (Cell Signaling Technology 公司, 美国) 反应。然后将 PVDF 膜放入 X 线片夹中,用保鲜膜覆盖后压上 3 张 X 线胶片,在暗室中曝光过夜。通过显影液和定影液 (源叶生物) 处理后得到 vWF 多聚体条带,最后利用 Image J 软件处理实验得到的样品 vWF 条带,选取高分子部分,得到每一个样品所对应的灰度值。该数值并不代表实际分子量,只是便于分析用灰度值来表示。每次实验结果通过的样品 vWF 多聚体高分子率来表示, vWF 多聚体高分子率越高,代表高分子 vWF 多聚体降解越少,反之则代表高分子 vWF 多聚体降解越多。vWF 多聚体高分子率的公式为:

$$\text{vWF 高分子多聚体率} = \frac{H_{\text{sample}}}{H_{\text{control}}} \times 100\% \quad (3)$$

式中: H_{sample} 是实验样品中高分子部分对应的条带灰度值; H_{control} 为初始控制样品即每组中0时刻样品中高分子多聚体部分对应的灰度值。实验结果的差异性通过 t 检验进行分析。

2 实验结果

2.1 溶血测试

从游离血红蛋白实验结果可以看出,BPX-80 血泵样品的游离血红蛋白浓度随时间呈线性增长,相关系数为 0.996,符合 ASTM 中的数据有效性要求,而静置对照组样品的游离血红蛋白浓度则随时间略有上升[见图 2(a)]。整个实验过程 8 h 内样品组和对照组有显著性差异($P=0.038$),但是从 NIH 计算结果可知,BPX-80 血泵在各个取样点的 NIH 均处于一个较低的水平,8 h 内平均值为 (0.288 ± 0.074) mg/L($n=2$),前期略有波动,随着时间的推移逐渐趋于一个稳定状态,表明该血泵的溶血性能良好,溶血程度在一个可以接受的范围之内[见图 2(b)]。

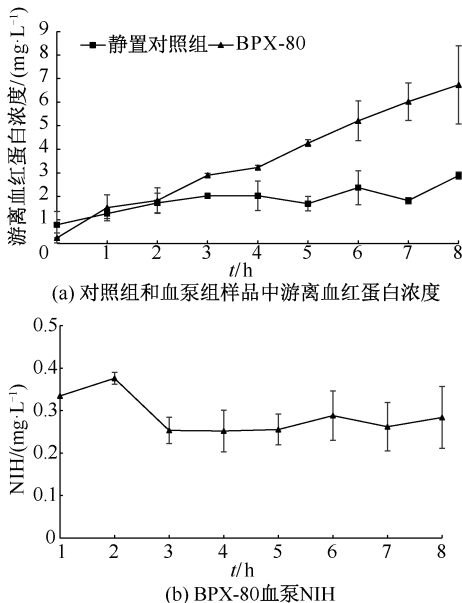


图2 溶血实验结果

Fig.2 Results of hemolysis experiment (a) Concentration of free hemoglobin in samples of control group and blood pump group, (b) NIH of BPX-80 blood pump

2.2 vWF 抗原 (vWF:Ag) 含量

vWF 抗原含量以各样品浓度来体现,修正后的

结果如图 3 所示。BPX-80 样品中 vWF:Ag 浓度在 0 h 时平均值呈最高水平,3 h 时间点的样品与 0 h 有显著性差异($P=0.017$)。除此之外,其他时间点样品的 vWF:Ag 浓度均与 0 h 样品无显著性差异,例如 0 h 与 4 h 样品, $P=0.535$;0 h 与 8 h 样品, $P=0.083$ 。因此,3 h 时间点样品数据偏差过大的问题很可能是由于实验操作误差所引起,血泵组样品中 vWF:Ag 浓度在整个实验过程 8 h 内趋于稳定。静置对照组样品中 vWF:Ag 浓度在 0 h 时达最高峰,1 h 开始有所下降,然后基本保持稳定至实验结束。通过显著性检测可知,8 h 时间点的样品与 0 h 有显著性差异($P=0.006$),而与 1 h 无显著性差异($P=0.210$)。

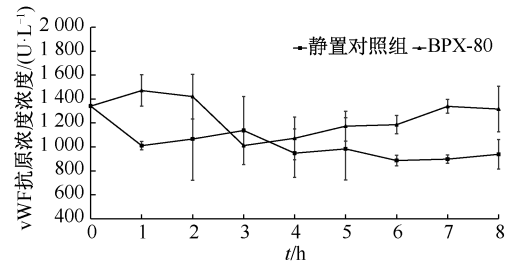


图3 对照组和血泵组样品中的 vWF:Ag 浓度

Fig.3 vWF:Ag concentration in samples from control group and blood pump group

2.3 HMW vWF 多聚体的降解

由用免疫印迹法得到 vWF 多聚体的条带分布结果可见,静置对照组中 vWF 的高分子量部分随测试时间的增加而有所减少,但是减少的幅度不大,趋势相对平缓,后期逐渐趋于稳定状态。与对照组相比,BPX-80 测试回路血样中的 vWF 高分子量部分随时间减少的趋势更为明显。这一现象在测试的前 5 h 表现得较突出,HMW vWF 多聚体呈梯度下降,之后逐渐趋于稳定(见图 4)。

用 Image J 软件对样品高分子部分进行分析获得其灰度值,通过式(3)进行计算得到 vWF 多聚体高分子率(见图 5)。可以看出,BPX-80 样品的 vWF 多聚体高分子率相对于对照组略低,但是通过 t 检验发现两组样品的差异性并不显著($P=0.061$),说明二者 HMW vWF 多聚体的降解趋势和降解程度均比较相似,血泵中的非生理性剪切力对其造成的机械损伤程度不大。

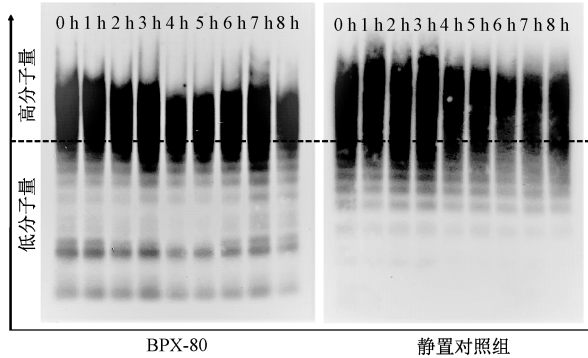


图4 对照组和血泵组样品中vWF多聚体条带分布(免疫印迹法)

Fig.4 vWF polymers in control and blood pump samples

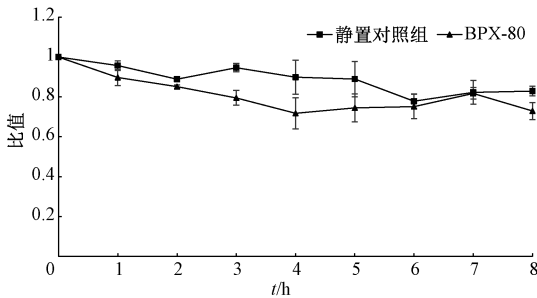


图5 各时间点样品中HMW vWF与0 h样品中HMW vWF的比值

Fig.5 Ratio of HMW vWF in samples at each time point to HMW vWF in samples at 0 h

3 讨论

美敦力公司BPX-80离心式血泵自投产以来,在安全性、稳定性和有效性方面都有不俗的表现,其溶血水平和不良事故发生率一直很低。因此,本文选择BPX-80离心泵作为标准参照泵,来建立一个标准化vWF损伤评价实验平台。目前,关于BPX-80血泵血液损伤评价指标仅限于其溶血性能,其对于其他血液成分如vWF的影响尚不明确。在使用新鲜猪血进行8 h体外循环模拟测试中,除了溶血性能外,本文新增增加了对vWF多聚体的损伤测试,成功将此按照ASTM建立的标准化体外溶血实验平台用于对vWF的损伤评价中。通过将BPX-80实验组样品与静置对照组的各个实验结果进行对比,在整个8 h内虽然实验组游离血红蛋白随时间上升,高于对照组水平,但是血泵的溶血指数较低,表示溶血程度在接受范围之内;在HMW vWF多聚体降解方面通过对vWF高分子率进行差异性分析

发现整个实验过程中BPX-80样品组与静置对照组无显著性差异;两组vWF:Ag含量变化趋势在整个实验过程中都处于一个较稳定的状态,实验结果显示BPX-80会对vWF造成一定程度的机械损伤,主要表现为HMW vWF多聚体的降解,在实验过程中vWF:Ag随时间变化不大,整体趋势较为稳定,与文献[19]中报道的现象一致,证明vWF的损伤主要是高分子量多聚体的降解,而不是vWF总量减少。总体来说,BPX-80血泵在此实验平台中在溶血和高分子vWF多聚体损伤方面有较好的表现,可以作为该实验平台的测试参照泵。

基于本研究的实验结果和规律,可以对vWF损伤评价中的一些具体实验条件进行规范和建议,包括实验时长和血液选择等,以提高对VAD评价结果的横向可比性。ASTM建议的体外溶血测试时长为6 h,本文研究表明,vWF的降解在实验开始后5~6 h内逐步趋于稳定。因此,建议vWF的损伤评价实验时长可以参照溶血测试控制在6 h,从而实现一平台两用。在实验血液的选择上,采用和人血性质比较接近的猪血,以求获得更好的临床相关性,但是本文所获得的猪血Hct较低且来源有限。文献中亦有选择牛血和羊血进行实验的报道。其中,牛血和人血相对接近,羊血的细胞膜相对较薄,更加容易破裂,可以根据实验的研究目的和获取血液的便利程度来综合选择最合适的实验血液。

本研究存在如下的一些局限性:①受实验条件的限制,一些实验参数的选取与ASTM标准化溶血实验的参数设置有所差别,例如Hct和血液总体积等。②BPX-80血泵工作点的选取有限,加上现阶段血泵都是一次性使用,成本较高,导致实验的重复次数有限。在后续研究中,计划选取更多的实验参数和工作点来进行多次重复实验,涵盖不同临床应用中所对应的工作点,希望可以获得更好的临床相关性。同时,尝试选择其他血液进行实验,例如因为最脆弱而能反映极端状况的羊血,也会增加对HMW vWF多聚体活性的评估实验。

4 结论

按照ASTM建立的标准化体外溶血实验平台同样可以用于评价VAD中非生理性剪切力对血液成分vWF的损伤。BPX-80离心泵经此平台测试证明

其血液相容性良好,可以作为一款在溶血和 vWF 多聚体损伤研究方面的标准参照泵提供评价基准。研究结果有助于建立 vWF 机械损伤的评价标准,对已经商品化和尚在研发中的离心泵的优化与设计提供参考,从而促进人工心脏领域的发展。

参考文献:

- [1] SLAUGHTER MS, ROGERS JG, MILANO CA, *et al.* Advanced heart failure treated with continuous-flow left ventricular assist device [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(23): 2241-2251.
- [2] THAMSEN B, GRANEGGER M, KERTZSCHER U. Blood damage in ventricular assist devices [J]. *Int J Artif Organs*, 2016, 39(4): 147-149.
- [3] 黄榕喻, 党维国, 陈琛, 等. 完全磁悬浮心室辅助装置的体外模拟循环系统实验研究[J]. *医用生物力学*, 2017, 32(2): 174-180.
HUANG ZY, DANG WG, CHEN C, *et al.* *In vitro* simulation experimental study of a fully magnetically levitated ventricular assist device based on mock circulatory system [J]. *J Med Biomech*, 2017, 32(2): 174-180.
- [4] CROW S, JOHN R, BOYLE A, *et al.* Gastrointestinal bleeding rates in recipients of nonpulsatile and pulsatile left ventricular assist devices [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, 137(1): 208-215.
- [5] TSAI HM. Shear stress and von Willebrand factor in health and disease [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2003, 29(5): 479-488.
- [6] NETUKA I, KVASNICKA T, KVASNICKA J, *et al.* Evaluation of von Willebrand factor with a fully magnetically levitated centrifugal continuous-flow left ventricular assist device in advanced heart failure [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2016, 35(7): 860-867.
- [7] HEILMANN C, GEISEN U, BEYERSDORF F, *et al.* Acquired von Willebrand syndrome in patients with ventricular assist device or total artificial heart [J]. *Thromb Haemost*, 2010, 103(5): 962-967.
- [8] SLAUGHTER MS, SOBIESKI MA, GRAHAM JD, *et al.* Platelet activation in heart failure patients supported by the HeartMate II ventricular assist device [J]. *Int J Artif Organs*, 2011, 34(6): 461-468.
- [9] FRASER KH, ZHANG T, TASKIN ME, *et al.* A quantitative comparison of mechanical blood damage parameters in rotary ventricular assist devices: Shear stress, exposure time and hemolysis index [J]. *J Biomech Eng*, 2012, 134(8): 081002.
- [10] NASCIMBENE A, NEELAMEGHAM S, FRAZIER OH, *et al.* Acquired von Willebrand syndrome associated with left ventricular assist device [J]. *Blood*, 2016, 127(25): 3133-3141
- [11] GERSON R, CHRISTOPHER AS, CHOON-SIK J, *et al.* Acquired von Willebrand syndrome and blood pump design [J]. *Artif Organs*, 2018, 42(12): 1119-1124.
- [12] GIRDHAR G, XENOS M, ALEMU Y, *et al.* Device thrombogenicity emulation: A novel method for optimizing mechanical circulatory support device thromboresistance [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e32463.
- [13] CROW S, CHEN D, MILANO C, *et al.* Acquired von Willebrand syndrome in continuous-flow ventricular assist device recipients [J]. *Ann Thorac Surg*, 2010, 90(4): 1263-1269.
- [14] BARTOLI CR, RESTLE DJ, ZHANG DM, *et al.* Pathologic von Willebrand factor degradation with a left ventricular assist device occurs via two distinct mechanisms: Mechanical demolition and enzymatic cleavage [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2015, 149(1): 281-289.
- [15] 刘思璐, 刘晓玲, 吴建华, 等. 流体剪应力作用下 VWF-A1A2A3 介导的血小板 P-选择素的原位表达 [J]. *医用生物力学*, 2017, 32(2): 188-193.
LIU SL, LIU XL, WU JH, *et al.* WF-A1A2A3-mediated expression of P-selectin in platelets under flow shear stress [J]. *J Med Biomech*, 2017, 32(2): 188-193.
- [16] SCHNEIDER SW, NUSCHELE S, WIXFORTH A, *et al.* Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(19): 7899-7903.
- [17] SELGRADE BP, TRUSKEY GA. Computational fluid dynamics analysis to determine shear stresses and rates in a centrifugal left ventricular assist device [J]. *Artif Organs*, 2012, 36(4): E89-96.
- [18] CHAN CH, ANDREW H, GRAHAM F, *et al.* Reevaluation of the harboe assay as a standardized method of assessment for the hemolytic performance of ventricular assist devices [J]. *Artif Organs*, 2012, 36(8): 724-730.
- [19] ADITYA B, URIEL N, COLOMBO PC, *et al.* Effects of a fully magnetically levitated centrifugal-flow or axial-flow left ventricular assist device on von Willebrand factor: A prospective multicenter clinical trial [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2019, 38(8): 806-816.