

# INDICE

<b>SOMMARIO</b> .....	1
-----------------------	---

<b>INTRODUZIONE</b> .....	2
---------------------------	---

## **CAPITOLO I**

### ***“IL SANGUE UMANO”***

1.1 Proprietà e caratteristiche .....	5
1.2 Emoreologia ed emofluidodinamica .....	11
1.3 La deformabilità degli eritrociti .....	25
1.4 La viscosimetria .....	29
1.4.1 Il viscosimetro capillare .....	30
1.4.2 Il viscosimetro a cilindri coassiali .....	33
1.4.3 Il viscosimetro “cono e piatto” .....	36
1.5 Analisi del legame Viscosità - Ematocrito: risultati sperimentali di letteratura .....	38

## **CAPITOLO II**

### ***“L’AUTOTRASFUSIONE”***

2.1 L’importanza dell’autotrasfusione .....	52
2.2 Vantaggi e svantaggi dell’autotrasfusione intraoperatoria .....	55
2.3 Le applicazioni cliniche .....	58
2.4 Le caratteristiche del sangue raccolto .....	59

2.5 I principi di funzionamento di un dispositivo	
per autotrasfusione intraoperatoria .....	62
2.5.1 La fase di raccolta .....	63
2.5.2 La fase di separazione e di concentrazione .....	66
2.5.3 La fase di lavaggio e di reinfusione .....	70

## **CAPITOLO III**

### ***“LE ANALISI FLUIDODINAMICHE”***

3.1 Le equazioni di bilancio .....	75
3.2 Il metodo dei volumi finiti .....	78
3.3 La realizzazione di un modello geometrico .....	79
3.4 La realizzazione di un modello fluidodinamico .....	81
3.4.1 Generazione delle griglie di superficie e di volume .....	82
3.4.2 Definizione del modello fluidodinamico .....	87

## **CAPITOLO IV**

### ***“LE PROVE NUMERICHE”***

4.1 Le simulazioni con il codice CFD sul dispositivo	
per autotrasfusione.....	96
4.1.1 Caratteristiche tecniche .....	97
4.1.2 Geometria e griglia di calcolo .....	98
4.1.3 Impostazione delle simulazioni .....	102
4.2 Analisi dei risultati numerici .....	107
4.2.1 Simulazioni in stato stazionario .....	109
4.2.2 Simulazioni in stato non stazionario .....	111

**CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI** ..... 119

Bibliografia ..... 122

Siti web ..... 126

## SOMMARIO

In un'epoca in cui la più sofisticata e moderna tecnologia si pone, in misura sempre più predominante, al servizio del settore ospedaliero ed i trapianti di organi sono divenuti all'ordine del giorno, non tutti hanno la cognizione che la trasfusione di sangue tra individui è la tipologia di trapianto avente maggiore frequenza.

La limitata disponibilità di sangue omologo, i costi che il suo trattamento comporta ed il rischio di trasmissione di malattie infettive sono solo alcuni degli aspetti che hanno reso la trasfusione di sangue autologo un'alternativa necessaria.

La storia dell'autotrasfusione prende il via agli albori dell'Ottocento, ad opera di un medico londinese con i suoi primi esperimenti sugli animali. Sebbene alcuni casi di autotrasfusione negli esseri umani risalgano agli ultimi decenni dell'Ottocento, la fase moderna di questa tecnica ha inizio solo nel 1960.

Attualmente, l'autotrasfusione è una procedura ampiamente accettata e utilizzata; inoltre, i moderni dispositivi possono fornire campioni di sangue autologo con proprietà differenti, permettendo così di far fronte alle più svariate condizioni di lavoro.

Questa tesi, avvalendosi di tecniche di simulazione numerica, si sofferma sul comportamento del flusso ematico all'interno di tali dispositivi e sugli effetti che determinate condizioni hanno sulla composizione del prodotto finale. Infatti l'autotrasfusione, pur utilizzando procedure di per sé consolidate, presenta ancora problematiche non facilmente risolvibili; ne è un esempio la complessa situazione derivante dall'impiego di diverse modalità di centrifugazione e di lavaggio.

# INTRODUZIONE

La terapia trasfusionale rappresenta un presidio terapeutico insostituibile a cui fare ricorso nei casi di necessità ed urgenza; ne sono un esempio la cura di gravi patologie e gli interventi chirurgici, in particolare nella cardiocirurgia e nei trapianti d'organo.

In Italia, a causa dell'alto rischio biologico legato al processo di trasfusione, quest'ultimo è stato oggetto di rigorose valutazioni che hanno portato allo sviluppo di tecniche alternative, come i metodi di trasfusione autologa e gli studi sul sangue artificiale.

La trasfusione di sangue autologo ha la medesima finalità di quella di sangue omologo, cioè garantire un'adeguata quantità di sangue in circolo e, dunque, un costante apporto di ossigeno ai tessuti; essa prevede che il sangue, prelevato dal soggetto, venga raccolto, processato per centrifugazione ed infuso nuovamente per la componente di interesse (tipicamente eritrociti concentrati) nello stesso individuo.

Il fulcro della tecnica è l'impiego di un contenitore, la *bowl*, cui è applicato un campo centrifugo; la bowl consente di separare i globuli rossi (le Red Blood Cells) dal plasma e di "lavarli" mediante un flusso di soluzione salina. Se la fase di separazione permette di raccogliere solamente le emazie, il lavaggio successivo porta alla completa rimozione dei componenti non desiderati come ad esempio piastrine e leucociti.

Lo scopo di questo lavoro di tesi è quello di fornire un quadro sulle problematiche legate alle fasi di concentrazione e di "lavaggio" e di studiare gli effetti, sulla qualità del sangue autologo processato, di differenti velocità di centrifugazione e portate di lavaggio.

I dispositivi attualmente in commercio sono il frutto di un'intensa e continua attività di ricerca e sviluppo, al fine di migliorarne la sicurezza e consentire modalità di funzionamento specifiche per ogni situazione.

Se, da un lato, i produttori raccomandano la modalità automatica, perché consente di ottenere ottimi risultati in termini di riduzione dell'emoglobina libera, delle piastrine, degli anticoagulanti e di alcuni fattori di infiammazione nel campione finale, dall'altro prende sempre più piede l'idea che aumentando la portata di lavaggio, cioè pompando la soluzione salina più velocemente nella

bowl, si riduce l'intervallo di tempo dedicato a tale fase e si rende così la procedura più veloce.

Questo aspetto, pur essendo fondamentale in condizioni di estrema gravità ed urgenza, presenta problematiche non ancora risolte.

Il presente lavoro si propone di analizzare il comportamento del flusso ematico all'interno della bowl, al variare della velocità di centrifugazione e della portata di lavaggio, avvalendosi della **Fluidodinamica Computazionale (CFD)**, branca della modellistica numerica atta a risolvere problemi governati da equazioni fluidodinamiche.

Lo sviluppo di tecniche computazionali nel campo della fluidodinamica, unito all'aumento delle prestazioni dei calcolatori, ha trovato un promettente campo di applicazione nella comprensione del funzionamento e nella progettazione di dispositivi per processare il sangue raccolto. Uno dei benefici a cui portano tali tecniche è la possibilità di fare simulazioni a basso costo e in condizioni completamente controllate.

Una dettagliata comprensione del comportamento del flusso ematico per tutta la durata della procedura nell'intero sistema è attualmente possibile mediante CFD.

Gli steps seguiti durante l'elaborazione di questo progetto prevedono:

- ✓ La comprensione delle proprietà e delle caratteristiche del sangue umano;
- ✓ Lo studio della tecnica di autotrasfusione e l'analisi dei dispositivi in commercio, avvalendosi del contributo professionale del Servizio di Ricerca & Sviluppo di *Sorin Group Italia S.r.l.*;
- ✓ La scelta e la descrizione della tecnica di simulazione numerica, applicata al dispositivo *bowl-225-xtra*;
- ✓ Lo svolgimento delle prove numeriche e l'analisi dei risultati conseguiti.

Alcune conclusioni completano il lavoro.

# I

## IL SANGUE UMANO

*Una completa comprensione delle caratteristiche fisiche e, in particolare, reologiche del sangue è essenziale per sviluppare nuove competenze nel campo dell'emodinamica e in quello cardiovascolare.*

*Nel corso degli ultimi anni, le indagini sul comportamento fluidodinamico e reologico del sangue ed i risultati riportati hanno consentito un crescente sviluppo in diverse aree biomediche, rendendo possibile la realizzazione di strumenti sempre più accurati e all'avanguardia, come i sistemi di circolazione extracorporea oppure di autotrasfusione; i risultati conseguiti in tali settori costituiscono, inoltre, il punto di partenza per l'analisi del flusso ematico attraverso i dispositivi stessi, fondamentale per ottimizzarne il loro funzionamento.*

*Il presente capitolo si propone di illustrare le principali proprietà del sangue e la marcata dipendenza del suo comportamento reologico da alcuni fattori, in particolare la concentrazione della parte corpuscolata e la velocità di deformazione che caratterizza il flusso.*

## 1.1 PROPRIETÀ E CARATTERISTICHE

Il sangue è un tessuto biologico allo stato fluido, in cui si distinguono molteplici tipi di cellule con compiti e caratteristiche differenti.

La funzione più importante del sangue è quella di distribuire ossigeno ai tessuti e restituire anidride carbonica ai polmoni. Esso, inoltre, trasporta e distribuisce a tutti gli organi e tessuti del corpo le sostanze necessarie alle diverse attività metaboliche cellulari e rimuove i prodotti di rifiuto del metabolismo.

Oltre al trasporto dei gas respiratori, delle sostanze nutritive e dei metaboliti, svolge importanti funzioni nel mantenimento delle caratteristiche chimico-fisiche dell'ambiente interno. Ne sono un esempio:

- i. **la regolazione del PH e la composizione elettrolitica** dei liquidi interstiziali;
- ii. **la riduzione di perdite liquide** dovute al danneggiamento di vasi o tessuti. Le reazioni di coagulazione bloccano le interruzioni nelle pareti vascolari, prevenendo così le alterazioni del volume ematico e i danni alla funzione cardiovascolare;
- iii. **la difesa del corpo da agenti biologici esterni** tramite gli anticorpi ed i globuli bianchi che migrano nei tessuti infetti per distruggere in loco le cause di infezione;
- iv. **la termoregolazione** mantenendo costante la temperatura nelle diverse parti del corpo.

Il sangue è una sospensione costituita da una fase acquosa continua, il **plasma**, contenente numerose molecole inorganiche dal basso peso molecolare e circa l'8% in peso di proteine (Bell et al.,1961), principali fra esse il *fibrinogeno*, la *globulina* e l'*albumina*, e da una fase solida discreta, i cosiddetti **elementi figurati**, in cui si distinguono i *globuli rossi* (o *eritrociti*), i *globuli bianchi* (o *leucociti*) e le *piastrine*, oltre ad alcune particelle liquide (i cosiddetti *chilomicroni*).

Il plasma umano ha densità relativa (con riferimento alla densità dell'acqua) pari a 1.035 (Merrill et al., 1961) e, assumendone un



comportamento newtoniano, viscosità che varia nel range 1.1÷1.6 centipoise<sup>1</sup>; pur essendo costituito dal 90% di acqua, presenta una maggiore viscosità rispetto ad essa, nelle medesime condizioni di temperatura, a causa dell'effetto delle proteine in esso disciolte.

La Tabella 1.1 riporta la composizione media del plasma.

Componente materiale	Concentrazione (g/ 100 ml)	Peso molecolare x 10 <sup>-3</sup>	Dimensioni delle Molecole (nm)
<i>Acqua</i>	90 - 92		
<i>Proteine</i>			
Albumina	3,3 – 4,0	69	15 x 4
Globuline α1 (incluse le lipoproteine)	0,31 – 0,32	44 – 200	
Globuline α2 (incluse le lipoproteine)	0,48 – 0,52	150 – 300	
Globuline β (incluse le lipoproteine)	0,78 – 0,81	90 – 1300	20 – 50
Globuline γ	0,66 – 0,74	160 – 320	23 x 4
Fibrinogeno	0,34 – 0,43	400	50 – 60 x 3 - 8
<i>Costituenti inorganici</i>			
<i>Cationi</i>			
Na+	0,31 – 0,34		
K+	0,016 – 0,021		
Ca <sup>++</sup>	0,009 – 0,011		
Mg <sup>++</sup>	0,002 – 0,003		
<i>Anioni</i>			
Cl <sup>-</sup>	0,36 – 0,39		
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,20 – 0,24		
Fosfati	0,003 – 0,004		

**Tabella 1.1: Costituenti del plasma (dati ottenuti da Caspary & Kekwick (Macfarlane, 1960); Hall et al., 1959; Bell et al., 1961; Haurowitz, 1961; Phelps et al., 1960 e Foster, 1960).**

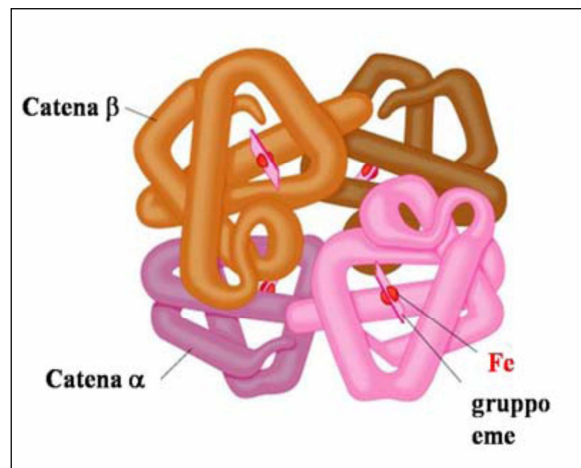
Per lo studio della fluidodinamica e della reologia del sangue i componenti cellulari di maggiore importanza sono gli eritrociti, in virtù della loro forte concentrazione. I globuli rossi, infatti, rappresentano mediamente il 40%-50% del volume totale e, per ogni mm<sup>3</sup>, ne sono presenti circa 5 milioni. Tale quantità è decisamente superiore a quella dei globuli bianchi, presenti nella misura di circa uno ogni mille eritrociti e delle piastrine (circa 50-100

<sup>1</sup> L'unità di misura della viscosità nel S.I. è [N s/m<sup>2</sup>], spesso indicata come [Pa s]. Tuttavia, ancora oggi è accettato l'uso dell'unità [cP] (centipoise), sottomultiplo dell'unità di misura della viscosità nel sistema c.g.s. (1 cP = 10<sup>-3</sup> Pa s).

ogni mille globuli rossi).

I globuli rossi sono specializzati nella funzione di trasporto dell'ossigeno, compito che esplicano attraverso l'*emoglobina*, una proteina composta da 4 catene polipeptidiche (due catene  $\alpha$  e due catene  $\beta$ ), ognuna delle quali possiede un gruppo prostetico definito *eme* (Figura 1.1); quest'ultimo, contenente l'atomo di ferro, può legarsi ad una molecola di ossigeno o di anidride carbonica a seconda del pH dell'ambiente circostante.

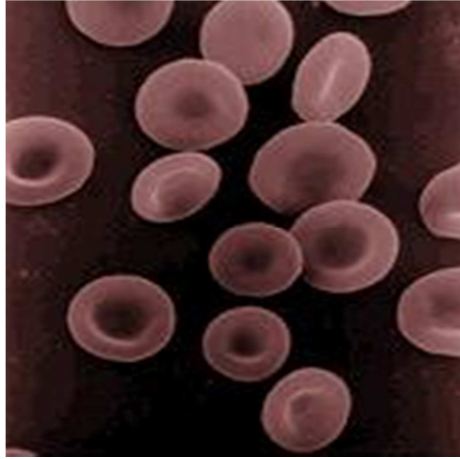
La capacità dell'emoglobina di legarsi all'ossigeno è reversibile e la sua presenza è fondamentale dal momento che permette il trasporto di una quantità di ossigeno maggiore rispetto al plasma, consentendo così di superare la limitata solubilità dell'ossigeno nell'acqua.



**Figura 1.1: Emoglobina.**

In condizioni normali, l'emoglobina è presente nella percentuale di 15 g ogni 100 ml di sangue ed è il ferro contenuto nell'eme a conferire la caratteristica colorazione rossa.

I globuli rossi si formano nel midollo osseo, a partire da cellule progenitrici e attraverso un lungo processo di divisione e di differenziamento cellulare.



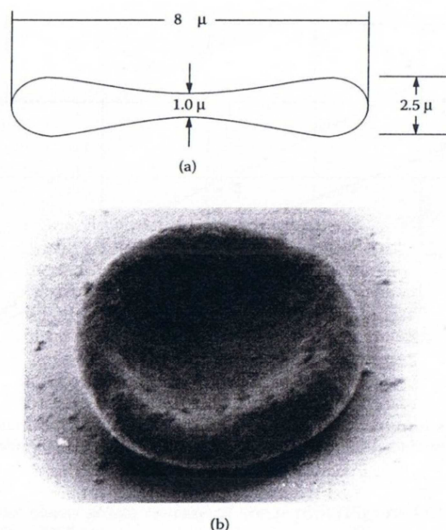
**Figura 1.2: Globuli rossi.**

La loro vita media è di circa 120 giorni, di conseguenza lo 0.8% del numero complessivo di eritrociti viene distrutto e formato ogni giorno. Molto probabilmente tale fenomeno si verifica perché i globuli rossi diventano più fragili con l'età e, di conseguenza, vengono distrutti per frammentazione o per fagocitosi da parte di cellule specializzate come i globuli bianchi. Il processo di frammentazione si verifica principalmente nella microcircolazione dove le RBCs sono sottoposte a valori più elevati delle tensioni tangenziali.

I globuli rossi maturi sono privi di nucleo e di organelli citoplasmatici per la sintesi proteica e sono dotati di una membrana plasmatica che racchiude l'emoglobina ed un numero limitato di enzimi, necessari per il mantenimento dell'integrità della membrana stessa e per la funzione di trasporto dei gas.

La membrana, essendo sottile e flessibile, consente loro di deformarsi e di attraversare capillari di diametro inferiore a 5  $\mu\text{m}$ .

Hanno forma simile ad un disco biconcavo con diametro medio di 7.5  $\mu\text{m}$ , spessore di 3  $\mu\text{m}$  e densità di 1090  $\text{kg}/\text{m}^3$  (Figura 1.3). La forma caratteristica con una depressione al centro, dovuta alla perdita del nucleo, aumenta il rapporto superficie/volume e migliora l'efficienza degli scambi gassosi.



**Figura 1.3: a) Forma biconcava e dimensioni di un eritrocita umano;  
b) Immagine da microscopio elettronico a scansione ingrandita x 13000  
(Chandran, Yoganathan, Rittgers, 2006).**

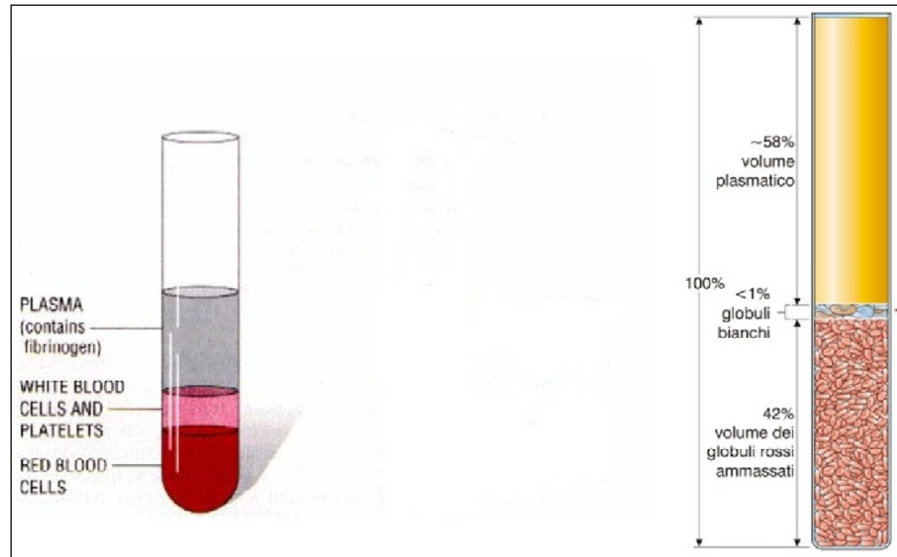
L'indagine relativa alle diverse caratteristiche delle componenti ematiche richiede, prima di tutto, il frazionamento del sangue intero nei suoi singoli elementi costitutivi. Ciò si ottiene inducendo la sedimentazione delle particelle sospese per effetto gravitazionale o per effetto centrifugo. In entrambi i casi il fenomeno di separazione si basa sulla densità delle particelle, di conseguenza eritrociti, leucociti, piastrine e plasma si stratificano in modo diverso in virtù dei loro valori di densità.

La Figura 1.4 mostra il risultato del processo di frazionamento e la diversa distribuzione dei componenti all'interno del campione. In particolare, i globuli rossi, caratterizzati da una maggiore densità, si accumulano sul fondo della provetta, i leucociti e le piastrine, a loro volta meno densi, formano uno strato al di sopra degli eritrociti, mentre il plasma si deposita in superficie.

La concentrazione volumetrica dei globuli rossi nel sangue è normalmente espressa in termini di *ematocrito*. Occorre precisare che, a valle del processo di separazione, gli eritrociti contengono ancora una frazione pari all'1%-2% di plasma, che andrebbe sottratta dal valore di ematocrito ottenuto (Ponder, 1966).

Per evitare il meccanismo di coagulazione che si innesca in seguito alla rimozione del sangue da un organismo vivente, è necessario aggiungere un anticoagulante che, a sua volta, diluisce il sangue modificando in qualche

misura la viscosità del plasma e riducendo l'ematocrito. Il sangue intero, in un adulto fisiologicamente sano, è costituito dal 55%-58% di plasma e dal 45%-42% di elementi figurati.



**Figura 1.4: Campione di sangue dopo la centrifugazione.**

Per completezza e per gli obiettivi del presente lavoro, è opportuno introdurre anche la densità del sangue intero; quest'ultima è funzione dell'ematocrito e, come per i liquidi e le sospensioni ordinarie, è in prima approssimazione indipendente dalla temperatura e dalla pressione del fluido. Il legame tra la densità del sangue intero e l'ematocrito è fornito dalla relazione:

$$\rho_s = (1 - \text{HCT}) \rho_p + \text{HCT} \rho_{gr} \quad (1.1)$$

in cui  $\rho_p$  indica la densità del plasma e, in condizioni normali, è mediamente  $1035 \text{ kg/m}^3$ ,  $\rho_{gr}$  è la densità della parte corpuscolata pari a  $1090 \text{ kg/m}^3$  e HCT è l'ematocrito. Ne consegue che il sangue di un soggetto adulto con HCT pari al 45% ha densità,  $\rho_s$ , di circa  $1060 \text{ kg/m}^3$ .

## 1.2 EMOREOLOGIA ED EMOFLUIDODINAMICA

Le caratteristiche dei diversi componenti (forma, densità, deformabilità, ecc.), la particolare composizione del plasma e, come si vedrà in seguito, la propensione dei globuli rossi ad aggregarsi sono solamente alcuni degli aspetti che permettono di intuire quanto sia estremamente complesso il comportamento reologico e fluidodinamico del sangue.

La reologia è la disciplina che si occupa di studiare il legame esistente, per un dato materiale, tra lo stato di sollecitazione e quello di deformazione e, per il caso specifico dei fluidi, tra la sollecitazione e il conseguente scorrimento.

Analiticamente ed in forma generale, tale legame (chiamato “*legge reologica*” o “*legame costitutivo meccanico*”) è espresso mediante la relazione seguente:

$$\mathbf{T} = f(\mathbf{D}) \quad (1.2)$$

in cui  $\mathbf{T}$  è il tensore delle tensioni e  $\mathbf{D}$  il tensore delle deformazioni (per una completa definizione di dette grandezze si rimanda ad un testo di base di Meccanica dei Fluidi).

In particolare, nel caso di fluidi newtoniani, l'espressione precedente si specifica come segue:

$$\tau = \mu \frac{\partial v}{\partial y} \quad (1.3)$$

dove  $\tau$  indica lo sforzo tangenziale che genera lo scorrimento,  $v$  è la velocità del moto generato da detta sollecitazione,  $y$  rappresenta la direzione normale alla direzione di  $v$  e  $\mu$  è la viscosità dinamica del fluido in esame. La grandezza  $\frac{\partial v}{\partial y}$ , anche indicata con  $\dot{\gamma}$ , è denominata velocità di deformazione (o con l'espressione anglosassone “*shear rate*”).

L'equazione (1.3) evidenzia che, in un fluido newtoniano, lo sforzo tangenziale è direttamente proporzionale alla velocità di deformazione e che la costante di

proporzionalità è proprio la viscosità dinamica; quest'ultima è una proprietà termofisica del fluido, indipendente dalla velocità di deformazione.

Un fluido non newtoniano, a sua volta, può essere descritto dalla legge reologica (1.3) espressa in termini di viscosità apparente  $\mu_a$ :

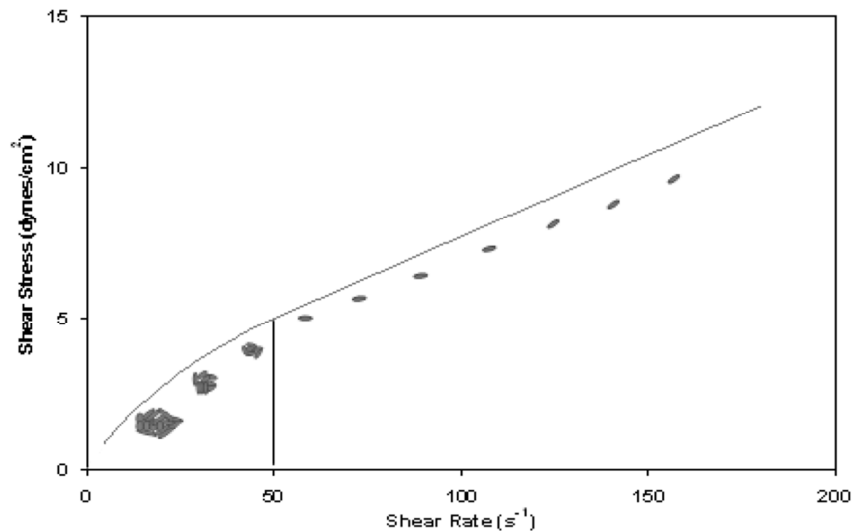
$$\tau = \mu_a f \left( \frac{\partial v}{\partial y} \right) \quad (1.4)$$

La viscosità apparente non è più costante, ma dipende dal campo di moto; di conseguenza, per un fluido non newtoniano, il legame costitutivo è, in generale, non lineare.

L'emoreologia, in particolare, si occupa della reologia del fluido "*sangue*" ed è l'argomento principe del presente paragrafo. E' opportuno evidenziare sin da ora che il tema è estremamente complesso, soprattutto in relazione alla particolare composizione del sangue. Nel seguito, si tenta di inquadrare nel modo più semplice possibile alcuni degli aspetti fondamentali della reologia del sangue, prestando attenzione a quelli di interesse per il presente lavoro.

La risposta reologica del sangue è una diretta conseguenza della presenza degli eritrociti, particelle deformabili e caratterizzate da un'elevata propensione a formare aggregati, spesso indicati con l'espressione "*rouleaux*".

In generale, si può affermare che quanto più i rouleaux si disgregano ed i globuli rossi si deformano, tanto più il comportamento reologico del sangue approssima quello di un fluido newtoniano; al tempo stesso, l'entità della dispersione degli aggregati cellulari e della deformazione delle singole cellule cresce all'aumentare del gradiente di velocità che caratterizza il campo di moto con cui le particelle interagiscono. Questo particolare comportamento degli eritrociti al variare dello shear rate è ben illustrato in Figura 1.5, in cui si nota che, al crescere della velocità di deformazione, il numero medio di emazie in ogni aggregato si riduce progressivamente fino alla completa frammentazione dei rouleaux nelle singole cellule.

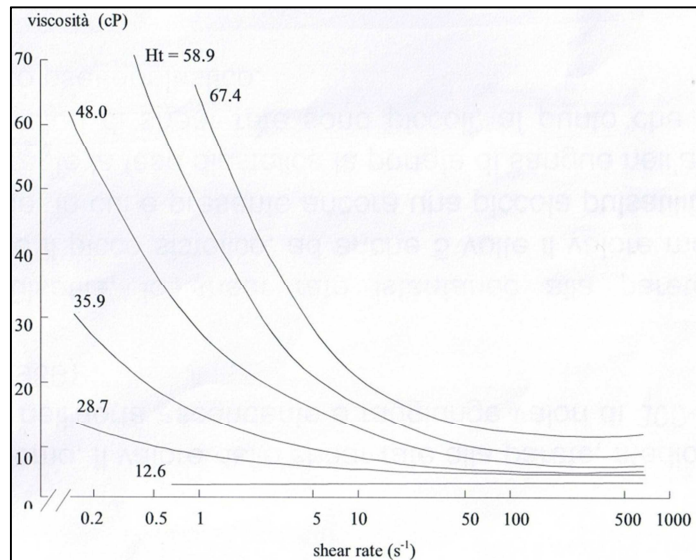


**Figura 1.5: Equilibrio dinamico tra la dimensione degli aggregati cellulari e la tensione tangenziale applicata (Mazumdar, 1998).**

L'esame delle proprietà ematiche al variare della velocità di deformazione consente, quindi, di evidenziare le condizioni necessarie affinché il sangue si comporti come un fluido newtoniano.

La Figura 1.6 riporta i risultati di uno studio, svolto su campioni di sangue alla temperatura costante di 25°C e al variare dell'ematocrito, in cui si misura la viscosità in funzione dello shear rate. I dati mostrano che, a prescindere dall'ematocrito, per valori della velocità di deformazione superiori a 100 s<sup>-1</sup>, la viscosità risulta pressoché indipendente dal gradiente di velocità, comportamento proprio di un fluido newtoniano. E' interessante osservare, nel merito, che valori di shear rate di tale ordine di grandezza si realizzano normalmente nella macrocircolazione.





**Figura 1.6: Andamento della viscosità del sangue vs shear-rate al variare dell'ematocrito alla temperatura di 25°C.**

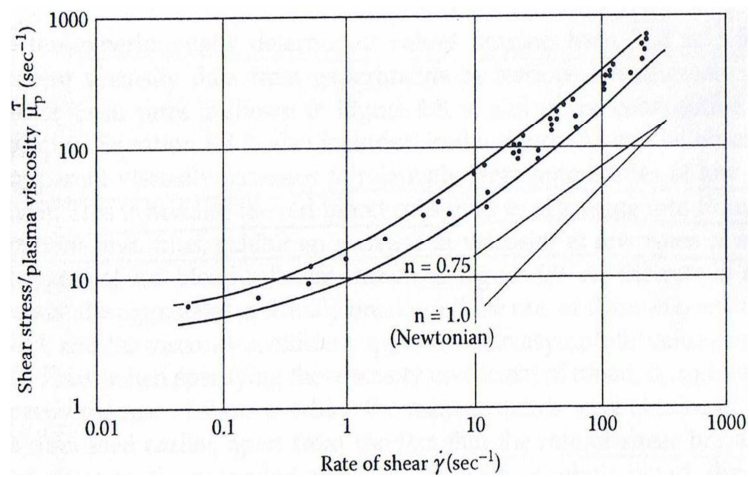
A più basse velocità di deformazione, invece, la viscosità del sangue è estremamente sensibile al decremento delle forze di deformazione, fenomeno tipico dei fluidi pseudoplastici.

L'anomalia nel comportamento reologico a shear rate minori di 100 s<sup>-1</sup> si verifica, in particolar modo, per valori di ematocrito maggiori del 12% (Figura 1.6) e può essere compresa assumendo che il sangue si comporti come un sistema strutturato debole, per cui all'aumentare della velocità di deformazione, il materiale si destruttura riducendo la sua viscosità. In particolare, avvalendosi di un viscosimetro di tipo "cono-piatto" e di un microscopio, è possibile osservare che la lunghezza media degli aggregati si riduce al crescere della velocità di deformazione; per effetto delle azioni normali e tangenziali cui sono soggetti, i rouleaux si frammentano gradualmente fino a scomparire, con conseguente diminuzione della viscosità apparente.

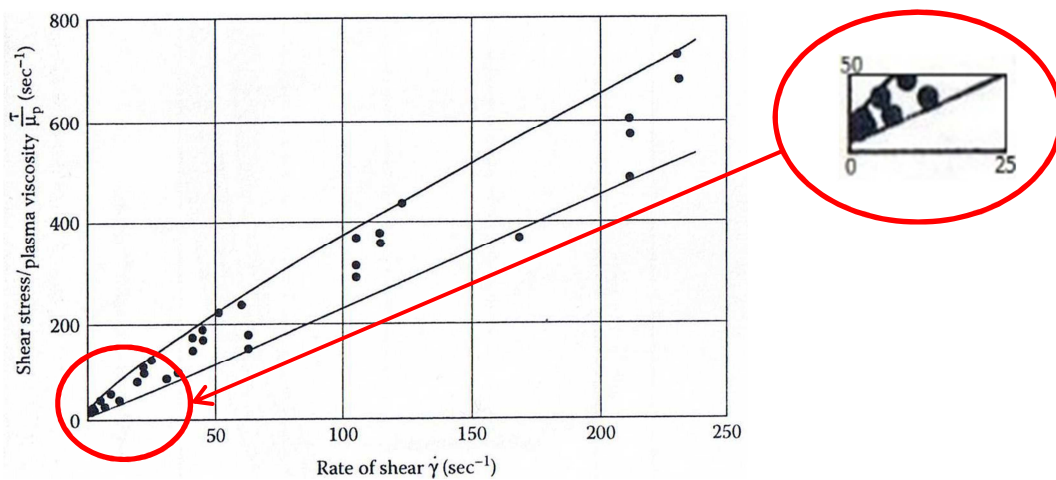
Tali osservazioni sottolineano, dunque, che il carattere non newtoniano del sangue, per valori sufficientemente bassi della velocità tangenziale, si deve in parte alla formazione di sequenze di eritrociti che aderiscono l'uno all'altro e che, essendo di dimensioni maggiori, causano, dal punto di vista macroscopico, un aumento della viscosità.

La presenza di una microstruttura, se pur debole, viene associata ad uno *yield stress*, cioè ad uno sforzo minimo richiesto per mettere in moto il liquido. I fluidi newtoniani, ad esempio, non possiedono una tensione critica e appena si applica loro una forza, per quanto minima, iniziano a muoversi.

Curve reologiche della tensione tangenziale in funzione della velocità di deformazione, sperimentalmente ottenute da autori diversi, evidenziano sia il comportamento non newtoniano, in particolare a basse velocità di deformazione che l'esistenza di una tensione critica. Ne sono un esempio i risultati conseguiti da Whitmore (1968) e riportati nelle figure 1.7 e 1.8.

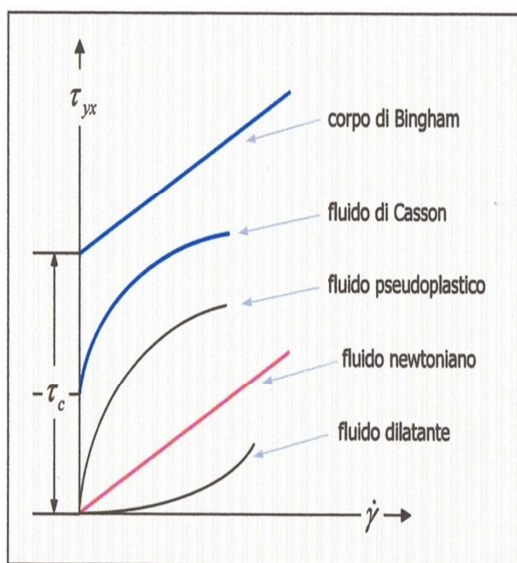


**Figura 1.7: Curva reologica tensione tangenziale (rapportata alla viscosità del plasma) vs velocità di deformazione in scala logaritmica, ottenuta a partire da risultati sperimentali (Whitmore, 1968).**

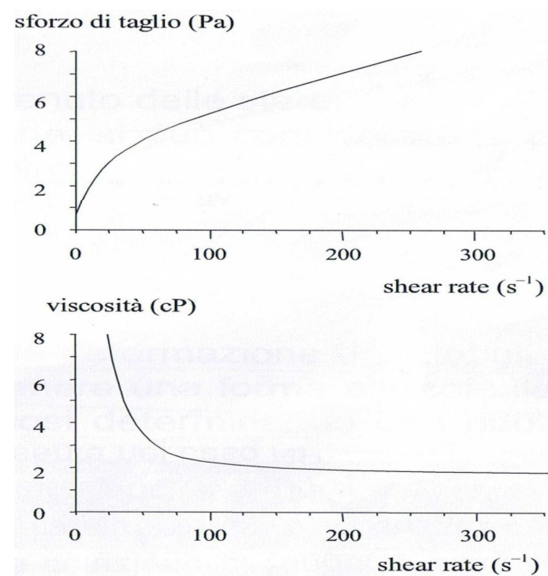


**Figura 1.8: Curva reologica tensione tangenziale (rapportata alla viscosità del plasma) vs velocità di deformazione (Whitmore, 1968).**

In particolare, come mostrato anche dalle indagini di Whitmore (1968), il sangue presenta una curva sforzo-velocità tangenziale simile a quella dei fluidi di Casson, i quali, dopo il superamento di una tensione critica,  $\tau_c$ , presentano una riduzione della viscosità all'aumentare del gradiente di velocità. Questo aspetto risulta più chiaro se si confrontano fra loro la Figura 1.9, che offre una rappresentazione dell'andamento della sollecitazione di taglio in funzione della velocità di deformazione per diversi tipi di fluido e la Figura 1.10 che mostra, in particolare, il comportamento del sangue.



**Figura 1.9: Andamento della sollecitazione di taglio,  $\tau$ , in funzione della velocità di deformazione,  $\dot{\gamma}$ , per diversi tipi di fluido.**



**Figura 1.10: Andamento  $\tau$ - $\dot{\gamma}$  e  $\mu$ - $\dot{\gamma}$  del sangue.**

Il modello di Casson è, di norma, descritto dall'equazione empirica:

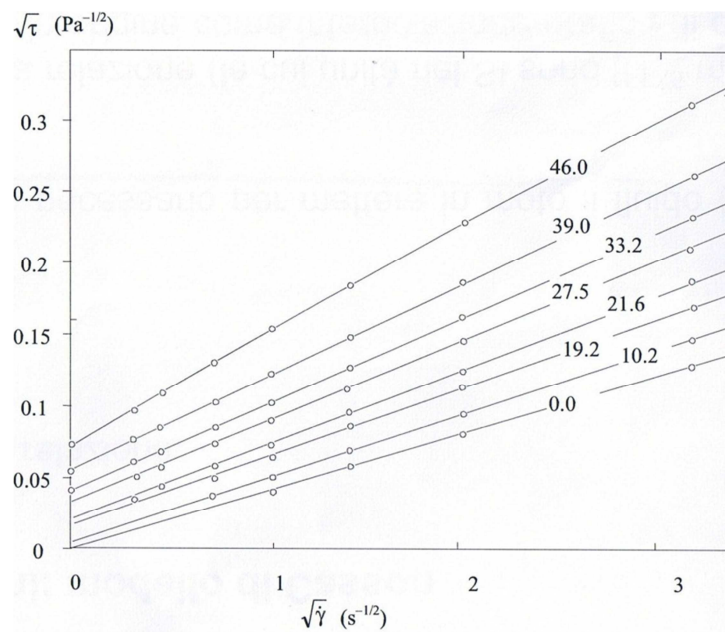
$$\tau^{\frac{1}{2}} = \tau_c^{\frac{1}{2}} + s\dot{\gamma}^{\frac{1}{2}} \quad (1.5)$$

La peculiare forma analitica di questa relazione deriva dal fatto che essa fu ottenuta in origine come interpolazione grafica di dati sperimentali.

Risultati di test sperimentali (Figura 1.11), ottenuti con campioni di sangue a differente ematocrito mantenuti ad una temperatura costante di 25°C, permettono di particularizzare la (1.5) nella forma seguente:

$$\tau^{\frac{1}{2}} = \tau_c^{\frac{1}{2}} + \mu_s^{\frac{1}{2}} \dot{\gamma}^{\frac{1}{2}} \quad (1.6)$$

in cui si indica con  $\mu_s$  un parametro del fluido che ha le dimensioni di una viscosità e che è definita viscosità di Casson.



**Figura 1.11: Rappresentazione con il modello di Casson dell'equazione costitutiva del sangue al variare dell'ematocrito alla temperatura di 25°C.**

Merrill et al. (1963, 1964) hanno proposto una relazione che fa dipendere la tensione critica  $\tau_c$  dall'eccesso di ematocrito  $H$  rispetto ad un valore di soglia  $H_c$  che si aggira intorno al 5%:

$$\tau_c = A(H - H_c)^3 \quad (1.7)$$

con  $A$  costante che assume valori nell'intervallo (0.02÷0.1) N/m<sup>2</sup>. Per valori di ematocrito intorno al 45%, l'espressione (1.7) predice valori di  $\tau_c$  che cadono approssimativamente nell'intervallo (0.001÷0.006) N/m<sup>2</sup>.

I valori predetti dalla relazione di Merrill sono, tuttavia, strettamente legati al tipo di viscosimetro utilizzato. Charm et al. (1965) hanno evidenziato che, se si utilizzano strumenti di misura diversi, si ottengono valori di  $\tau_c$  che possono variare da zero a 0.014 N/m<sup>2</sup>. Il problema è di difficile soluzione perché il particolare comportamento del sangue deriva dalla natura del sistema materiale, costituito da una sospensione di particelle deformabili in una matrice fluida a comportamento pressoché newtoniano. Il pattern assunto dalle particelle sospese dipende dalla struttura del campo di moto e, quindi, dal tipo di viscosimetro utilizzato.

Sebbene i risultati siano soggetti ad un qualche grado di incertezza, l'esistenza di una tensione critica non va messa in discussione. Infatti, come già precisato, i globuli rossi, in quiete, tendono ad aggregarsi formando una struttura interconnessa ed è quindi ragionevole assumere che la tensione superi un valore di soglia affinché tale struttura venga spezzata. Inoltre la presenza di una sforzo minimo si è rivelata fondamentale per mantenere in movimento il sangue nelle zone periferiche (microcircolo).

Nell'ambito del lavoro di questa tesi la risposta reologica del sangue può essere considerata newtoniana. Nel seguito vengono approfonditi gli aspetti inerenti alle condizioni che influenzano la sua viscosità.

La viscosità del sangue intero, i cui valori variano generalmente nel range 0.003÷0.006 Pa s (3÷6 cP), presenta una marcata dipendenza dalla viscosità del plasma, a sua volta legata alla temperatura e alla sua composizione proteica e dal comportamento della parte corpuscolata.

Come già detto, l'intervallo di valori accettato per la viscosità del plasma è 1.1÷1.6 cP, anche se variazioni della temperatura o della composizione proteica possono avere un'influenza significativa. Alcuni studi condotti da Merrill et al. (1963) hanno mostrato che, innalzando la temperatura di 1°C nel range compreso tra 25°C÷37°C, si verifica una riduzione del 2%-3% della viscosità.

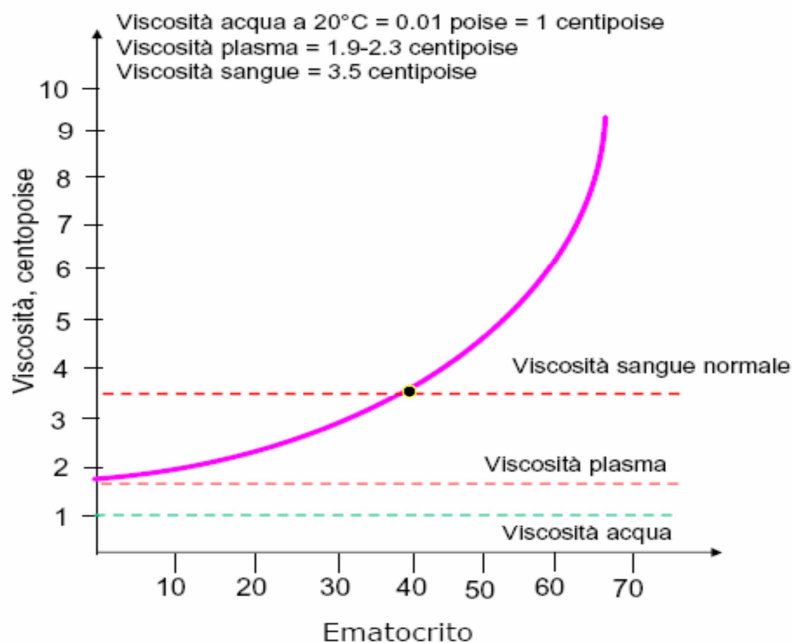
È bene precisare che non vi è un consenso unanime sul carattere newtoniano del plasma, dal momento che misure effettuate con diversi tipi di viscosimetro hanno fornito risultati contraddittori (Charm et al., 1962; Bugliarello et al., 1965). Nel presente lavoro, si assume il plasma come un fluido newtoniano con una viscosità costante alla temperatura di 37°C.

I globuli rossi, al contrario di leucociti e piastrine, giocano un ruolo determinante per le proprietà reologiche del sangue. Tre principali fattori influenzano fortemente la viscosità:

- **la frazione volumetrica:** un aumento della frazione volumetrica di eritrociti comporta un incremento della viscosità della sospensione;
- **la formazione di rouleaux:** la propensione dei globuli rossi ad aggregarsi causa un aumento della viscosità del sangue;
- **la deformabilità delle cellule:** nelle sospensioni la viscosità aumenta con il diminuire della deformabilità dei globuli rossi (Schmid-Schonbein et al., 1969; Chien, 1977).

La Figura 1.12 mostra la relazione, non lineare, che vige tra la frazione volumetrica e la viscosità dinamica, la quale cresce rapidamente per valori di ematocrito maggiori del 45%.

L'analisi dell'influenza dell'ematocrito sulle caratteristiche reologiche del sangue è oggetto dei prossimi paragrafi.



**Figura 1.12: Effetto dell'ematocrito sulla viscosità del sangue.**

La viscosità del sangue intero dipende, quindi, dal delicato equilibrio di molteplici fattori che interagiscono tra loro in maniera complessa. Numerosi studi sono stati condotti al fine di formulare un modello, valido e capace di includere tali dipendenze, per il calcolo della viscosità del sangue.

In letteratura sono presenti diversi modelli che possono essere adottati, più o meno giustificatamente, per la determinazione della viscosità del sangue.

Einstein, per esempio, sviluppò nel 1906 un modello analitico per il calcolo della viscosità di una sospensione di particelle sferiche in un fluido omogeneo. Ipotizzando una bassa concentrazione delle particelle e, quindi, l'assenza di interazioni tra esse, ottenne la seguente espressione per la viscosità:

$$\mu_{\text{sospensione}} = \mu_{\text{fluido}} \frac{1}{1 - 2.5c} \quad (1.8)$$

in cui  $\mu_{\text{sospensione}}$  è la viscosità della sospensione,  $\mu_{\text{fluido}}$  la viscosità del fluido e  $c$  la concentrazione volumetrica delle particelle. Nell'ambito di questo lavoro, la sospensione è il sangue mentre il fluido omogeneo è il plasma, quindi  $\mu_{\text{sospensione}} = \mu_s$  e  $\mu_{\text{fluido}} = \mu_p$ .

Successivamente, per tenere conto della morfologia delle particelle, Jeffery (1922) incluse nella relazione un fattore di forma geometrico,  $b$ , come misura della deviazione dal comportamento sferico:

$$\mu_{\text{sospensione}} = \mu_{\text{fluido}} \frac{1 + c}{1 - b c} \quad (1.9)$$

È importante osservare che tali relazioni, oltre ai limiti intrinseci di applicabilità (rispettivamente:  $c < 0.4$  e  $c < 1/b$ ), non possono essere applicate al sangue proprio per le elevate concentrazioni della parte corpuscolata e, di conseguenza, per la marcata interazione tra le particelle sospese.

Spesso, per calcoli approssimativi della viscosità del sangue, viene utilizzata la formula semplificata di Bull:

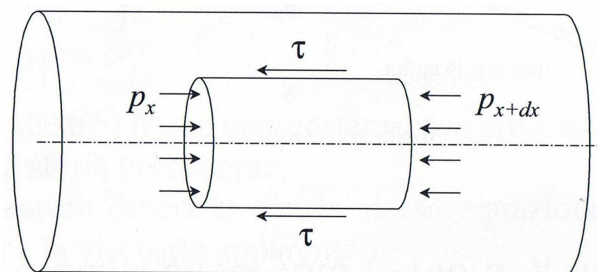
$$\mu_s = \mu_p (1 + 2.5 \text{ HCT}) \quad (1.10)$$

ottenuta come sviluppo in serie arrestato al primo termine della relazione di Einstein.

Nel corso degli anni, molteplici sono stati i tentativi volti alla derivazione, in primis, di un'equazione per la viscosità di sospensioni concentrate di particelle sferiche rigide (Mooney, 1951; Brinkman e Roscoe, 1952; Krieger e Dougherty, 1959), poi di modelli per una sospensione diluita di particelle elastiche deformabili (Goddard e Miller, 1967) ed, infine, di un'equazione per sospensioni concentrate di particelle elastiche deformabili. Sebbene numerosi modelli siano stati sviluppati sino ad oggi per determinare la viscosità del sangue, sia esso inteso come un fluido newtoniano oppure non newtoniano, nessuno è tuttora in grado di descrivere compiutamente la complessa reologia del sangue e i fattori che la influenzano.

Per completezza è opportuno riportare alcune informazioni relative alle caratteristiche del moto stazionario all'interno di un condotto circolare per un fluido newtoniano e all'effetto Fahraeus-Lindqvist.

Il moto del sangue, infatti, può essere analizzato considerando il moto laminare in regime stazionario di un fluido incomprimibile in un condotto cilindrico di lunghezza  $L$  e raggio  $R$ .



**Figura 1.13: Flusso costante in un tubo cilindrico.**

Il passaggio da un moto laminare ad uno turbolento avviene per effetto di meccanismi di instabilità e si deduce in relazione all'entità del numero di Reynolds.



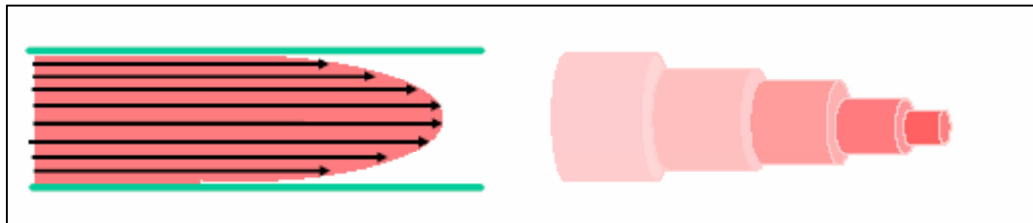
In particolare, per il moto entro un tubo cilindrico si ha

$$Re = \frac{\rho V d}{\mu} \quad (1.11)$$

dove  $\rho$  è la densità del fluido,  $V$  la velocità media del flusso nella sezione,  $d$  il diametro del tubo e  $\mu$  la viscosità dinamica del fluido.

Per bassi valori del numero di Reynolds (nel caso stazionario,  $Re < 2500$ ), il moto è laminare ed il fluido in movimento lungo il condotto è classicamente caratterizzato da un insieme di lamine fluide che scivolano una sull'altra, con velocità crescente dalla parete all'asse centrale del lume. Quando le forze d'inerzia diventano sempre più predominanti rispetto alle forze viscosi e il valore del numero di Reynolds supera i 4000 il moto diventa turbolento.

Nel caso esaminato nel presente lavoro, il moto è laminare, dal momento che il numero di Reynolds è inferiore al limite imposto in virtù del ridotto valore della velocità del fluido in ingresso nello specifico dispositivo (0.2972 m/s) e del diametro del condotto (0.005 m).



**Figura 1.14: Moto laminare.**

Dall'equazione di bilancio su di un generico volume cilindrico di fluido, coassiale con il condotto (Figura 1.13) e per valori di velocità di deformazione tali per cui il sangue può essere considerato un fluido newtoniano, si ottiene:

$$a) \quad \tau = -\frac{\Delta p r}{L} \quad b) \quad \tau = -\mu \frac{dv}{dr} \quad (1.12)$$

$$\frac{dv}{dr} = \frac{\Delta p r}{L} \frac{1}{2\mu} \quad (1.13)$$

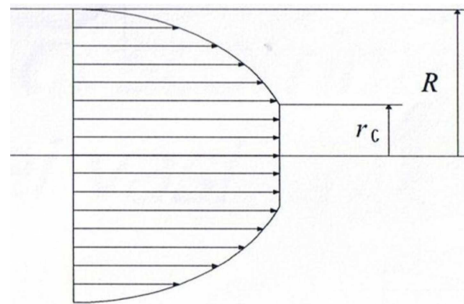
Se lo sforzo ha un andamento lineare, che risulta massimo alla parete e nullo sull'asse mediano, la distribuzione delle velocità ha un profilo parabolico.

È possibile, dunque, ricavare l'equazione di Poiseuille, che fornisce il legame tra la portata volumetrica  $Q$  e la perdita di carico  $\Delta p$ .

$$Q = \frac{\Delta p}{L} \frac{\pi R^4}{8\mu} \quad (1.14)$$

La relazione 1.12a, introducendo il modello del fluido in esame, consente di ricavare la legge del moto. Come visto, introducendo il modello viscoso newtoniano ed integrando, si ottiene la legge di Poiseuille.

Nel caso di fluido alla Casson, esisterà un valore  $r_c$  della coordinata radiale per il quale la sollecitazione di taglio è uguale al  $\tau_c$ , al di sotto del quale il moto avviene come se la forza spingente fosse un pistone. Il profilo di velocità è determinabile dalla relazione 1.12a dopo aver esplicitato la sollecitazione di taglio con la relazione costitutiva di Casson ed è schematicamente rappresentato in Figura 1.15; come detto, nella zona centrale ( $r < r_c$ ) si ha un moto a pistone con velocità costante.



**Figura 1.15: Profilo di velocità nel caso di fluido alla Casson.**

In relazione al profilo di velocità ottenuto con il modello di Casson, è opportuno introdurre un fenomeno particolare noto come “*effetto Fahraeus-Lindqvist*” e strettamente legato al diametro del tubo.

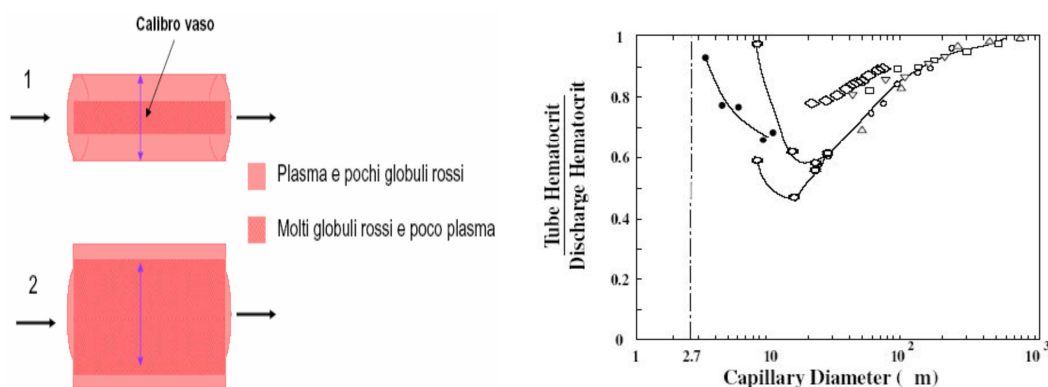
Tale fenomeno consiste nella riduzione della viscosità apparente del sangue in seguito al restringimento del tubo e raggiunge la massima intensità

in condotti di dimensione pari a 4-5  $\mu\text{m}$ , in cui gli eritrociti fluiscono disposti in un'unica fila.

In vasi con diametro uguale alla dimensione del singolo globulo rosso, il profilo di velocità del sangue mostra un andamento parabolico in prossimità della parete, dove è confinato il plasma ed un tratto centrale piatto, dovuto al movimento di una particella solida e non di un fluido, proprio come osservato in Figura 1.15.

La spiegazione del fenomeno risiede nell'osservare che il moto del sangue in un condotto è caratterizzato dalla formazione, in prossimità della parete, di uno strato limite contenente solo plasma e dell'ordine di qualche micron. Infatti, poiché la velocità di migrazione del globulo rosso è direttamente proporzionale al gradiente di velocità, che è maggiore alla parete del vaso e si riduce progressivamente procedendo dalla periferia verso l'asse centrale, le RBCs non si dispongono uniformemente in tutta la sezione del condotto ma vengono spinte verso la regione centrale, creando un sottile film acellulare lungo le pareti.

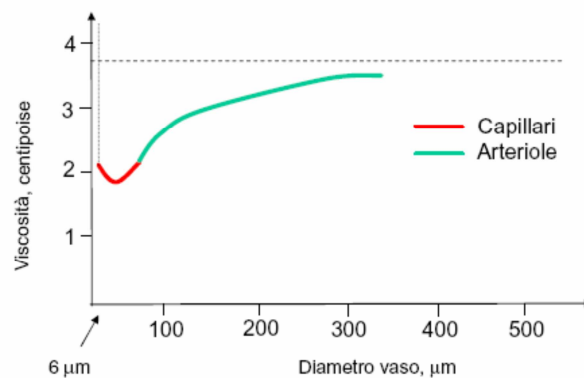
Lo strato limite svolge la funzione di cuscinetto idrodinamico, riducendo l'attrito del sangue in corrispondenza delle pareti del condotto ed il suo spessore è funzione, in particolare, del diametro del capillare; l'immagine a sinistra della Figura 1.16 mostra, infatti, che in seguito al restringimento del vaso lo strato periferico di plasma risulta essere maggiore.



**Figura 1.16: A sinistra) Variazione dello spessore dello strato periferico all'aumentare del diametro del vaso. A destra) Variazione dell'ematokrit in funzione del diametro del condotto**

La riduzione del diametro, con il conseguente incremento dello strato limite, comporta una diminuzione del valore di ematocrito (plot a destra nella Figura 1.16) e, quindi, della viscosità; tale tendenza si inverte, però, quando il diametro del vaso uguaglia le dimensioni del globulo rosso a causa dell'effetto dell'occlusione.

La Figura 1.17 evidenzia che la viscosità apparente del sangue diminuisce per diametri compresi tra 6-500  $\mu\text{m}$ , mentre aumenta rapidamente per condotti di diametro inferiore a 4-6  $\mu\text{m}$  a causa degli attriti del globulo rosso con le pareti del capillare. Infatti, per tali diametri, sono gli stessi globuli rossi a causare la resistenza al flusso e, dunque, l'aumento di viscosità apparente.



**Figura 1.17: Andamento della viscosità apparente del sangue in funzione del diametro del condotto**

### 1.3 LA DEFORMABILITÀ DEGLI ERITROCITI

La deformabilità dei globuli rossi è necessaria per il trasporto dell'ossigeno ai tessuti. I fattori che determinano tale deformabilità includono il rapporto tra volume e area superficiale della cellula, la viscosità del citoplasma ed il comportamento elastico della relativa membrana (Mohandas e Chasis, 1993; Mohandas ed Evans, 1994).

In sospensione in plasma o in altra soluzione isotonica, un eritrocita consiste di una sottile membrana flessibile, contenente un liquido costituito da una soluzione quasi satura di emoglobina. Tale membrana offre una resistenza a flessione minore rispetto alla resistenza a trazione. Inoltre il

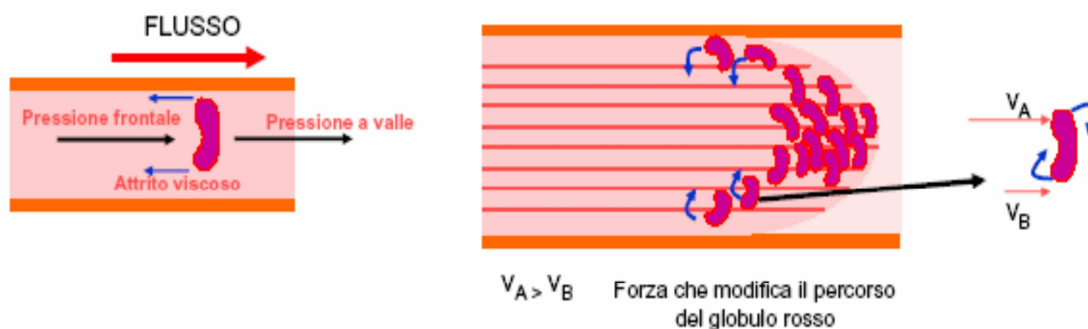
liquido newtoniano contenuto all'interno della cellula non offre resistenza elastica alla deformazione, contribuendo così a rendere il globulo estremamente flessibile.

Sostanza	Percentuale in massa
Acqua	65
Componenti della membrana (proteine, fosfolipidi, colesterolo)	3
Emoglobina	32
Componenti inorganiche	
Potassio	0,42 g per 100 ml
Sodio	0,025 g per 100 ml
Magnesio	0,006 g per 100 ml
Calcio	Quantità piccole

**Tabella 1.2: Composizione di un globulo rosso.**

Nel microcircolo il globulo rosso modifica la forma biconcava assumendo una forma tozza anteriormente ed affilata posteriormente, che suggerisce uno spostamento del suo contenuto liquido nella parte anteriore.

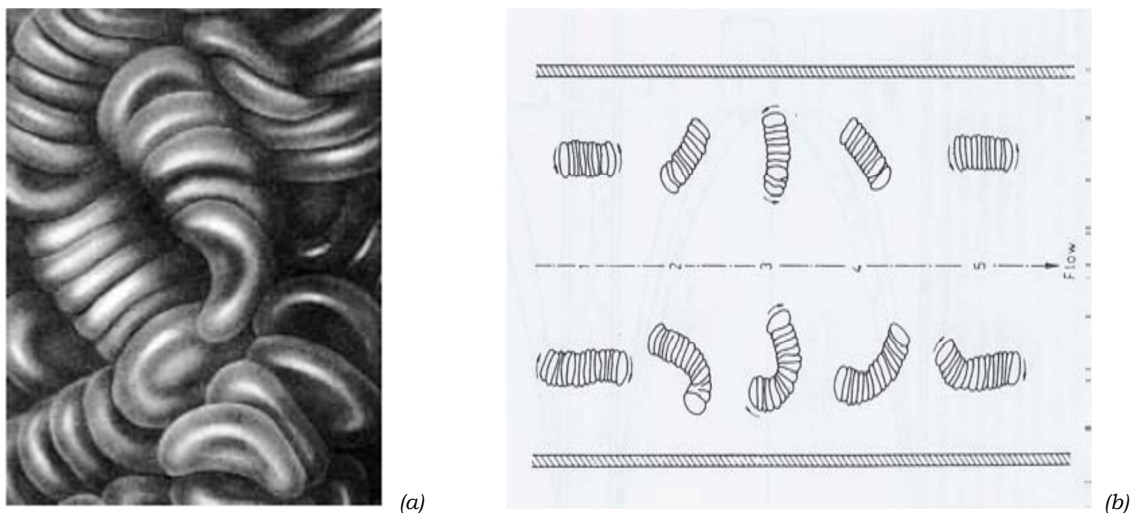
L'effetto di un gradiente di velocità applicato ad una sospensione di eritrociti è quello di deformare e far ruotare le cellule come mostrato in Figura 1.18.



**Figura 1.18: Globuli rossi dispersi in un fluido in moto laminare.**

La rapidità con cui le particelle si deformano e ruotano dipende dalla velocità tangenziale del fluido: se questa assume valori inferiori a  $20 \text{ s}^{-1}$  le cellule si flettono mentre ruotano, conservando la loro forma di disco biconcavo; al crescere della velocità di deformazione, invece, cessano di ruotare e si limitano a traslare, assumendo una forma ellissoidale con l'asse maggiore allineato nella direzione del moto, provocando una progressiva riduzione della viscosità.

Un'ulteriore caratteristica dei globuli rossi è la loro tendenza ad aggregarsi, dando luogo alla formazione dei rouleaux.



**Figura 1.19: (a) Aggregazione di globuli rossi; (b) Rotazione dei rouleaux in un vaso in flusso.**

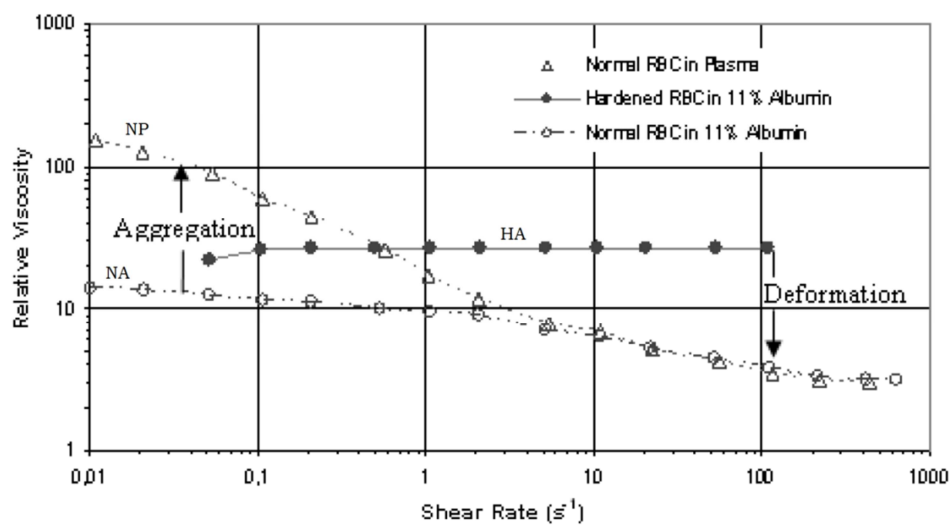
Come già detto, la presenza di aggregati si osserva a shear rate molto bassi e a questo fenomeno si attribuisce l'aumento della viscosità del sangue al decrescere della velocità di deformazione.

Al crescere dello shear rate, i rouleaux si disgregano e la viscosità diminuisce fino ad arrivare ad un plateau, poiché le RBCs, oltre a staccarsi dagli aggregati, si orientano sempre più nella direzione del flusso.

È possibile mettere in evidenza l'effetto della deformazione e dell'aggregazione dei globuli rossi considerando tre tipi di sospensioni, preparate in modo diverso ma caratterizzate dallo stesso valore di ematocrito.

In Figura 1.20:

- o la curva indicata con NP si riferisce ad un campione di sangue intero;
- o la curva NA rappresenta una sospensione di eritrociti normali in una soluzione contenente albumina (dunque, priva di fibrinogeno e globuline);
- o la curva HA indica una soluzione uguale alla precedente in cui i globuli rossi sono stati resi artificialmente indeformabili.



**Figura 1.20: Relazione logaritmica tra la viscosità apparente relativa e lo shear-rate in tre tipi di sospensioni di globuli rossi, ognuna con HCT=45% (Chien, 1970).**

Presumibilmente il meccanismo di aggregazione delle RBCs è regolato dal bilancio tra forze di aggregazione e forze di disaggregazione (ne sono un esempio, le proprietà meccaniche della membrana e le cariche superficiali presenti su di essa), ma un ruolo importante è svolto anche dalle macromolecole asimmetriche presenti nel plasma, in particolare fibrinogeno e globuline.

Infatti, in assenza di tale componente proteica (curva NA) si assiste a bassi shear rate ad una riduzione della viscosità della sospensione, pur essendo la viscosità della soluzione di albumina pari a quella del plasma presente nel caso NP. In tal caso, quindi, la tendenza a formare rouleaux è stata impedita.

È opportuno precisare che, negli aggregati, la dimensione massima degli eritrociti cresce mentre il loro spessore si riduce, osservazione compatibile con la presenza di attrazioni reciproche.

In aggiunta, i rouleaux non si formano se la deformabilità dei globuli rossi viene ridotta irrigidendoli con l'utilizzo di glutaraldeide (curva HA). La provetta HA, privata di entrambe le caratteristiche, presenta una viscosità apparente pressoché costante con il gradiente di velocità e, quindi, un comportamento newtoniano.

Se il confronto tra le curve NA ed NP mette in evidenza che l'aggregabilità, a bassi shear rate, tende ad aumentare la viscosità, la differenza tra le sospensioni NA ed HA mette in risalto l'influenza della deformazione dei globuli rossi e la sua tendenza, ad alti shear rate, a diminuire la viscosità.

In conclusione, si rimarca che le caratteristiche di deformabilità e aggregabilità proprie degli eritrociti giocano un ruolo significativo nella determinazione del comportamento reologico del sangue.

## **1.4 LA VISCOSIMETRIA**

Più volte si è sottolineata l'influenza del tipo di viscosimetro, della variabilità dei campioni e delle condizioni operative sull'entità del valore di viscosità misurato.

L'obiettivo di tale paragrafo è quello di fornire un quadro dei viscosimetri maggiormente impiegati e dei rispettivi principi di funzionamento.

I viscosimetri consentono di effettuare la misura della viscosità e di indagare sul legame che intercorre tra lo sforzo tangenziale e lo shear rate. Infatti, mediante la valutazione dello sforzo tangenziale e della velocità di deformazione è possibile rappresentare i punti sperimentali sul piano ( $\tau - \dot{\gamma}$ ) e, di conseguenza, individuare la curva reologica del fluido in esame. È opportuno precisare sin da ora che viscosità, tensione tangenziale e shear rate vengono quantificati mediante l'utilizzo di relazioni teoriche, che legano dette grandezze alle caratteristiche del dispositivo e alle grandezze fisiche effettivamente misurate e che, quindi, sono specifiche per ogni strumento di



misura. Inoltre, la significatività delle misure sperimentali atte a caratterizzare la risposta reologica è strettamente legata alla possibilità dello strumento di realizzare un campo di moto con un gradiente di velocità costante. Quest'ultima condizione, ininfluente per i fluidi newtoniani (caratterizzati dall'indipendenza della viscosità dal gradiente di velocità), è determinante nel caso di fluidi non newtoniani.

Le principali geometrie con cui è possibile determinare la relazione “shear stress - shear rate” sono:

- **il viscosimetro capillare**, che provoca un flusso capillare (o di Poiseuille) in un tubo di lunghezza  $L$  e di raggio  $R$ ;
- **il viscosimetro a cilindri coassiali**, in cui il fluido scorre fra due cilindri concentrici di raggio diverso,  $R_1$  e  $R_2$ , in seguito alla rotazione di uno dei due rispetto all'altro (che può essere, in particolare, fermo);
- **il viscosimetro “cono e piatto”**, nel quale la superficie inferiore è piatta mentre quella superiore, conica con raggio di base  $R$ , forma con quella inferiore un angolo  $\psi$  molto piccolo.

Ciascuna tipologia presenta, come si vedrà in seguito, vantaggi e svantaggi; è opportuno rimarcare che la scelta del tipo di viscosimetro e dei modi di misura dipende dalle proprietà del liquido in esame e dalla rispettiva risposta agli sforzi cui è sottoposto (comportamento newtoniano oppure no).

### 1.4.1 Il viscosimetro capillare

Il funzionamento del viscosimetro capillare si basa sull'equazione di Poiseuille, valida per un flusso stazionario di fluido newtoniano, in un tubo circolare di diametro costante e in regime di moto laminare (Figura 1.21).

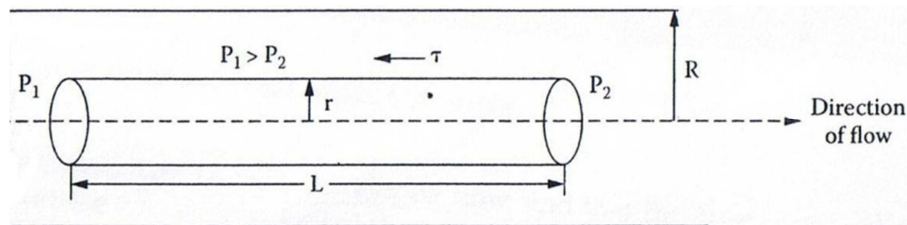
In tal caso, avvalendosi della relazione tra la portata e il gradiente di pressione

$$Q = \frac{\Delta p}{L} \frac{\pi R^4}{8\mu} \quad (1.15)$$

e misurate la differenza di pressione  $\Delta p = (p_1 - p_2)$  e la portata  $Q$ , si determina la viscosità dinamica:

$$\mu = \frac{\Delta p \pi R^4}{8QL} \quad (1.16)$$

Tali dispositivi sono muniti di un tubo capillare in cui si fa scorrere il fluido in esame e di due piezometri per la misura della caduta di pressione; si risale alla portata misurando il tempo di efflusso di un volume noto di liquido (il metodo più semplice anche se meno accurato prevede di utilizzare un contenitore graduato ed un cronometro).



**Figura 1.21: Flusso stazionario di un fluido Newtoniano attraverso un tubo cilindrico.**

La valutazione dello sforzo di taglio e della velocità di deformazione, necessaria per determinare la curva reologica, richiede di considerare le forze agenti su un generico volume cilindrico di fluido di raggio  $r$  e concentrico con il capillare; con riferimento alla Figura 1.21, si ha:

- la forza  $F_p$ , che spinge il fluido verso destra ed è dovuta alla differenza di pressione sulle due basi del cilindro:

$$F_p = (p_1 - p_2) \pi r^2 \quad (1.17)$$

- la forza  $F_\tau$  che agisce sulla superficie laterale dell'elemento fluido:

$$F_\tau = \tau 2\pi r L \quad (1.18)$$

Dall'equilibrio delle forze, si ottiene:

$$\tau = \frac{(p_1 - p_2) r}{2L} = -\frac{\Delta p r}{2L} \quad (1.19)$$

e, quindi, la tensione tangenziale esercitata alla parete:

$$|\tau_w| = \frac{\Delta p R}{2L} \quad (1.20)$$

Le velocità di deformazione ricavate in uno strumento di questo tipo sono strettamente legate alle caratteristiche del fluido.

In un fluido newtoniano, la velocità di deformazione si ottiene impiegando la corrispondente legge costitutiva e varia da un valore alla parete pari a

$$|\dot{\gamma}_w| = \frac{\Delta p R}{2\mu L} = \frac{4Q}{\pi R^3} \quad (1.21)$$

ad un valore nullo al centro del capillare.

L'ultima uguaglianza nella (1.21) deriva dalla relazione fra il gradiente di pressione e la portata.

È fondamentale sottolineare che questo dispositivo non permette di realizzare un campo di moto caratterizzato da una velocità di deformazione costante; infatti, quest'ultima è funzione della posizione radiale  $r$ , come deriva dall'equazione (1.19). Tale condizione non ha alcuna rilevanza se il comportamento del liquido in esame è newtoniano, ma è determinante nel caso di fluidi non newtoniani, la cui viscosità è funzione dello shear rate. In tal caso lo strumento non consente di ottenere differenti misure di viscosità, una per ogni valore di  $\dot{\gamma}$ , ma fornisce solamente un valore che rappresenta una stima della viscosità. In relazione a quest'ultima osservazione, è chiaro che la validità della relazione (1.16) per la misura della viscosità dipende dal carattere di newtonianità del fluido e, dunque, dal fatto che nel viscosimetro a capillare si sviluppi effettivamente un moto di Poiseuille.

### 1.4.2 Il viscosimetro a cilindri coassiali

Il viscosimetro a cilindri coassiali è la tipologia più diffusa dei viscosimetri rotazionali. A differenza del viscosimetro capillare, tali dispositivi sono costituiti da due strutture, nella cui intercapedine trova posto il fluido sottoposto all'analisi; la rotazione relativa delle due parti produce un'azione tangenziale.

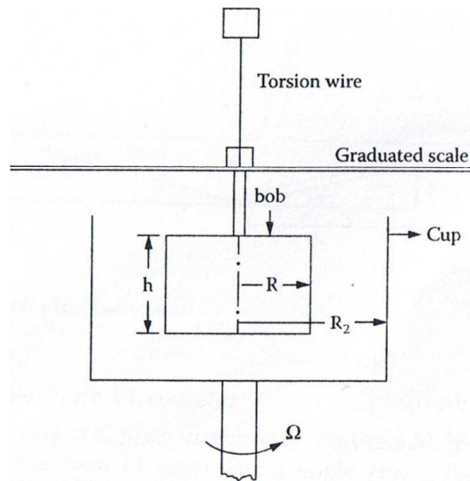
Il viscosimetro a cilindri coassiali consiste di due cilindri coassiali, dei quali uno (preferibilmente quello esterno) ruota ad una velocità costante  $\Omega$ , mentre l'altro è tenuto in posizione da un filo di torsione. A causa dell'attrito viscoso del fluido sulla parete del cilindro più interno, quest'ultimo ruota torcendo il filo di torsione verso una nuova posizione d'equilibrio. È chiaro che, all'equilibrio, il momento della forza dovuta al fluido in movimento è uguale al momento  $T$  che è possibile misurare sul cilindro interno.

Si suppone che il flusso del liquido, presente tra i due cilindri, sia stazionario e laminare e che gli effetti di bordo siano trascurabili.

In tali dispositivi, dunque, si applica una velocità angolare  $\Omega$ , si misura il momento torcente  $T$  sulla superficie del cilindro interno e si ottiene la viscosità dall'espressione:

$$\mu = \frac{T}{C\Omega} \quad \text{con } C = \left[ \frac{4\pi h R_1^2 R_2^2}{(R_2^2 - R_1^2)} \right] \quad (1.22)$$

dove  $C$  è una costante ottenuta a partire dalle caratteristiche geometriche proprie del dispositivo; in particolare,  $R_1$  ed  $R_2$  sono i raggi dei due cilindri (con  $R_2 > R_1$ ) e  $h$  è l'altezza del cilindro interno.



**Figura 1.22: Schema di un viscosimetro a cilindro coassiale (Couette).**

L'espressione (1.22) si ricava prendendo in esame un volume fluido compreso tra il cilindro interno di raggio  $R_1$  e un cilindro arbitrario di raggio  $r$  e considerando che, essendo in stato stazionario, il momento  $T$  misurato sul cilindro interno è uguale al momento esercitato sul fluido al generico raggio  $r$ . È dunque possibile scrivere:

$$T = F_t r = \tau_r (2\pi r h) r \quad (1.23)$$

da cui si ricava lo sforzo di taglio

$$\tau_r = \frac{T}{2\pi r^2 h} \quad (1.24)$$

Essendo  $\omega$  la velocità angolare del fluido al raggio  $r$  e la velocità  $V = r\omega$ , il gradiente di velocità è dato dalla seguente espressione:

$$\frac{dV}{dr} = r \frac{d\omega}{dr} + \omega \quad (1.25)$$

in cui il primo termine a destra rappresenta il gradiente di velocità radiale, mentre il secondo è la velocità angolare dovuta alla rotazione rigida; essendo interessati al gradiente di velocità tangenziale, il secondo termine sulla destra può essere trascurato.

Nel caso di fluido newtoniano vale:

$$\tau_r = \mu \dot{\gamma} = \mu \frac{dV}{dr} = \mu r \frac{d\omega}{dr} \quad (1.26)$$

Combinando questa espressione con la (1.24), si ha la relazione:

$$\frac{T}{2\pi r^2 h} = \mu r \frac{d\omega}{dr} \quad (1.27)$$

da cui si ottiene:

$$\frac{d\omega}{dr} = \frac{T}{2\pi \mu r^3 h} \quad (1.28)$$

Integrando tale equazione con le appropriate condizioni al contorno (ossia  $\omega(R_1) = 0$  e  $\omega(R_2) = \Omega$ ), si ottiene

$$T = \left[ \frac{4\pi h R_1^2 R_2^2}{(R_2^2 - R_1^2)} \right] \mu \Omega \quad (1.29)$$

da cui si determina il valore di viscosità come mostrato nella (1.22).

La determinazione dello sforzo di taglio e della velocità di deformazione si ottiene dalle relazioni (1.24) e (1.28); quest'ultima mostra che in un viscosimetro a cilindri coassiali si realizza un campo di moto con velocità di deformazione non costante ma funzione di  $r$  (variabile tra  $R_1$  e  $R_2$ ). Di norma, però, nelle applicazioni sperimentali la differenza  $(R_2 - R_1)$  è sufficientemente piccola da poter considerare, di fatto,  $r \sim R_1 \sim R_2$ ; di conseguenza, la velocità di deformazione è approssimativamente uniforme in tutta l'intercapedine fra i due cilindri. In tal caso, lo sforzo e la velocità di deformazione risultano rispettivamente pari a:

$$\tau = \frac{T}{2\pi R_1^2 h} \approx \frac{T}{2\pi R_2^2 h} \quad (1.30)$$

$$\dot{\gamma} \approx \frac{\Omega R_1}{R_2 - R_1} = \text{costante} \quad (1.31)$$

In merito a quanto appena detto, nel caso di viscosimetri a cilindri coassiali particolare attenzione deve essere prestata alle caratteristiche geometriche del dispositivo stesso, dal momento che la significatività delle misure sperimentali e, di conseguenza, della curva reologica del fluido in esame è tanto maggiore quanto più il dispositivo di misura consente di realizzare un campo di moto con gradiente di velocità costante.

### 1.4.3 Il viscosimetro “cono e piatto”

Il viscosimetro “cono e piatto” è costituito da un cono di raggio  $R$ , che ruota alla velocità angolare  $\Omega$ , il cui asse è perpendicolare a una superficie piana fissa; il campione di fluido da esaminare è collocato tra il cono ed il piatto. L'angolo  $\psi$  fra il cono e la superficie è molto piccolo e, generalmente, compreso tra  $0.5^\circ$  e  $3^\circ$ . In questa configurazione, come sarà chiaro dallo sviluppo teorico che porta alla scrittura delle equazioni per  $\dot{\gamma}$ ,  $\tau_r$  e  $\mu$ , la tensione tangenziale e la velocità di deformazione sono costanti entro tutto il campione.

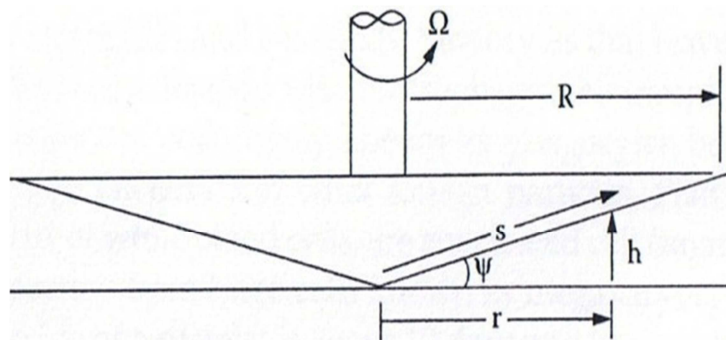


Figura 1.23: Schema di un viscosimetro “cono e piatto”.

Essendo  $\Omega$  la velocità angolare del cono, la velocità del fluido a distanza  $r$  dall'asse di rotazione è  $V = \Omega r$ .

La velocità di deformazione che qui interessa è  $\frac{dV}{dh}$ , essendo  $h$  l'altezza corrispondente al dato raggio.

Essendo  $h = r(\tan\psi)$  (quindi  $dh = dr(\tan\psi)$ ) e l'angolo  $\psi$  sufficientemente piccolo, si ha per lo shear rate

$$\dot{\gamma} = \frac{dV}{dh} = \frac{dV}{dr(\tan\psi)} = \frac{\Omega}{\psi} \quad (1.32)$$

L'angolo  $\psi$  e la velocità angolare sono quantità note, essendo caratteristiche strumentali, quindi  $\dot{\gamma}$  è nota. Poiché entrambe le grandezze sono indipendenti dal raggio, ne consegue che la velocità di deformazione è costante nell'intero campo di moto.

Il momento totale  $T$  può essere ottenuto mediante

$$T = \int_A r\tau_r dA \quad (1.33)$$

con  $dA = 2\pi r dS$ . Essendo  $r = s(\cos\psi)$  ed effettuando le opportune manipolazioni, l'equazione (1.33) diventa

$$T = \tau_r \int_0^R 2\pi r^2 dr = 2\pi\tau_r \frac{R^3}{3} \quad (1.34)$$

e dunque lo sforzo è dato dall'espressione:

$$\tau_r = \frac{3T}{2\pi R^3} \quad (1.35)$$

Per un fluido newtoniano, la viscosità risulta pari a:

$$\mu = \frac{3T\psi}{2\pi R^3 \Omega} \quad (1.36)$$

Impiegando le relazioni trovate per la velocità di deformazione e per lo sforzo di taglio, si può determinare il diagramma  $(\tau - \dot{\gamma})$  sia per un fluido newtoniano che per uno non newtoniano.

In tale dispositivo, a differenza di quanto accade nei viscosimetri a capillare e a cilindri coassiali, la velocità di deformazione è costante, dunque,



se i fluidi si comportano in modo non newtoniano, esso misura il valore di viscosità effettivamente corrispondente alla relativa velocità di deformazione.

Sebbene i viscosimetri di tipo capillare siano stati ampiamente utilizzati in passato per lo studio della reologia del sangue, in virtù della semplicità di impiego e della riproducibilità dei risultati, le ultime due tipologie descritte sono attualmente più utilizzate per la loro maggiore accuratezza e flessibilità. Infatti i dispositivi rotazionali risultano più appropriati, perché permettono di effettuare esperimenti in condizioni ben controllate, sottoponendo il campione ad uno shear rate costante (o relativamente costante nel caso del viscosimetro a cilindri coassiali) e di eseguire, su un dato campione di sangue, misure al variare della velocità di deformazione. Inoltre consentono di adoperare per la misura un campione di sangue più esiguo, a differenza del dispositivo a capillare che richiede grandi quantità di materiale.

È opportuno, però, sottolineare che mentre il viscosimetro capillare presenta effetti di bordo minori e controllabili, nei viscosimetri rotazionali, bisogna considerare gli errori che possono essere dovuti agli effetti inerziali e di bordo.

## **1.5 ANALISI DEL LEGAME VISCOSITÀ-EMATOCRITO: RISULTATI SPERIMENTALI DI LETTERATURA**

Tra le variabili che influenzano il coefficiente di viscosità del sangue sono state incluse l'ematocrito e la temperatura, il cui effetto però non è tuttora chiaro.

Al fine di accertare l'influenza dell'ematocrito sulle caratteristiche reologiche del sangue si opera su campioni artificialmente preparati, separando la parte corpuscolata dal plasma per centrifugazione e miscelando nuovamente le cellule ed il plasma nelle desiderate proporzioni, una volta rimossi leucociti e piastrine. Va, inoltre, osservato che le misure per valori diversi di ematocrito devono essere effettuate nelle medesime condizioni di lavoro, dunque a parità di velocità di deformazione, di temperatura e di viscosimetro.

Il presente lavoro esamina le caratteristiche del flusso ematico in un dispositivo per autotrasfusione avvalendosi della fluidodinamica computazionale. Indispensabili premesse a qualsiasi tipo di analisi numerica sono, in primo luogo, la definizione di come simulare i fluidi in esame (per esempio, se il fluido è omogeneo oppure no) e, successivamente, la loro caratterizzazione.

Nell'ipotesi di considerare il sangue un fluido omogeneo, è necessario indagare sui valori di densità e viscosità da assegnare ad esso, dal momento che il sangue, processato con i dispositivi per autotrasfusione, non è sangue intero bensì diluito per la presenza di fisiologica, anticoagulante, ecc. Ne consegue che l'ematocrito è, di norma, compreso nell'intervallo 5%÷25%.

Per riprodurre le reali condizioni che si verificano, ad esempio, in sala operatoria, è opportuno assegnare al fluido densità e viscosità che il sangue assume in corrispondenza di valori di ematocrito significativi; valori tipici possono essere considerati HCT=10% e HCT=25%.

La densità corrispondente può essere calcolata utilizzando la relazione (1.1) riportata anche nel seguito:

$$\rho_s = (1-HCT) \rho_p + HCT \rho_{gr} \quad (1.37)$$

La determinazione della viscosità è invece più complessa, perché non vi sono modelli che predicono la viscosità di una sospensione di sfere deformabili come le RBCs, a causa della complessa natura delle interazioni tra esse. Di conseguenza, sono stati utilizzati i risultati di prove sperimentali presenti in letteratura; solo alcuni studi riportano risultati a valori di ematocrito molto bassi, è stato dunque obbligatorio estrapolare le informazioni necessarie avvalendosi del supporto di Matlab.

Il passo successivo è stato effettuare prove numeriche considerando il sangue costituito da plasma e da un fluido formato prevalentemente da eritrociti (si ricorda che, terminata la procedura di separazione, il concentrato eritrocitario conserva ancora una piccola frazione di plasma). Si è scelto di considerare questa sospensione altamente concentrata, in cui gli elementi corpuscolati occupano una percentuale del volume prossima al 100%, come un fluido omogeneo caratterizzato da specifici valori di densità e di viscosità, per la cui determinazione è stata sfruttata l'interpolazione effettuata in Matlab; infatti la conseguente estrapolazione consente di stabilire due limiti teorici: un

limite inferiore in corrispondenza del quale la viscosità ematica è rappresentata solo dalla viscosità del plasma, essendo assente la componente cellulare ed un limite superiore in cui tutta la viscosità ematica è rappresentata dalla componente viscosa corpuscolare (HCT>89%).

Affinché i risultati degli studi fossero confrontabili, particolare attenzione è stata prestata a tutte le condizioni operative, che per questo tipo di analisi vanno dallo shear rate alla temperatura, dal viscosimetro alle fasi di prelievo, concentrazione e lavaggio. Infatti, analizzando i dati reperibili in letteratura, sono state rilevate notevoli discrepanze fra gli intervalli di riferimento della viscosità, calcolati su soggetti clinicamente sani. Le differenze erano sia di ordine metodologico che strumentale: temperature diverse a cui sono state effettuate le misure (ad esempio,  $T=25^{\circ}\text{C}$  oppure  $T=37^{\circ}\text{C}$ ), viscosimetri molto differenti fra loro (e ciò comporta shear rate di ordini di grandezza diversi), anticoagulanti diversi usati per il prelievo, nessuna divisione per età e per sesso.

Ai fini del presente lavoro, sono stati considerati, in particolare, dati sperimentali ottenuti in corrispondenza di velocità di deformazione tra  $100\text{ s}^{-1}$ - $200\text{ s}^{-1}$  e una temperatura costante pari a  $37^{\circ}\text{C}$ .

Gli studi presi in esame sono i seguenti:

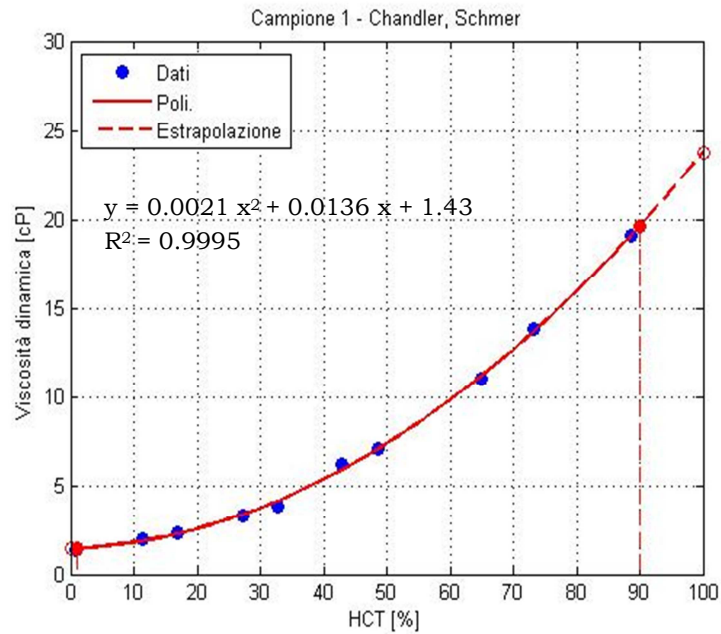
- i.** Wayne L. Chandler, Gottfried Schmer, *“Evaluation of a New Dynamic Viscometer for Measuring the Viscosity of Whole Blood and Plasma”* - CLINICAL CHEMISTRY (1986).
- ii.** Roe E. Wells, Edward W. Merrill, *“Influence of Flow Properties of Blood upon Viscosity-Hematocrit relationships”* - JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION (1962).
- iii.** B. Pirofsky, *“The Determination of Blood Viscosity in man by a Method based on Poiseuille’s Law”* - THE DEPARTMENT OF MEDICINE – THE FOURTH MEDICAL DIVISION (NY, 1952).
- iv.** M. C. Martorana, G. Mojoli, E. Mannella, *“Ipotesi di costruzione di valori di riferimento in Emoreologia indipendenti dall’ematocrito partendo da un modello matematico”* - ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ (2002).
- v.** O. Linderkamp, Achim A. Stadler, Eugen P. Zilow, *“Blood Viscosity and Optimal Hematocrit in Preterm and Full-Term Neonates in 50-500 $\mu\text{m}$  Tubes”* - PEDIATRIC RESEARCH (1992).

I punti sperimentali di ciascun lavoro, dopo un'opportuna procedura di digitalizzazione, sono stati interpolati separatamente e confrontati, tenendo conto della variabilità dovuta alle diverse condizioni di lavoro.

I dati relativi allo studio condotto da Chandler e Schmer (1986) sono stati ottenuti con un viscosimetro dinamico diverso da quelli visti in precedenza, il Sonoclot Coagulation Analyzer. Esso misura la viscosità dinamica mediante una sonda vibrante immersa verticalmente, per una data profondità, in un piccolo campione di fluido. La sonda oscilla ad una frequenza di 250 Hz dando luogo ad uno spostamento inferiore ai 10  $\mu\text{m}$ . In virtù della viscosità del campione, il movimento della sonda viene alterato. La strumentazione è munita di dispositivi che, costantemente, correggono l'entità della potenza richiesta dal trasduttore per mantenere il movimento della sonda costante. L'output del dispositivo è una misura della potenza e, dunque, della viscosità dinamica del campione.

I punti sperimentali sono stati ricavati a partire da campioni artificialmente preparati, separando la parte cellulare dal plasma e miscelando nuovamente cellule e plasma in proporzioni tali da ottenere concentrazioni globulari tra 0%-89%. La temperatura di lavoro è di 37°C, mentre la velocità tangenziale è compresa nell'intervallo 100-200  $\text{s}^{-1}$ .

La Figura 1.24 mostra l'interpolazione ottenuta. Per verificare la validità dell'interpolazione, sono stati controllati i valori di viscosità agli estremi dell'intervallo di HCT; in particolare, la viscosità in corrispondenza del limite inferiore è pari a 1.43 cP e rientra nell'intervallo normalmente accettato per la viscosità del plasma.

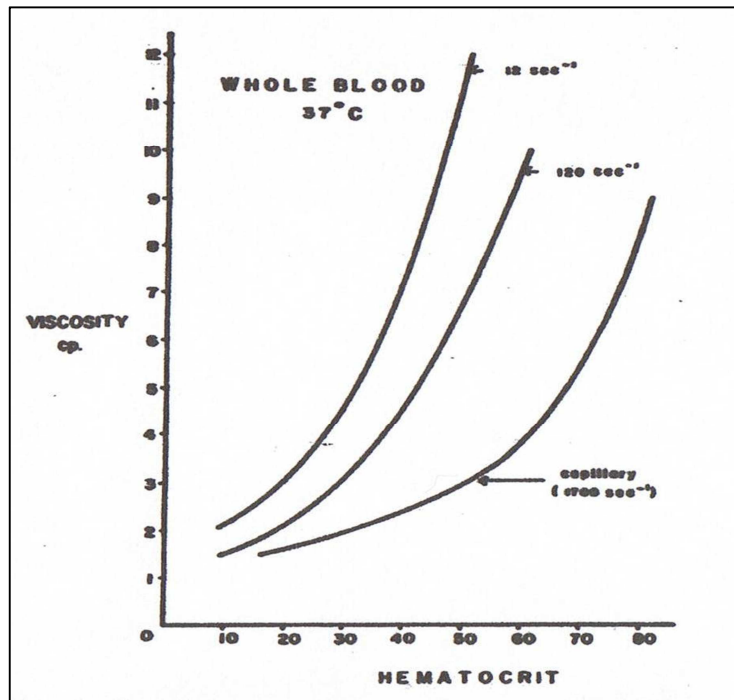


**Figura 1.24: Viscosità dinamica - Ematocrito**  
**Campione 1**  
**(Chandler e Schmer, 1986).**

Nell'analisi condotta da Wells e Merrill (1962) le misure sono state effettuate impiegando un viscosimetro del tipo “cono e piatto”, su campioni mantenuti ad una temperatura di 37°C per tutto il tempo necessario all'esecuzione delle prove e preparati in modo tale da eseguire l'analisi su un range di ematocrito compreso tra 10%-70%.

In tale studio, che indaga sull'influenza dello shear rate, la viscosità è stata valutata a diversi valori della velocità di deformazione, in particolare: 12 s<sup>-1</sup>, 25 s<sup>-1</sup>, 62 s<sup>-1</sup>, 120 s<sup>-1</sup> (Figura 1.25).

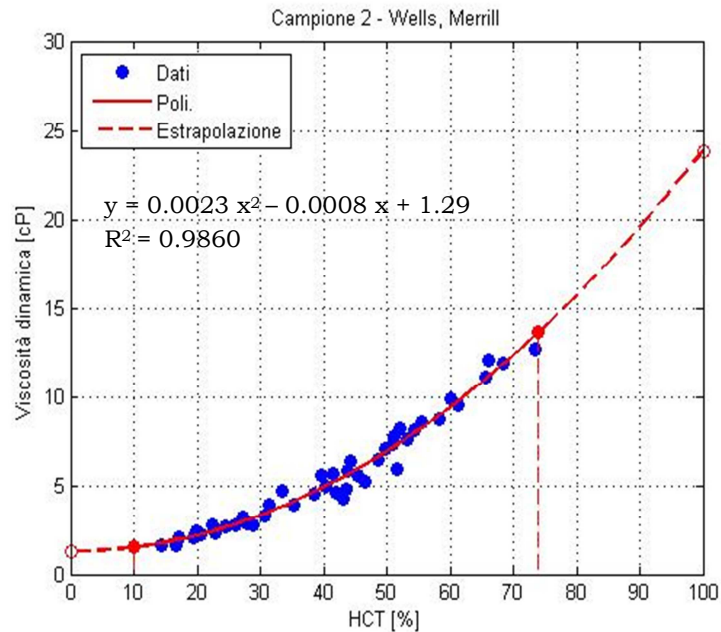
Il confronto dei dati al variare dello shear rate mostra che, a più alti valori della velocità di deformazione, lo stesso campione è meno viscoso a parità di ematocrito.



**Figura 1.25: Confronto dei diagrammi Viscosità - Ematocrito a 3 shear rate ( $12\text{s}^{-1}$ ,  $120\text{s}^{-1}$ ,  $1700\text{s}^{-1}$ ) (Wells e Merrill, 1962).**

Per la confrontabilità dei dati tra studi di autori diversi, i punti sperimentali di Wells e Merrill (1962) di interesse sono solamente quelli ottenuti alla velocità tangenziale di  $120\text{s}^{-1}$  (Figura 1.26).

Per valutare la bontà dell'interpolazione, è stata estrapolata la viscosità ad ematocrito nullo; nel caso specifico  $\mu_{0\%}$  assume un valore pari a 1.3 cP, confrontabile con la viscosità tipicamente assegnata al plasma.



**Figura 1.26: Viscosità dinamica - Ematocrito**  
**Campione 2**  
**(Wells e Merrill, 1962).**

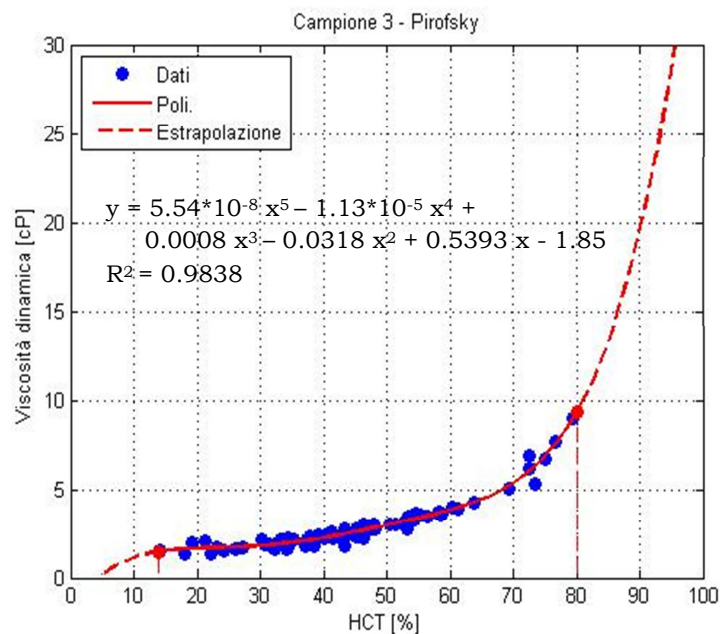
I dati riportati nello studio di Pirofsky (1952) derivano, contrariamente a quanto visto fino ad ora, da misurazioni realizzate con un viscosimetro capillare. In tal caso nessuna informazione precisa viene fornita sullo shear rate, mentre la temperatura è quella corporea e l'ematocrito varia nell'intervallo 14%-76%.

Per determinare la viscosità mediante la legge di Poiseuille il fluido deve essere omogeneo e newtoniano; è opportuno precisare che considerare il sangue una miscela omogenea è una valida semplificazione in condotti aventi diametro superiore a 0.3 mm e che assumere un comportamento newtoniano del sangue, sebbene non sia disponibile il valore della velocità di deformazione in corrispondenza del quale sono state eseguite le misure, è grossomodo corretto dal momento che in un viscosimetro capillare si realizza di norma un campo di moto con valori di shear rate particolarmente elevati.

I punti sperimentali, in questo caso, si discostano da quelli trovati nei primi due lavori e ciò è da imputare principalmente allo strumento utilizzato. Infatti, a causa delle dimensioni del capillare e del gradiente di pressione (oppure della portata) impiegati, nel dispositivo si realizza un campo di moto caratterizzato da shear rate maggiori di  $100 \text{ s}^{-1}$ - $200 \text{ s}^{-1}$  e, come mostrato in

Figura 1.25, un aumento della velocità di deformazione comporta uno spostamento dei punti sperimentali verso il basso lungo le ordinate e verso destra sulle ascisse (come confermato anche dalla Figura 1.30).

In aggiunta, l'interpolazione non fornisce valori ammissibili per la viscosità in corrispondenza degli estremi dell'intervallo di HCT. Questa osservazione è vera se si considera il polinomio di quinto grado che interpola tutti i punti sperimentali di Pirofsky. Molto probabilmente un polinomio che interpola solamente i punti con  $HCT < 30\% - 35\%$  darebbe una buona estrapolazione ad  $HCT = 0\%$ .



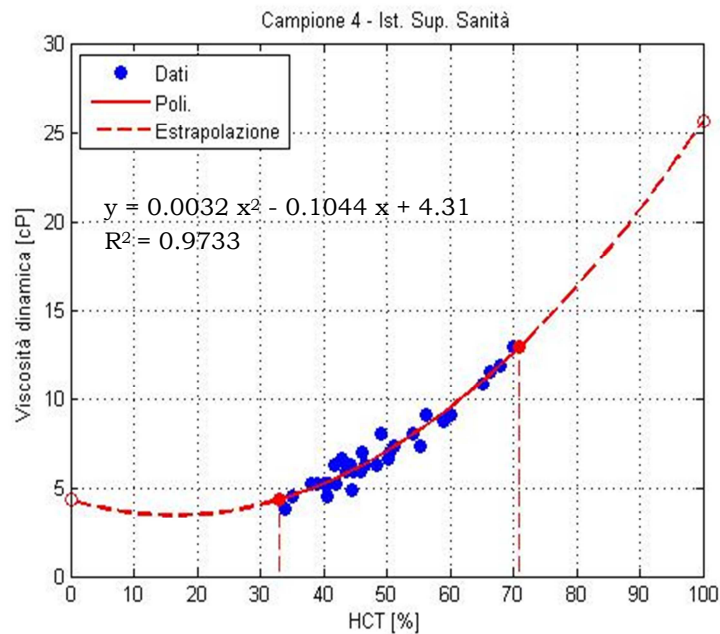
**Figura 1.27: Viscosità dinamica - Ematocrito**  
**Campione 3**  
**(Pirofsky, 1952).**

Le misure eseguite dall'Istituto Superiore di Sanità (2002), sono state acquisite con un sistema a cilindri coassiali, in moto rotazionale continuo a  $200 \text{ s}^{-1}$ . La temperatura è di  $37^\circ\text{C} \pm 0.01$  e le concentrazioni globulari vanno da un HCT del 35% ad un HCT del 70%.

Osservando la Figura 1.30, si nota che i valori ottenuti sono comparabili con quanto fornito dagli studi di Chandler-Schmer e Wells-Merrill; tuttavia, a causa dei pochi punti sperimentali a disposizione, se si esegue l'interpolazione



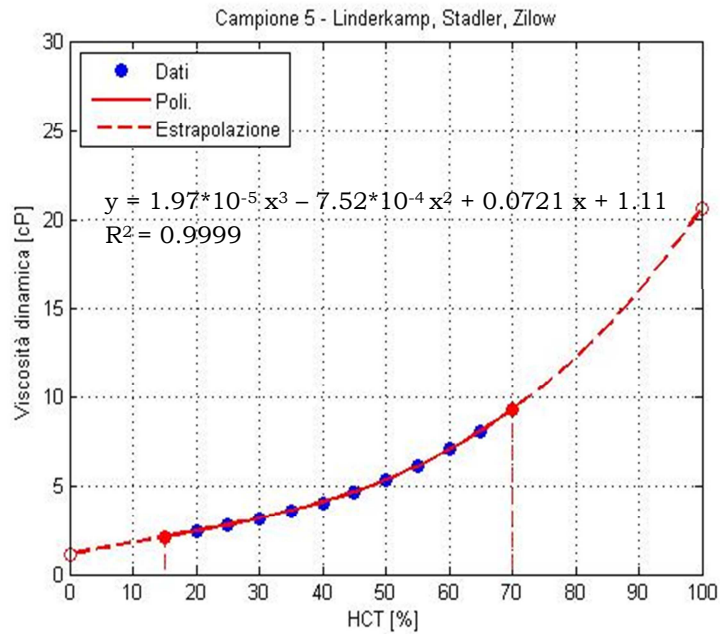
e si estrapola la viscosità a HCT=0%, si ottiene un valore che si discosta sensibilmente dal range di norma accettato per la viscosità del plasma ( $\mu_{0\%} = 4.3$  cP).



**Figura 1.28: Viscosità dinamica – Ematocrito  
Campione 4  
(Martorana, Mojoli, Mannella, 2002).**

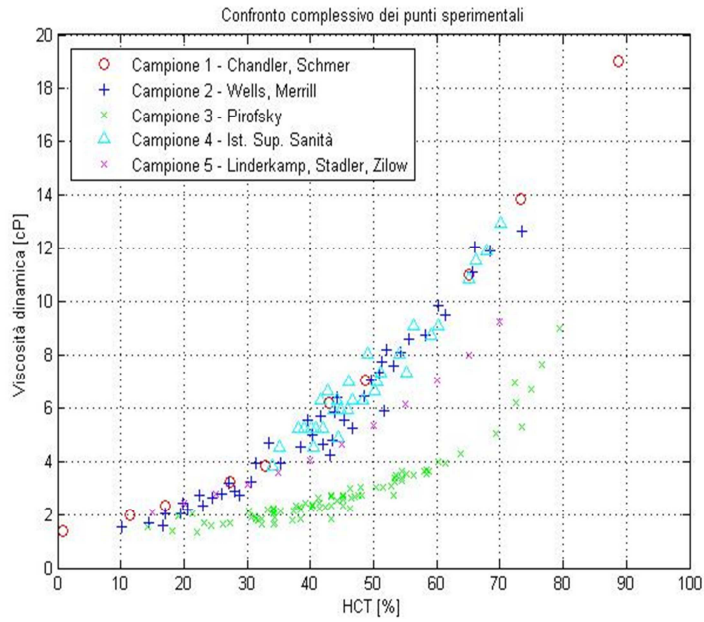
Il set finale di dati sperimentali, tratti dal lavoro di Linderkamp, Stadler e Zilow (1992), costituisce l'ultimo campione in esame ed è stato ottenuto avvalendosi di un viscosimetro capillare con diametro di 0.5 mm e svolgendo le prove ad una temperatura pari a quella corporea e con ematocrito tra il 15% e il 70%.

Sebbene il valore di viscosità in corrispondenza di HCT=0% sia prossimo a quello del plasma (risulta infatti  $\mu_{0\%} = 1.11$  cP) ed i dati di quest'ultimo gruppo siano confrontabili con i primi due campioni in corrispondenza di bassi valori di ematocrito, non appena la componente globulare diventa preponderante (HCT>55%) la curva tende ad abbassarsi. Poiché a parità di condizioni operative, i punti sperimentali dei diversi studi sono comparabili (si vedano a tal proposito i campioni 1, 2 e 4), tale tendenza può essere causata da un diverso valore di shear rate, peraltro non precisato dagli autori.



**Figura 1.29: Viscosità dinamica – Ematocrito  
Campione 5  
(Linderkamp, Stadler, Zilow, 1992).**

L'immagine 1.30 presenta il quadro complessivo dei cinque campioni in esame e, unita alla tabella 1.3, mostra che se le misure sono svolte sotto condizioni operative simili esse non si discostano sensibilmente tra di loro. In relazione a quanto trovato si è deciso, dunque, di non utilizzare un solo campione per ricavare, in primo luogo, la viscosità del sangue in corrispondenza di valori significativi di ematocrito (per esempio, HCT=10% e HCT=25%) e, successivamente, il valore della viscosità del concentrato eritrocitario (HCT>89%), bensì di creare un campione più esteso comprendente i punti sperimentali forniti dagli studi 1, 2 e 4.

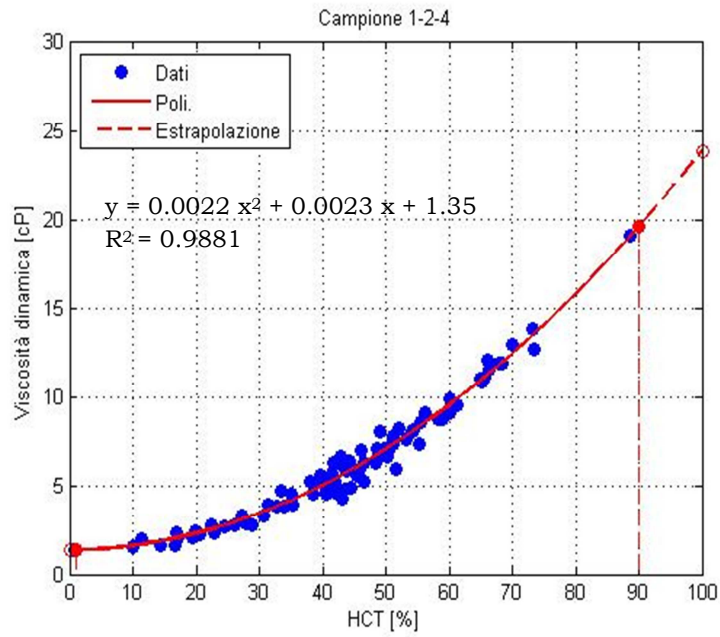


**Figura 1.30: Viscosità dinamica – Ematocrito**  
**Confronto complessivo dei punti sperimentali.**

Lavoro	Viscosimetro	Shear rate	Temperatura
Campione 1 Chandler - Schmer	Viscosimetro dinamico	100-200 s <sup>-1</sup>	37°C
Campione 2 Wells - Merrill	Viscosimetro “cono - piatto”	120 s <sup>-1</sup>	37°C
Campione 3 Pirofsky	Viscosimetro capillare	Non specificato	37°C
Campione 4 Martorana - Mojoli Mannella	Viscosimetro rotazionale	200 s <sup>-1</sup>	37°C
Campione 5 Linderkamp - Stadler Zilow	Viscosimetro capillare	Non specificato	37°C

**Tabella 1.3: Confronto complessivo dei cinque studi considerati.**

Il campione, così costruito, è stato interpolato per permettere di estrapolare i valori di viscosità richiesti (Figura 1.31).



**Figura 1.31: Viscosità dinamica – Ematocrito**  
**Campione costituito dai punti sperimentali tratti dagli studi 1, 2 e 4.**

In particolare, per la densità e la viscosità i) del sangue in corrispondenza dei valori significativi di ematocrito (HCT=10% e HCT=25%) e ii) del concentrato eritrocitario sono stati calcolati i seguenti valori:

<b>Ematocrito</b> (%)	<b>Densità</b> (kg/m <sup>3</sup> )	<b>Viscosità dinamica</b> (cP; 1 cP = 10 <sup>-3</sup> Pa s)
10	1040	1.6
25	1048.75	2.8
98	1089	22.96

## II

### L'AUTOTRASFUSIONE

*A causa del continuo aumento della richiesta di sangue, sia per il crescente numero di eventi traumatici sia per i notevoli progressi nelle cure mediche, la trasfusione di sangue è oggi la tipologia di trapianto più frequentemente praticata.*

*La terapia trasfusionale costituisce un "salva-vita" a cui fare ricorso in condizioni di estrema necessità ed urgenza, come il trattamento di gravi patologie (tumori o disturbi del sangue), la cura di lesioni e gli interventi chirurgici caratterizzati da ingenti perdite ematiche.*

*La trasfusione di sangue allogenico, ossia ottenuto da un donatore estraneo, ristabilisce il normale volume di liquidi circolante e garantisce l'adeguato trasporto di ossigeno, assicurando una corretta perfusione degli organi vitali e dei tessuti.*

*Il sangue per uso trasfusionale è una risorsa limitata (in Italia, infatti, la donazione è il frutto di un gesto volontario, consapevole e gratuito) e deperibile, il cui uso non è esente da rischi. Fino a pochi anni fa le trasfusioni di sangue e dei suoi derivati non erano considerate rischiose per il ricevente; con il passare del tempo, però, studi più accurati e sofisticate tecniche di indagine hanno messo in evidenza i pericoli connessi all'utilizzo di sangue omologo.*

*Ai fenomeni di incompatibilità e rigetto correlati ad ogni forma di trapianto e, dunque, anche all'emotrasfusione, si aggiunge il rischio di trasmissione di malattie infettive, quali il virus dell'epatite C e l'HIV.*

*La necessità di garantire la massima riduzione dei rischi, abbinata alla qualità e all'efficacia del sangue e dei suoi componenti, ha spinto la comunità scientifica ad intraprendere nuove azioni in materia di sicurezza, in virtù del fondamentale principio di ogni attività medica: "primum non nocere".*

*Oggi, questa specializzazione sanitaria è regolamentata da una serie di norme restrittive relative a tutto il "percorso trasfusionale", dalla raccolta e dal controllo del sangue umano e dei suoi componenti alla loro lavorazione, conservazione e distribuzione. Il rispetto delle normative e l'applicazione di*

*procedure volte ad ottimizzare l'utilizzo del sangue rappresentano una premessa indispensabile e inderogabile per il buon uso del sangue.*

*Alle complicazioni infettive, prime e maggiori responsabili dell'allarme suscitato sull'utilizzo di sangue omologo, si sono aggiunte altre cause che hanno portato a una maggiore prudenza nell'impiego della trasfusione allogenica, quali l'incapacità di soddisfare il crescente fabbisogno trasfusionale ed i costi che il suo trattamento comporta.*

*L'aumentata sensibilità per tali problematiche da parte degli operatori sanitari ha consentito lo sviluppo di nuove metodiche volte a ridurre la richiesta di sangue omologo, prima fra tutte l'autotrasfusione o trasfusione autologa, definita la forma di trasfusione più sicura dal momento che il sangue è prelevato dallo stesso paziente cui è destinato.*

## 2.1 L'IMPORTANZA DELL'AUTOTRASFUSIONE

La trasfusione autologa può essere definita come l'insieme di tutte le tecniche volte alla raccolta e alla successiva reinfusione in un paziente del suo stesso sangue.

L'introduzione di tale metodica ha consentito di fronteggiare i due principali problemi della consueta pratica trasfusionale, ossia:

- **i rischi per il paziente:**
  - trasmissione di malattie infettive (HIV, epatiti, ecc.);
  - reazioni allergiche;
  - reazioni emolitiche (da allo-immunizzazione);
  - effetti immunosoppressivi;
- **il crescente fabbisogno trasfusionale** e la conseguente incapacità di soddisfarne le richieste. Negli ultimi anni sono state condotte a livello nazionale, regionale e locale campagne a favore della promozione della donazione del sangue, le quali hanno portato a un progressivo aumento del numero dei donatori, reso ancor più significativo a partire dal 2002 quando le iniziative intraprese a riguardo sono state attuate sinergicamente. Sebbene i dati relativi alla raccolta del sangue e ai donatori siano migliorati, a causa di nuove prospettive terapeutiche, apertura di nuovi centri ad alta tecnologia, ecc..., anche la domanda sembra essere aumentata (se si considera un consumo teorico di 40 unità di globuli rossi /1000 abitanti sarebbero necessarie circa 2.300.000 unità per soddisfare il bisogno nazionale annuo teorico di sangue).

Quindi, non solo il sangue e gli emocomponenti autologhi rimangono l'opzione più sicura, ma la diffusione delle procedure autotrasfusionali è anche un importante contributo al raggiungimento dell'autosufficienza nazionale per le unità di sangue allogeneico.

La disponibilità di macchine di recupero sempre più efficienti e sicure e gli indubbi vantaggi che da esse derivano consentiranno di restringere l'impiego della trasfusione omologa a settori sempre più limitati e selezionati.

L'autotrasfusione può essere realizzata mediante tre diverse procedure:

- **la donazione autologa preoperatoria o pre-deposito**, che prevede la raccolta e la conservazione del sangue del paziente nel periodo preoperatorio, in modo tale da renderlo disponibile al momento dell'intervento; il pre-deposito si propone di ridurre l'esposizione alla trasfusione omologa soprattutto per i pazienti sottoposti a chirurgia elettiva e, in quanto tale, programmabile.
- **l'emodiluizione normovolemica preoperatoria** (Acute Normovolemic Hemodilution), tesa a costituire, nei casi in cui non è possibile procedere al pre-deposito, una riserva di sangue autologo da reinfondere nel paziente al termine dell'intervento. Il sangue intero viene prelevato dal soggetto immediatamente prima della procedura chirurgica e il volume sottratto è ricostruito con cristalloidi oppure con colloidi. Diluendo la concentrazione della parte corpuscolata, si riducono in termini assoluti le perdite di globuli rossi, globuli bianchi, piastrine e dei componenti plasmatici, grazie al basso HCT del sangue refluo dal campo operatorio. Essa presenta anche altri vantaggi, come quello di conservare in quantità significative i fattori della coagulazione e le piastrine e, contemporaneamente, di assicurare benefici effetti sul flusso ematico sia nel macro che nel microcircolo in virtù della minore viscosità.
- **la trasfusione autologa intraoperatoria**, caratterizzata dal recupero del sangue perso dal paziente nel corso dell'intervento chirurgico, dalla sua lavorazione (mediante filtrazione, centrifugazione e lavaggio) e dalla successiva reinfusione nel paziente stesso.

Sebbene la prima pubblicazione scientifica in cui è accuratamente descritta l'autotrasfusione eseguita su cani risalga al 1818 ad opera del professor J. Blundell, la prima trasfusione autologa applicata con successo su un paziente traumatizzato fu realizzata da Duncan solamente negli ultimi decenni dell'Ottocento.

Durante le prime decadi del Novecento lo sviluppo dei primi anticoagulanti e della capacità di conservare il sangue prelevato alimentò l'interesse per la trasfusione autologa, ma è solo nel 1943 con la realizzazione



del primo dispositivo per autotrasfusione da parte di A. Griswold che si pone una pietra miliare per lo sviluppo di questa tecnica.

Nel corso degli anni '60 la trasmissione di agenti virali divenne oggetto di crescente preoccupazione e indusse Klebanoff a costruire un nuovo sistema di recupero del sangue, capace di aspirare, raccogliere, filtrare ed, infine, reinfondere il prodotto finale; il dispositivo fu però progressivamente abbandonato a causa dell'alta incidenza di complicanze emorragiche e di embolia gassosa.

Wilson e Taswell, nel 1968, realizzarono un sistema che, oltre al filtraggio, effettuava il lavaggio con una soluzione salina delle emazie recuperate; nel 1970, Orr e i suoi collaboratori costruirono il primo dispositivo basato sulla centrifugazione del sangue raccolto (il prodotto finale era costituito da RBCs sospese in una soluzione salina).

Nel 1986 la trasfusione autologa fu ufficialmente riconosciuta come "...la forma più sicura di terapia trasfusionale" (Council of Scientific Affairs, American Medical Association).

In questo lavoro l'attenzione è focalizzata sui dispositivi dedicati al recupero intraoperatorio del sangue, per i quali si è avuto un progressivo sviluppo e miglioramento. Si distinguono due diverse soluzioni tecniche: a) gli apparati che prevedono la raccolta del sangue e la sua filtrazione prima della somministrazione e b) i sistemi basati sul recupero, con successiva separazione e concentrazione degli eritrociti e sul lavaggio finale per la rimozione dei prodotti di scarto.

In entrambe le procedure il sangue viene aspirato dal campo operatorio, mescolato con un anticoagulante (eparina o preparato citrato-fosfato-destrosio) e convogliato nel contenitore sterile di raccolta, provvisto di filtro. Il sangue perso durante l'intervento contiene piastrine e prodotti della coagulazione attivati, nonché residui ossei, grasso ed altri aggregati, cellulari e non. Per questo motivo si raccomanda che sia sottoposto alle procedure di filtrazione e, se possibile, di lavaggio prima della reinfusione.

Nel caso specifico dei dispositivi appartenenti al secondo gruppo, una volta raggiunta la quantità prestabilita, il sangue viene riversato in una centrifuga, di capacità variabile, in rotazione ad una velocità compresa tra 5000 giri al minuto e 6000 giri al minuto. La forza centrifuga provoca la separazione del sangue nelle sue componenti e la raccolta, sulle pareti della

campana, degli eritrociti, che vengono così concentrati per aumentare l'ematocrito. Raggiunto un sufficiente quantitativo di globuli rossi, questi ultimi vengono "lavati" con una soluzione salina per eliminare gli eventuali residui plasmatici, l'emoglobina libera, il potassio in eccesso e la maggior parte delle piastrine. A tal fine viene utilizzata una soluzione sterile in quantità variabile, a seconda delle caratteristiche dell'ampolla e del livello presunto di contaminazione del sangue raccolto (la chirurgia ortopedica, ad esempio, ricca di scorie, viene sottoposta a volumi di lavaggio maggiori).

Questa procedura consente di preparare un'unità di concentrato eritrocitario in 2-7 minuti, variabilità che dipende dalle diverse condizioni operative; la presenza di una piccola quantità di globuli bianchi e piastrine è da attribuire alla particolare tecnica utilizzata per separare i componenti del sangue.

## **2.2 VANTAGGI E SVANTAGGI DELL'AUTOTRASFUSIONE INTRAOPERATORIA**

L'autotrasfusione intraoperatoria, consentendo l'immediata disponibilità di sangue dello stesso organismo che è sottoposto alla trasfusione, elimina le reazioni di incompatibilità, il pericolo (seppur minimo al giorno d'oggi) di trasmissione di agenti infettivi ed il rischio di immunizzazione da antigeni diversi.

A tali aspetti si aggiungono ulteriori vantaggi di non minore importanza, tra i quali:

- una migliore qualità delle emazie rispetto al sangue omologo. Ad esempio, la rottura degli eritrociti con conseguente rilascio di emoglobina nel plasma si verifica nel processo di raccolta così come accade per il sangue allogenico, ma le successive procedure di concentrazione e lavaggio eliminano i residui presenti, ottenendo un concentrato eritrocitario puro e, soprattutto, vitale.
- la riduzione della perdita netta di sangue durante l'intervento. La reinfusione del sangue perduto riduce l'ammontare di sangue che il

paziente effettivamente perde ed il bisogno, dunque, di trasfusioni omologhe.

- il decremento della richiesta alle banche del sangue (le emoteche), che ha portato ad un aumento della disponibilità per i pazienti che, invece, devono necessariamente ricorrere al sangue allogenico.
- assenza di test di compatibilità. Il preparato è di esclusivo uso autologo, pertanto non è soggetto ai vincoli imposti dai protocolli per l'accertamento dell'idoneità del donatore.
- assenza del bisogno di pre-deposito. La donazione autologa preoperatoria richiede prelievi ripetuti prima dell'intervento chirurgico, di conseguenza è limitata dalla capacità del paziente di donare sangue in sufficiente quantità e dalla disponibilità di tempo (non è possibile, ad esempio, in regime di urgenza); al contrario, il recupero intraoperatorio, essendo attivo per l'intera durata dell'atto chirurgico, è in grado di assicurare un recupero di sangue proporzionale a quello perso dal paziente, qualunque sia la sua entità.
- contenimento dei costi. Nel valutare il rapporto costo-efficacia, molteplici sono gli aspetti da considerare: dal costo di una sacca di sangue omologo a quello del dispositivo e della formazione del personale necessari per il recupero intraoperatorio, non trascurando l'incidenza degli effetti indesiderati associati alle due diverse metodiche. In Italia, l'impiego risulta essere economicamente vantaggioso quando vengono recuperate almeno due unità di sangue. Se meno di due unità possono essere reinfuse, la perdita ematica può essere trattata con la raccolta di sangue intero o con l'impiego di cristalloidi.

L'autotrasfusione intraoperatoria, però, non è esente da rischi e complicanze, che devono essere prese in considerazione e ponderate quando si decide di effettuare questa strategia di trasfusione autologa. Ne sono un esempio:

- l'emolisi, la cui causa primaria è la turbolenza dovuta al mescolamento di aria e sangue nel tubo di aspirazione. Altre cause possono essere le variazioni di diametro lungo il percorso di flusso

nel sistema, imperfezioni delle superfici, la presenza di una pompa peristaltica, residui da sterilizzazione dei componenti monouso e l'esposizione del sangue a sostanze emolitiche introdotte nella ferita.

- le coagulopatie, che si verificano soprattutto quando un paziente riceve consistenti volumi di sangue. Infatti, il processo di lavaggio elimina anche piastrine e fattori della coagulazione, lasciando solamente le RBCs sospese in una soluzione salina.
- la possibilità di embolia gassosa, che è la più temibile tra le principali complicanze legate all'uso del recupero intraoperatorio. La presenza di aria nei circuiti è un incidente nella fase di reinfusione del sangue ed è dovuta a variazioni di pressione, spesso effettuate per rendere più rapida la trasfusione.
- il rischio di infezione. Ogni volta che si prepara l'attrezzatura di autotrasfusione, c'è la possibilità di introdurre nel sistema focolai infettivi con possibile contaminazione batterica del sangue recuperato; è essenziale dunque garantire, durante la procedura di installazione dei diversi componenti monouso, la loro sterilità.
- la possibile presenza di sostanze pericolose per il paziente (microembolizzazione). Il processo di centrifugazione, che consente di separare e concentrare gli eritrociti, si basa su una caratteristica delle particelle: *la densità*; di conseguenza, particelle con la medesima densità dei globuli rossi non vengono rimosse durante la procedura e vi è, quindi, il rischio di infondere materiale potenzialmente dannoso nel paziente (per esempio, frammenti ossei).
- lo sconsigliato impiego in alcune procedure chirurgiche. Il ricorso alla trasfusione intraoperatoria non è, ad esempio, consigliato se la sede dell'intervento è infetta (in quanto nessun filtro è in grado di eliminare i batteri) o si è in presenza di una malattia neoplastica (in tal caso le cellule tumorali possono essere aspirate dal sito operatorio e, dopo la reinfusione, entrare in circolo con il potenziale rischio di una diffusione della malattia).

Bisogna inoltre sottolineare che per attuare il recupero intraoperatorio è essenziale non solo l'impiego di una strumentazione che si avvale di una sofisticata tecnologia, ma anche la specializzazione del personale tecnico. I

dispositivi devono essere usati correttamente per non creare pericoli di alcun tipo agli addetti e ai pazienti, dunque è compito dei produttori formare gli operatori sull'uso appropriato del dispositivo e sulle diverse modalità di raccolta. I macchinari attualmente in commercio sono di più facile impiego rispetto al passato e completamente automatizzati; inoltre, il programma fornito dal software consente di avere costantemente informazioni sulla fase di lavorazione e di disporre di vari livelli di controllo.

### **2.3 LE APPLICAZIONI CLINICHE**

La trasfusione autologa intraoperatoria dovrebbe essere presa in considerazione in tutte quelle operazioni chirurgiche per le quali vi è una elevata probabilità di ricorrere alla trasfusione di sangue omologo; in realtà, come visto, diversi fattori compromettono l'adeguatezza e l'impiego di tale tecnica.

L'American Association of Blood Banks ha rilasciato importanti linee guida, aventi come principio l'efficienza e la maggior efficacia dei processi.

L'autotrasfusione intraoperatoria è stata, inizialmente, applicata ai traumi chirurgici, durante i quali quantità significative di sangue compatibile non erano immediatamente disponibili.

Oggi, si assiste all'impegno del recupero intraoperatorio in molteplici procedure chirurgiche. Quest'ultimo è infatti largamente adoperato nelle operazioni caratterizzate da perdite ematiche importanti (specie in cardiocirurgia, ortopedia, neurochirurgia, chirurgia vascolare) e in tutti quegli interventi eseguiti in regime di urgenza (specie politraumi), in cui non è possibile o è inadeguata la donazione preoperatoria.

<b>Procedura</b>	<b>Esempi</b>
Trauma	Ferite con lacerazione di un vaso principale
Cardiochirurgia	Sostituzione valvolare
Chirurgia vascolare	Aneurisma aortico
Ortopedia	Sostituzione di articolazioni (ginocchio, anca)
Trapianti	Fegato
Neurochirurgia	Malformazioni A-V
Generale	Splenectomia

**Tabella 2.1: Esempi di aree in cui l'autotrasfusione intraoperatoria è o può essere applicata.**

Questa particolare tipologia di trasfusione può essere impiegata non solo in sala operatoria, ma anche nei centri di emergenza e nelle unità di terapia intensiva. Ad esempio, nel caso di pazienti ammessi ai centri di emergenza con sanguinamento interno è possibile recuperare il sangue utilizzando i tubi di drenaggio appositamente inseriti. Come detto, se la sede dell'intervento è infetta, è consigliabile non procedere al recupero di sangue stante il rischio di favorire una disseminazione batterica. Questa situazione si può verificare in pazienti con lesioni addominali, il cui sangue ha un'alta probabilità di essere contaminato a causa della fuoriuscita del contenuto intestinale.

## **2.4 LE CARATTERISTICHE DEL SANGUE RACCOLTO**

Nell'introduzione di questo capitolo sono stati discussi i potenziali pericoli associati alla trasfusione di sangue allogenico, la cui caratteristica più critica è la diminuzione del contenuto eritrocitario del 2,3-difosfoglicerato (DPG)<sup>2</sup> che influenza il rilascio di ossigeno ai tessuti. Studi effettuati sul sangue autologo mostrano un quadro differente. È opportuno ricordare infatti

---

<sup>2</sup> Il 2,3-difosfoglicerato, presente nei globuli rossi, si lega alle catene  $\beta$  dell'emoglobina, facilitando in tal modo il passaggio dell'ossigeno dall'emoglobina stessa ai tessuti. Il sangue più a lungo conservato presenta una riduzione del 2,3-difosfoglicerato, che determina un aumento di affinità per l'O<sub>2</sub> da parte degli eritrociti e, dunque, un minor rilascio di O<sub>2</sub> ai tessuti.

che se in quest'ultimo caso gli eritrociti sono freschi e vitali, nel caso di sangue omologo le RBCs sono trattate e sottoposte ai test e alla refrigerazione.

È bene distinguere le caratteristiche del sangue appena raccolto da quelle del sangue processato prima della reinfusione, esaminando il tasso, presente nel campione finale, di emoglobina libera, delle piastrine, dell'anticoagulante e di alcuni fattori di infiammazione.

Il sangue non trattato presenta, di norma, valori di emoglobina ed ematocrito nettamente inferiori rispetto a quelli del sangue sistemico. Tra i molteplici fattori che contribuiscono a questa diluizione vi sono, in primis, l'anticoagulante mescolato al sangue in seguito alla sua aspirazione dal campo chirurgico, la soluzione salina (utilizzata per ripulire il sito operatorio e, di conseguenza, introdotta nel contenitore di raccolta) e l'emolisi dei globuli rossi dovuta all'aspirazione.

Nonostante alcune alterazioni strutturali, il volume corpuscolare medio così come le altre caratteristiche delle emazie rientrano nella fascia di normalità. I tassi di 2,3 DPG nei limiti della norma, insieme al tempo di sopravvivenza degli eritrociti, dimostrano che queste cellule hanno migliori caratteristiche rispetto a quelle del sangue allogenico.

Se il minore valore di emoglobina ed ematocrito è indice della diluizione del sangue raccolto, altresì la maggiore concentrazione di emoglobina libera plasmatica segnala la marcata emolisi.

L'emolisi, diretta conseguenza del processo di raccolta, è dovuta anche ad altri fattori: sostanze spesso aggiunte al sito operatorio possono provocare la distruzione degli eritrociti.

Il pericolo derivante da elevati livelli di emoglobina libera è, tuttora, oggetto di discussione; molti esperti ritengono che un elevato tasso non sia di per sé causa di problemi renali in un soggetto con una normale funzione renale, tuttavia è un aspetto da non trascurare per evitare l'insorgere di eventuali problemi nei pazienti.

Le piastrine, con qualche segno di modesta degranulazione ed i leucociti sono presenti in numero cospicuo senza altri evidenti segni di alterazione; anche se è possibile ipotizzare una normale funzionalità, mancano dati certi a riguardo.

Le concentrazioni degli elettroliti riflettono quelle fisiologiche, i livelli di CO<sub>2</sub> restano bassi ed i parametri biochimici rientrano nella norma, ad

eccezione dell'albumina e delle proteine totali che sono leggermente diminuite nel sangue non lavato.

E' interessante notare la presenza di componenti del sistema coagulativo, potenziale causa di gravi disturbi della coagulazione.

Per quel che riguarda invece il sangue completamente processato prima della reinfusione, i globuli rossi presentano un tasso di sopravvivenza elevato e, soprattutto, maggiore di quello delle emazie ottenute col pre-deposito.

Inoltre, è presente una normale resistenza alla lisi osmotica e i livelli di 2,3 DPG nella norma o, addirittura, aumentati confermano che la capacità di trasporto dell'O<sub>2</sub> da parte delle emazie recuperate è maggiore di quella del sangue allogenico. In tal caso si ha un ematocrito che si aggira intorno al 50% e concentrazioni molto basse di Hb libera.

I leucociti, a loro volta, risultano in larga parte danneggiati (>75%) così come le poche piastrine superstiti, in prevalenza non funzionanti a causa del danno prodotto dalla soluzione salina utilizzata nella fase di lavaggio. Anche il fibrinogeno così come gli altri fattori della coagulazione vengono quasi totalmente eliminati durante il lavaggio. L'albumina e le proteine totali vengono rimosse per il 95%.

Il quadro risultante sottolinea che l'autotrasfusione è la forma di trasfusione più sicura e che, in particolare, l'autotrasfusione intraoperatoria è la tecnica che fornisce il prodotto finale di migliore qualità.



## **2.5 I PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO DI UN DISPOSITIVO PER AUTOTRASFUSIONE INTRAOPERATORIA**

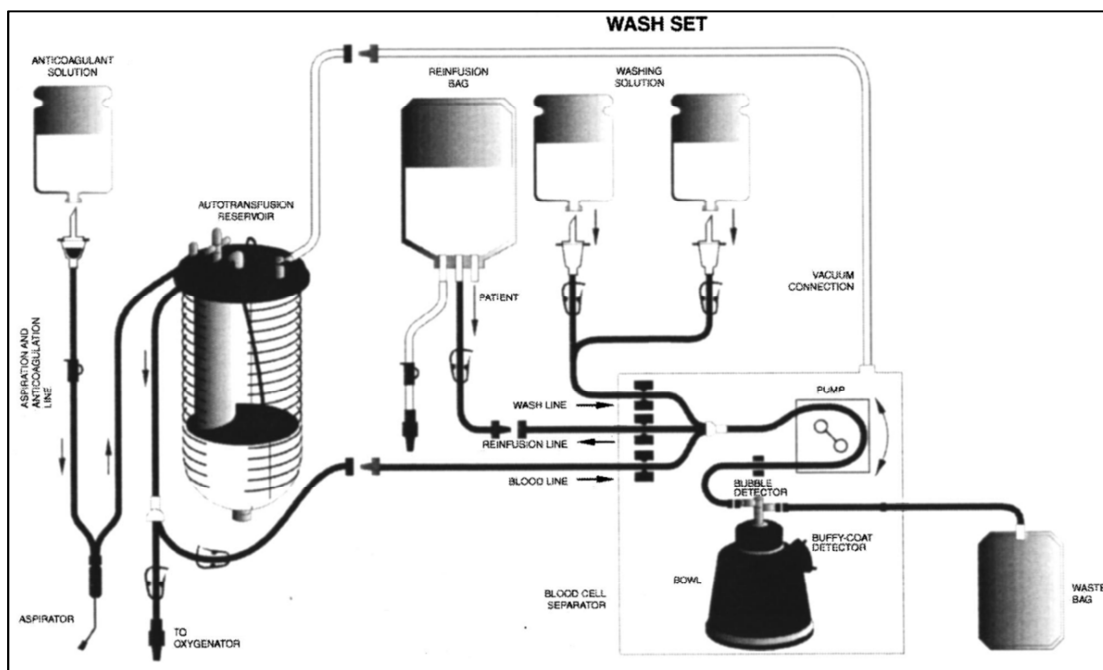
Il recupero intraoperatorio del sangue e la successiva reinfusione degli eritrociti concentrati avviene attraverso tre fasi fondamentali.

I) Il sangue, perduto dal paziente e raccolto dal campo operatorio mediante vuoto, viene mescolato con anticoagulante e trasportato ad un contenitore di raccolta sterile (detto anche “*reservoir*”).

II) Recuperata l'adeguata quantità di sangue, questa viene pompata ad un contenitore, la “*bowl*”, cui è applicato un campo centrifugo; nella bowl il sangue è frazionato nei suoi singoli componenti e, mentre gli eritrociti sono trattenuti in essa, il plasma e il restante materiale particolato lasciano l'ampolla attraverso un'apertura presente nella sua parte superiore. Il processo di separazione ha l'obiettivo di concentrare i globuli rossi così da aumentare l'ematocrito del sangue raccolto che, come detto, risulta diluito rispetto al sangue intero.

III) Dopo la fase di separazione e concentrazione, una soluzione salina viene riversata nella centrifuga in rotazione per rimuovere eventuali residui. A lavaggio completato, il prodotto finale viene convogliato in una sacca di raccolta per essere successivamente trasfuso per semplice gravità o ricorrendo, qualora necessario, all'uso di sistemi di infusione rapida.

Il sangue raccolto deve essere mescolato ad un anticoagulante per prevenire la coagulazione e, successivamente, la fibrinolisi; di conseguenza, viene aspirato dal campo operatorio attraverso un tubo a doppia sezione: quella più ampia serve a convogliare nel reservoir il sangue proveniente dal campo operatorio, mentre quella più piccola infonde in continuo una soluzione che rende incoagulabile il sangue aspirato. Particolare attenzione deve essere prestata ad una appropriata somministrazione di anticoagulante. Se vi è una quantità insufficiente, il sangue andrà incontro alla formazione di coaguli e presenterà una maggiore attivazione delle piastrine e fattori della coagulazione attivati, oltre alla ridotta quantità di emazie non danneggiate disponibili per il paziente. Se, al contrario, si usa anticoagulante in eccesso, maggiore sarà la difficoltà nel rimuoverlo durante il ciclo di lavaggio.



**Figura 2.1: Rappresentazione dei componenti di un sistema per autotrasfusione e delle rispettive connessioni durante l'intera procedura (Ruggeri et al., 2000).**

### 2.5.1 La fase di raccolta

L'aspirazione, per effetto del vuoto realizzato con un'apposita pompa, è impiegata per trasportare il sangue dal sito chirurgico al contenitore sterile di raccolta.

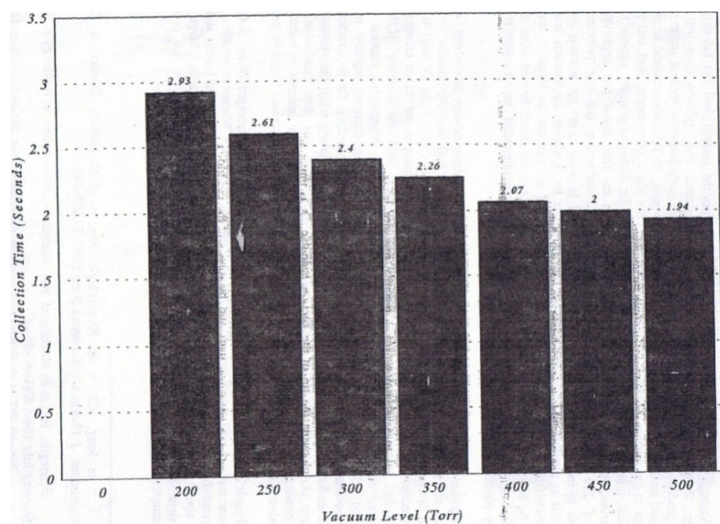
Nel corso degli anni diversi studi si sono soffermati sulla distruzione degli eritrociti a causa del trauma meccanico e, ad onor del vero, i principali responsabili sembrano essere la pressione applicata dalla pompa, lo shear stress, la turbolenza generata dal mescolamento di aria e sangue nel tubo di aspirazione e le interazioni con le pareti. È stato constatato che pressioni negative inferiori a  $-200 \text{ mmHg}$  comportano emolisi e che la turbolenza la incrementa poiché favorisce il trasporto degli eritrociti verso le pareti. Al fine di prevenire l'emolisi e, dunque, recuperare il maggior numero di globuli non danneggiati, è importante regolare il livello di vuoto entro i limiti consentiti (di norma, sotto i  $100\text{-}150 \text{ mmHg}$ ).

Un'altra ragione per mantenere bassi i livelli di vuoto durante la procedura risiede nella possibilità di implosione del contenitore rigido quando

quest'ultimo è sottoposto ad una pressione negativa eccessiva. Sotto tali condizioni, un recipiente flessibile collassa, ma in tale ambito i contenitori impiegati sono rigidi e, di conseguenza, vanno incontro all'esplosione.

Le condizioni che possono portare ad eccedere i limiti consentiti nel reservoir sono numerose (ad esempio, la chiusura delle cannule di aspirazione e di anticoagulazione mentre viene fatto il vuoto o l'ostruzione del tubo di aspirazione da parte di detriti) e devono essere assolutamente evitate durante la procedura di autotrasfusione intraoperatoria.

La Figura 2.2 mostra, in particolare, come il livello di vuoto incida sul tempo di raccolta del sangue.



**Figura 2.2: Variazione del tempo di raccolta (100 ml) al variare del livello di vuoto.**

Il contenitore sterile di recupero è munito di un sistema di filtraggio che consente di rimuovere i coaguli di maggiori dimensioni ed i detriti del campo operatorio, senza causare ulteriori danni ai componenti del sangue.

Nella fase di raccolta si deve prestare molta attenzione al recupero del sangue, in modo tale da prevenire l'aspirazione di coaguli, frammenti di tessuto ed altre sostanze potenzialmente dannose (liquido amniotico, cellule tumorali, liquidi gastrici, ecc...); si consiglia, ad esempio, di non aspirare sangue direttamente dalla ferita, poiché ciò causa una maggiore emolisi (in virtù di un maggiore contatto aria-sangue nel tubo di aspirazione).

Il sangue raccolto all'interno del reservoir viene poi inviato alla bowl mediante una pompa peristaltica (Figura 2.3).

Il flusso di sangue in ingresso ed in uscita dal sistema di centrifugazione avviene mediante tre canali distinti: il canale che collega il reservoir e la bowl (aperto nella fase di riempimento della centrifuga), quello che convoglia alla bowl la soluzione necessaria per il lavaggio (aperto nel ciclo di lavaggio) ed, infine, il canale che riversa il prodotto finale dalla bowl alla sacca per la reinfusione.

Colore valvola	Nome valvola	Sito	Posizione nel ciclo di <u>Riempimento</u>	Posizione nel ciclo di <u>Lavaggio</u>	Posizione nel ciclo di <u>Reinfusione</u>
Rosso	Fill	Reservoir e bowl	Aperta	Chiusa	Chiusa
Giallo	Wash	Set di lavaggio e bowl	Chiusa	Aperta	Chiusa
Blue	Empty	Bowl e sacca di reinfusione	Chiusa	Chiusa	Aperta

**Tabella 2.2: Posizione delle valvole durante la procedura di processamento del sangue.**

Quando un canale è aperto, il rullo della pompa peristaltica, ruotando, "strozza" in modo progressivo il tubo flessibile e provoca così l'avanzamento del fluido.



**Figura 2.3: Sistema per autotrasfusione sviluppato da Sorin Group Italia. È possibile distinguere la bowl e la pompa peristaltica con i rispettivi canali.**

Le pompe peristaltiche sono caratterizzate dal fatto che il fluido non entra mai in contatto con alcun meccanismo o materiale diverso da quello con cui viene prelevato, evitando ogni possibile contaminazione. Componente fondamentale della pompa è il tubo che deve resistere allo schiacciamento il più a lungo possibile, deformandosi in maniera elastica e non plastica. È proprio l'elasticità che consente al tubo di riacquisire le dimensioni originali e, quindi, garantire la prevalenza al fluido e la capacità di aspirazione.

### 2.5.2 La fase di separazione e di concentrazione

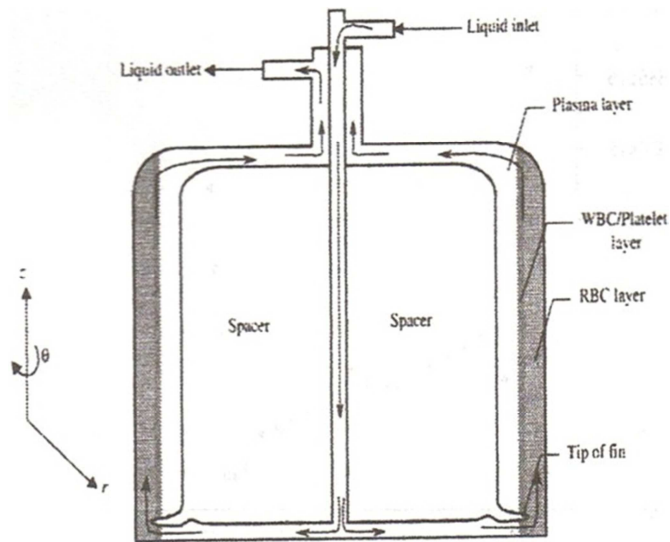
La separazione dei componenti del sangue si ottiene inducendo la sedimentazione delle particelle sospese per effetto centrifugo, fenomeno che ha luogo nella “*bowl*”, detta anche centrifuga e che rappresenta il componente fondamentale dell'intero sistema di recupero (Figura 2.4).



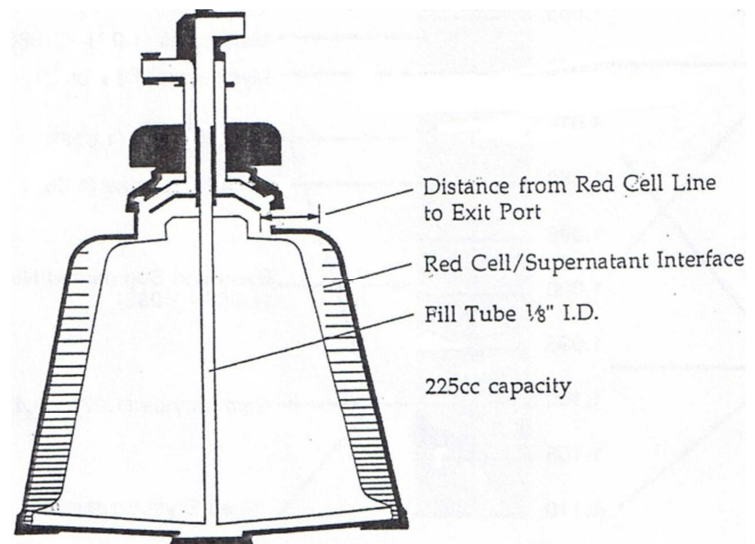
**Figura 2.4:** Esempio di bowl sviluppata da *Sorin Group Italia*.

La forza esercitata sul sangue dipende dalla velocità di rotazione imposta e dal raggio; essa cresce con la velocità di rotazione e si riduce progressivamente procedendo dal lato più esterno, dove assume valore maggiore, verso l'interno.

La Figura 2.5 mostra le due geometrie impiegate, diverse fra loro per forma e dimensioni: la “*Baylor Bowl*” e la “*Latham Bowl*”.



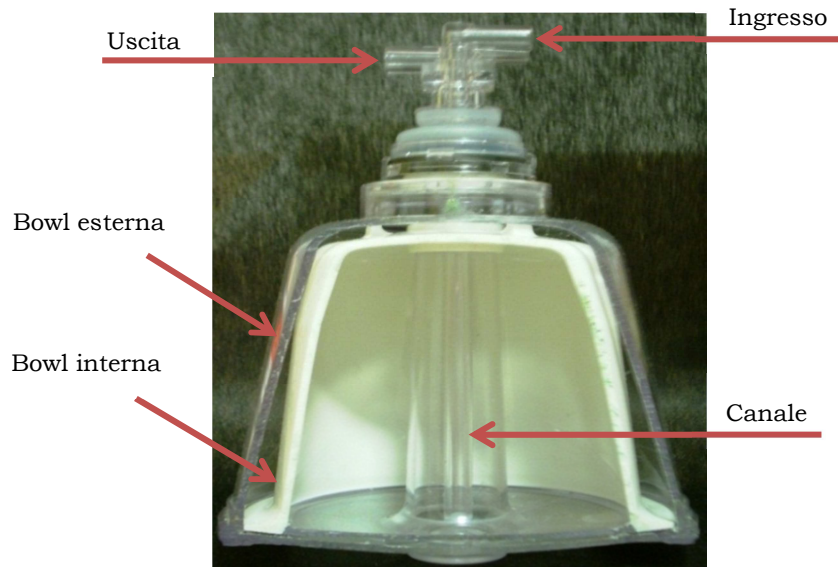
a)



b)

**Figura 2.5: a) Baylor e b) Latham bowl.**

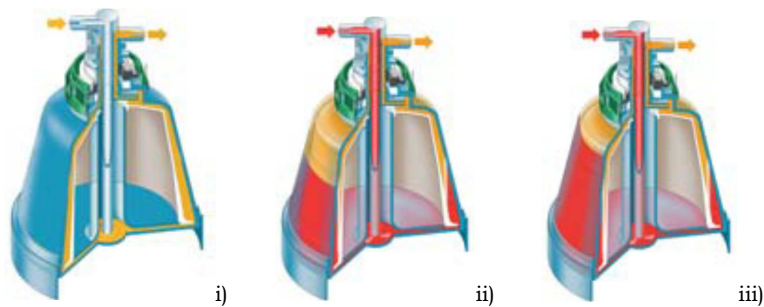
Nel presente lavoro, l'analisi è stata condotta su una geometria di tipo Latham, caratterizzata da due strutture di forma tronco-conica, che delimitano lo spazio occupato dal fluido (Figure 2.5b-2.6). Le due bowls sono saldate mediante dei distanziali, che consentono loro di ruotare in modo solidale a circa 5600 giri al minuto e, allo stesso tempo, lasciano lo spazio necessario per il passaggio del sangue.



**Figura 2.6: Particolari della bowl sviluppata da Sorin Group Italia.**

Il sangue fluisce dal contenitore di raccolta alla bowl e, attraverso il canale centrale, è convogliato sul fondo del dispositivo.

Alla base, a causa della rotazione e, di conseguenza, della forza che essa imprime al sangue, quest'ultimo viene spinto verso le pareti esterne della centrifuga. Come mostrato nella Figura 2.5a, esso supera la piccola ala che sporge nella parte inferiore della bowl più interna e scorre verso l'alto, riempiendo la camera presente tra la struttura interna e quella esterna.



**Figura 2.7: Progressivo ingresso del sangue nella centrifuga, che nel caso i) appare completamente vuota.**

La separazione delle componenti del sangue per effetto centrifugo, così come per effetto gravitazionale, si basa sulla densità delle particelle, di conseguenza eritrociti, leucociti, piastrine e plasma si stratificano in modo diverso in virtù dei loro valori di densità.

In particolare, i globuli rossi, caratterizzati da una maggiore densità, si accumulano sulla parete più esterna, i leucociti e le piastrine, a loro volta meno densi, formano uno strato al di sopra degli eritrociti, indicato con l'espressione "*buffy coat*", mentre il plasma fluisce tra lo strato cellulare e la bowl interna fino a raggiungere l'uscita.

Il sangue entra progressivamente nella centrifuga, la massa degli eritrociti aumenta e i componenti meno densi, chiamati "*supernatant*", lasciano la bowl attraverso l'apertura superiore; questo continuo meccanismo ha lo scopo di concentrare i globuli rossi e dunque aumentare il valore di ematocrito. Durante tale processo, si assiste alla formazione di una distinta linea di demarcazione tra emazie e surnatante.

Il grado di concentrazione degli eritrociti dipende non solo dalla forza centrifuga ma anche dall'intervallo di tempo durante il quale tale forza è applicata alla bowl. Dal momento che la forza centrifuga rimane costante, la sola variabile che influenza il processo è il tempo. Tale variabile è determinata dalla portata di sangue in ingresso e, quindi nel caso in esame, dalla velocità di rotazione della pompa peristaltica.

Riducendo la portata in ingresso, ossia pompando il sangue più lentamente nella bowl, il sangue è sottoposto al campo centrifugo per un intervallo di tempo più esteso, con il conseguente aumento dell'ematocrito finale e la possibilità di convogliare una quantità di sangue più elevata. In altre parole, una minore velocità della pompa peristaltica comporta un maggiore ematocrito finale.

Come detto, il principio di funzionamento di questa pompa si basa sulla pressione di uno o più rulli rotanti che, schiacciando in modo progressivo il tubo flessibile, provocano la spinta del sangue. L'alternanza tra compressione e rilassamento del tubo genera un richiamo continuo del prodotto.

Il sangue fluisce nella centrifuga fino a quando il livello degli eritrociti non è rilevato da un sensore, collocato nella parte superiore della bowl e che pone fine alla fase di separazione; a tal punto, si verificano la chiusura della valvola che collega reservoir e bowl e la concomitante apertura del canale che trasporta la soluzione salina necessaria per il successivo lavaggio.



### 2.5.3 La fase di lavaggio e di reinfusione

Se la fase di separazione permette di raccogliere e concentrare le RBCs, il lavaggio successivo consente l'accurata eliminazione dei componenti non desiderati, come, per esempio, i prodotti di emolisi, la cui formazione è inevitabile per la prolungata esposizione delle emazie a superfici artificiali e al trauma meccanico.

In seguito alla separazione, una quantità stabilita di soluzione salina sterile ed isotonica viene riversata nella bowl in modo tale da eliminare la quantità residua di surnatante.

Per il ciclo di lavaggio non devono essere utilizzate soluzioni ipotoniche oppure ipertoniche, dal momento che le prime causano l'assorbimento, per osmosi, di acqua con conseguente rigonfiamento e rottura delle cellule, mentre le seconde provocano la perdita dei liquidi interni e, dunque, la disidratazione degli eritrociti. Di norma si impiega una soluzione salina allo 0.9%, anche se spesso si ricorre a soluzioni isotoniche opportunamente preparate, in modo tale da ristabilire la concentrazione di elettroliti perduti durante il lavaggio; in tal caso, però, particolare attenzione deve essere prestata all'uso combinato di anticoagulante e soluzione salina. Norme stringenti regolano la scelta del tipo di soluzione da adoperare, i suoi parametri caratteristici e le modalità di preparazione e conservazione.

La quantità prestabilita per la soluzione di lavaggio dipende dal volume della centrifuga (attualmente, il valore standard si aggira intorno a 1000 ml per bowl) e dalla qualità del sangue raccolto. Durante la procedura di lavaggio è possibile utilizzare un volume maggiore rispetto al limite fissato se il canale che collega la bowl alla sacca di scarto continua ad avere una colorazione chiara e, dunque, a non risultare pulito. Ad esempio, può essere necessario utilizzare una quantità superiore nel caso di elevata emolisi oppure quando la bowl è solo parzialmente riempita; in questo caso, infatti, una più elevata quantità di surnatante rimane nella centrifuga e quindi occorre un maggior volume di fluido per la sua completa rimozione.

Durante la fase finale, gli eritrociti restano concentrati in virtù della forza centrifuga, mentre la soluzione salina (meno densa) fluisce nella bowl in rotazione ed elimina il plasma residuo e le sostanze in esso disciolte.

Se la soluzione salina è convogliata nella centrifuga ad una portata elevata può verificarsi la fuoriuscita non solo dei componenti di scarto, ma anche delle emazie che sono più distanti dalla parete esterna e dunque non completamente concentrate. Tecniche per fronteggiare questo problema prevedono la graduale variazione della velocità della pompa peristaltica fino al valore di portata desiderato ed il suo arresto per permettere agli eritrociti di stabilizzarsi.

È importante ricordare che la separazione si basa sulla differente densità dei componenti; ogni sostanza, allo stato solido o liquido, con densità uguale o maggiore rispetto a quella degli eritrociti non viene rimossa né durante le fasi di separazione e concentrazione né con il successivo lavaggio, dal momento che quest'ultimo è solo la rimozione di tutto ciò che è più leggero dei globuli rossi.

Ne deriva che l'efficienza del lavaggio dipende non solo dalla quantità di soluzione impiegata, ma anche dal grado di concentrazione raggiunto e dalla eventuale presenza di altre sostanze tra gli eritrociti concentrati.

Alcuni studi hanno mostrato che l'efficienza del lavaggio è anche influenzata dal tempo impiegato per l'intero trattamento; in sistemi con un tempo di processamento maggiore si ha un leggero incremento di tale efficienza.

A lavaggio completato, gli eritrociti concentrati e sospesi nella soluzione salina vengono riversati in una sacca di raccolta per essere successivamente trasfusi.

La bowl cessa di ruotare, mentre la pompa peristaltica, invertendo il movimento, convoglia i globuli rossi nell'apposito contenitore. Un sensore, avvertendo l'assenza di fluido nel canale, rileva quando la centrifuga è vuota col conseguente arresto della pompa. Nel momento in cui la pompa peristaltica si ferma, una piccola quantità di sangue rimane nella cannula tra la bowl e la sacca di reinfusione. È consigliabile convogliare questo sangue residuo nella sacca così da somministrare al paziente l'intera unità processata.

Quando il sangue viene riversato fuori dalla bowl è importante che la portata aspirata dalla pompa non sia eccessivamente elevata; in caso contrario, infatti, si corre il rischio di aspirare aria nel tubo e di arrestare involontariamente la procedura prima che la bowl sia completamente vuota, oltre che di danneggiare ulteriormente gli eritrociti quando questi vengono riversati nella sacca.

A tal punto, il prodotto finale può essere reinfuso, convogliandolo in un secondo contenitore e lasciando all'operatore il compito di effettuare la trasfusione (reinfusione indiretta) o inviandolo ad una seconda sacca munita di filtro per microaggregati sul sistema di autotrasfusione (reinfusione diretta). In quest'ultimo caso, è fondamentale monitorare costantemente il canale di reinfusione per prevenire l'embolia gassosa.

I dispositivi attualmente in commercio possono operare in modalità sia automatica che manuale, sebbene i produttori consiglino la procedura automatica dal momento che consente di ottenere ottimi risultati in termini di riduzione dell'emoglobina libera, delle piastrine, degli anticoagulanti e di alcuni fattori di infiammazione.

La sfida attuale consiste nel realizzare centrifughe che non solo massimizzino il recupero di eritrociti altamente concentrati e lavati, ma che, in condizioni di estrema gravità ed urgenza, consentano di processare piccoli volumi di sangue (circa 100 ml) il più velocemente possibile per consentire una rapida reinfusione.

L'idea, su cui tale studio si fonda, è quella di limitare il tempo complessivo del trattamento del sangue a partire dalla riduzione dell'intervallo di tempo dedicato al ciclo di lavaggio. Ciò è possibile aumentando la portata della soluzione salina, ossia pompando quest'ultima più velocemente nella bowl. Dai test sperimentali eseguiti dai diversi produttori, utilizzando portate maggiori rispetto ai limiti consigliati, è emerso il non corretto funzionamento del dispositivo di centrifugazione, che fornisce un prodotto finale non completamente concentrato. In tal caso, si è osservato anche che la soluzione isotonica di lavaggio non segue il cammino di flusso fino ad ora descritto.

Il presente lavoro, partendo dall'idea che la qualità del prodotto finale è il frutto del corretto funzionamento di ogni singola parte e della sua combinazione con gli altri componenti, si propone di analizzare il comportamento del flusso ematico all'interno della bowl, focalizzando l'attenzione in particolare sulla velocità di centrifugazione e sulla portata di lavaggio.

L'analisi è effettuata sul dispositivo *bowl-225-xtra*, nell'ambito di una possibile collaborazione con il Servizio di Ricerca & Sviluppo di *Sorin Group Italia S.r.l.*, leader mondiale nello sviluppo di tecnologie per la cardiocirurgia e per altre aree importanti quali il trattamento del sangue in genere

(dall'emodialisi all'autotrasfusione) e le patologie vascolari (settore dell'emodinamica).

### III

## LE ANALISI FLUIDODINAMICHE

*I costi elevati ed i tempi eccessivamente lunghi delle prove sperimentali si scontrano con le attuali esigenze di mercato, sempre più orientato a ridurre le spese ed i tempi di produzione. La nascita dei primi metodi numerici per la simulazione dei campi fluidodinamici e la loro diffusione nelle attività industriali e di ricerca hanno fatto prospettare l'idea di una riduzione dei test sperimentali necessari allo sviluppo di un prodotto.*

*Negli ultimi anni, in moltissimi campi della progettazione meccanica, sono state elaborate nuove metodologie di simulazione numerica, allo scopo di poter sviluppare e testare al calcolatore prodotti e processi, simulando il loro comportamento nelle condizioni di utilizzo e persino in casi limite, difficilmente riproducibili in realtà; tuttavia le prove sperimentali e i loro risultati giocano ancora un ruolo di fondamentale importanza.*

*La vasta disponibilità di modelli, per la definizione dello specifico problema fisico e di solutori, di cui STAR-CCM+ è dotato, ha fatto ricadere la scelta, per questo lavoro, proprio su di esso.*

*Il codice STAR-CCM+ è un “computational fluid dynamics” (CFD) software che permette di simulare svariati problemi di flusso di fluidi. È uno strumento completamente integrato che consente di effettuare sia la fase di pre-processing che quella di post-processing, passando attraverso la meshatura.*

*Il presente capitolo si divide in tre parti. La prima richiama il modello di Navier-Stokes ed il metodo dei volumi finiti, utilizzato dal codice CFD per risolvere le equazioni matematiche che governano il flusso di un fluido; le ultime due descrivono il processo di simulazione fluidodinamica, dalla realizzazione del modello geometrico all'analisi dei risultati ottenuti dalle simulazioni.*

### 3.1 LE EQUAZIONI DI BILANCIO

Il modello matematico che descrive il moto di un fluido deriva dai principi della meccanica del continuo:

- 1) ipotesi del continuo,
- 2) conservazione della massa,
- 3) bilancio della quantità di moto.

In base al principio di conservazione della massa si può affermare che, fissato un volume di controllo  $\mathcal{V}$ , la massa contenuta in esso varia nel tempo solo per effetto di flussi di massa attraverso la frontiera  $S$ . Questa considerazione si esprime, in forma integrale, con la seguente equazione:

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_{\mathcal{V}} \rho d\mathcal{V} = - \int_S \rho \mathbf{u} \cdot \mathbf{n} dS \quad (3.1)$$

Essendo il volume di controllo fissato nello spazio, la derivata temporale al primo membro può essere portata sotto il segno d'integrale. Inoltre, supponendo il campo di velocità derivabile e applicando il teorema della divergenza, si ottiene la seguente relazione:

$$\int_{\mathcal{V}} \left[ \frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) \right] d\mathcal{V} = 0 \quad (3.2)$$

che, data l'arbitrarietà del volume di controllo  $\mathcal{V}$ , impone che sia identicamente nulla la funzione integranda, ossia:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (3.3)$$

che esprime l'equazione di conservazione della massa in forma differenziale.

L'equazione di bilancio della quantità di moto deriva direttamente dalla seconda legge della dinamica ed esprime il fatto che, in un fissato volume di controllo, la variazione della quantità di moto è pari alla risultante delle forze

esterne agenti sul volume stesso. Si può dunque scrivere:

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_V \rho \mathbf{u} dV = - \int_S \rho \mathbf{u} (\mathbf{u} \cdot \mathbf{n}) dS + \int_V \rho \mathbf{F} dV + \int_S \mathbf{n} \cdot \mathbf{T} dS \quad (3.4)$$

in cui il primo integrale al secondo membro rappresenta il flusso convettivo della quantità di moto,  $\mathbf{F}$  è un campo vettoriale che rappresenta le forze di volume agenti sul volume fluido e  $\mathbf{T}$  è il tensore degli sforzi, normali e tangenziali agenti sulla frontiera di  $V$ , che esprime le forze superficiali.

In modo del tutto analogo a quanto fatto per l'equazione di continuità, si può porre in forma differenziale l'equazione di bilancio della quantità di moto, ottenendo:

$$\frac{\partial \rho \mathbf{u}}{\partial t} = - \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \mathbf{u}) + \rho \mathbf{F} + \nabla \cdot \mathbf{T} \quad (3.5)$$

dove il tensore degli sforzi, per un fluido Newtoniano, è legato linearmente al tensore della deformazione  $\mathbf{D}$  secondo la relazione costitutiva:

$$\mathbf{T} = -p \mathbf{I} - \frac{2}{3} \mu (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} + 2\mu \mathbf{D} \quad (3.6)$$

ove  $p$  è la pressione,  $\mathbf{I}$  il tensore unitario,  $\mu$  il coefficiente di viscosità dinamica e  $\mathbf{D} = \frac{1}{2} (\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T)$  la parte simmetrica del tensore gradiente di velocità. Nel caso di fluido incomprimibile, sostituendo l'espressione del tensore degli sforzi nella (3.5), si ottiene l'equazione di bilancio della quantità di moto:

$$\frac{\partial \rho \mathbf{u}}{\partial t} = - \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \mathbf{u}) - \nabla p + \rho \mathbf{F} + \nabla \cdot (2\mu \mathbf{D}) \quad (3.7)$$

Essendo:

$$\nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \mathbf{u}) = \rho \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} + \mathbf{u} \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) \quad (3.8)$$

ed utilizzando l'equazione di bilancio della massa, si ottiene:

$$\rho \frac{d\mathbf{u}}{dt} = -\nabla p + \rho \mathbf{F} + \nabla \cdot (2\mu \mathbf{D}) \quad (3.9)$$

Restringendo l'interesse a fluidi incomprimibili, si ricavano facilmente le equazioni di Navier-Stokes:

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (3.10)$$

$$\rho \frac{d\mathbf{u}}{dt} = -\nabla p + \rho \mathbf{F} + \mu \nabla^2 \mathbf{u} \quad (3.11)$$

Il sistema costituito dalle relazioni (3.10) e (3.11) è evidentemente un sistema di quattro equazioni differenziali nelle quattro incognite  $p$ ,  $\mathbf{u}=(u, v, w)$ , ossia la pressione e le tre componenti della velocità.

La descrizione del comportamento di un fluido richiede di considerare, a rigori, anche l'equazione di conservazione dell'energia. Infatti, è il sistema composto dalle equazioni di conservazione della massa, della quantità di moto e dell'energia che rappresenta compiutamente il cosiddetto "problema fluido-termodinamico", tenendo conto della possibilità di scambi termici tra il campo fluido e l'esterno. Tuttavia, quando il moto del fluido avviene in condizioni isoterme (o che, con buona approssimazione, si possono assumere tali) l'equazione dell'energia perde di significatività. E' questo, in effetti, il caso del problema indagato nel presente lavoro; si sottolinea che il codice STAR-CCM+ permette di descrivere il problema completo, ma anche di semplificarlo nel caso isoterma.

Le equazioni, opportunamente chiuse mediante condizioni iniziali ed al contorno, forniscono un modello matematico dotato di buone capacità predittive.

La grande efficienza predittiva delle equazioni di Navier-Stokes viene pagata in termini di difficoltà di calcolo. Infatti, a causa della loro non linearità, tali equazioni non ammettono quasi mai una soluzione analitica, ma esclusivamente numerica, o per meglio dire, approssimata con un metodo numerico. Inoltre nei casi in cui le equazioni di Navier-Stokes ammettono una soluzione esatta, le condizioni imposte sul flusso e sulle condizioni al contorno sono tanto stringenti da rendere limitata la loro applicabilità a fenomeni reali.



## 3.2 IL METODO DEI VOLUMI FINITI

L'obiettivo della discretizzazione numerica consiste nel sostituire lo spazio dove è definita la soluzione esatta del problema differenziale con uno spazio vettoriale di dimensione finita, ove è possibile ricercare la soluzione in forma approssimata. La risoluzione numerica delle equazioni di Navier-Stokes si articola essenzialmente in tre fasi:

- discretizzazione del dominio computazionale;
- discretizzazione delle equazioni;
- risoluzione numerica delle equazioni discretizzate.

In altre parole, alla base di un codice CFD vi è il passaggio da grandezze ed equazioni continue a grandezze ed equazioni discretizzate, avvalendosi dell'uso di griglie. Se in un dominio continuo ogni variabile fluidodinamica è definita in ogni punto, in un dominio discreto tutte le variabili fluidodinamiche sono definite solamente nei punti della griglia.

In una soluzione al codice CFD, si risolvono direttamente le variabili fluidodinamiche solo sui punti della griglia, i valori delle variabili in altri punti sono determinati interpolando i valori ottenuti sui punti della mesh.

I metodi impiegati per risolvere in maniera approssimata problemi descritti da equazioni differenziali alle derivate parziali sono molteplici; STAR-CCM+ utilizza il metodo dei volumi finiti. Benché esso competa in alcuni ambiti con altre strategie numeriche (metodo delle differenze finite, metodo degli elementi finiti), è tuttavia uno dei metodi migliori per il calcolo fluidodinamico di flussi su geometrie complesse e particolari.

Nel metodo dei volumi finiti, il dominio della soluzione è diviso in un numero finito di volumi di controllo sufficientemente piccoli, i quali corrispondono alle celle della griglia. L'obiettivo è ottenere un sistema di equazioni algebriche lineari, con numero di incognite corrispondente al numero di celle della griglia.

Inoltre, trattandosi di equazioni differenziali, è necessario imporre sui punti della griglia in prossimità o sul contorno del volume le condizioni al contorno. STAR-CCM+, come molti altri codici CFD, offre una grande varietà di condizioni al contorno (ad esempio: "stagnation inlet", "velocity inlet", "pressure outlet", ecc...). È importante scegliere la condizione al contorno più

opportuna in relazione al problema fisico in esame, altrimenti si corre il rischio di giungere a risultati del tutto errati.

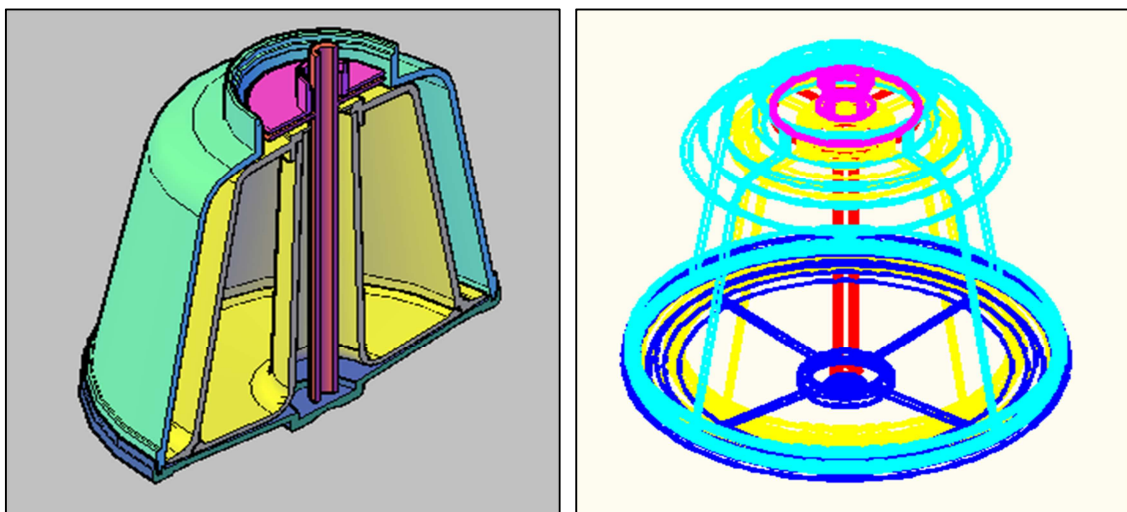
### 3.3 LA REALIZZAZIONE DI UN MODELLO GEOMETRICO

Nel seguente paragrafo sono descritti gli aspetti principali che consentono di realizzare un modello geometrico tridimensionale, adeguato per il caso in esame e che rappresenta il punto iniziale del lavoro.

Il modello geometrico della bowl è stato costruito con il software di disegno AutoCAD 2009 e, in seguito, importato in formato .stl, in STAR-CCM+, per la successiva analisi fluidodinamica.

È di fondamentale importanza rappresentare ogni ambiente virtuale, sia esso un'area (nel caso bidimensionale) oppure un volume (nel caso tridimensionale), secondo le dimensioni effettive; tale operazione, essenziale per poter lavorare in condizioni realistiche, può essere eseguita in AutoCAD oppure direttamente in STAR-CCM+.

La Figura 3.1 mostra l'immagine iniziale della bowl così come appare in AutoCAD.



**Figura 3.1: Realizzazione, in AutoCAD, della geometria della bowl.**

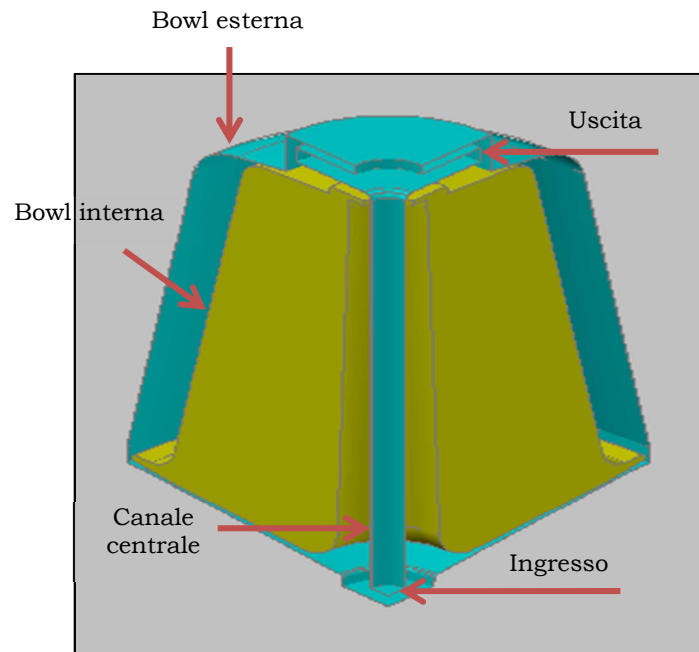
**A sinistra è mostrato un settore di 180°, mentre a destra è visualizzato l'intero dispositivo (la trasparenza permette di distinguere le parti interne).**

I colori aiutano a distinguere i diversi componenti; per esempio, le parti in azzurro e blue si riferiscono, rispettivamente, alle pareti e alla base della bowl più esterna, mentre quelle in giallo indicano la bowl interna. In rosso è rappresentato il canale centrale attraverso il quale il sangue entra nella centrifuga ed in magenta sono segnalati i due collettori visibili in alto.

Tutti gli elementi connessi alle porte di ingresso e di uscita sono stati trascurati, dal momento che la funzione da essi svolta, ovvero l'ingresso e l'uscita del sangue, può essere rappresentata per mezzo di specifiche condizioni al contorno, semplificando ulteriormente la geometria in esame. Inoltre, sono state ignorate tutte le strutture di sostegno e di fissaggio, perché si ritiene non giochino un ruolo funzionale, ne sono un esempio le nervature presenti alla base. Proprio a queste ultime si deve prestare un'attenzione particolare. Si tratta di distanziali che servono per appoggiare la bowl interna su quella esterna; in tal modo le due bowls risultano saldate tra loro in alcuni punti e, di conseguenza, possono ruotare in modo solidale, lasciando allo stesso tempo lo spazio necessario per il passaggio del sangue. Dal momento che prove svolte in passato hanno dimostrato che la loro funzione è irrilevante ai fini della pressione in ingresso al dispositivo e in uscita da esso, è possibile, almeno per le prove iniziali, considerare il loro effetto idrodinamico nullo.

Al fine di rendere ancora più semplice il problema in esame, i due collettori sono stati sostituiti con un'adeguata sezione a cui verrà assegnata la condizione di uscita.

È opportuno precisare che, trattandosi di un modello tridimensionale, un metodo per ridurre il dominio da discretizzare al calcolatore e, quindi, per contenere i tempi e le risorse di calcolo è quello di individuare delle periodicità di tale dominio in modo da lavorare solo su uno spicchio di geometria che si ripete. La riduzione del dominio porta con sé un vantaggio computazionale non indifferente. Nel problema specifico, anche se è possibile operare su un settore di soli  $45^\circ$  data la natura assialsimmetrica, si è deciso di lavorare sull'intera geometria e, solamente per una più chiara visualizzazione di tutti i componenti e una migliore comprensione delle semplificazioni introdotte, vengono mostrati dettagli relativi a settori di  $45^\circ$ .



**Figura 3.2: Ulteriore semplificazione della geometria della centrifuga, di cui è mostrato un settore di 45°.**

A tal punto, il sistema costruito è pronto per essere opportunamente importato in STAR-CCM+ e sottoposto alle simulazioni fluidodinamiche.

### **3.4 LA REALIZZAZIONE DI UN MODELLO FLUIDODINAMICO**

Se si vuole effettuare una simulazione, la prima operazione da compiere consiste nell'importare o nel generare una griglia di volume.

Tra i numerosi strumenti disponibili in STAR-CCM+, alcuni permettono di generare una griglia di volume a partire da una griglia di superficie ottenuta da CAD; per fare ciò, però, bisogna disporre di files con una opportuna estensione. AutoCAD permette di generare un file binario di tipo .stl, formato universale per trasferire superfici avvalendosi del minor numero possibile di triangoli. Lo svantaggio è che la qualità della superficie non è ottimale, quindi operazioni aggiuntive devono essere effettuate per rendere la geometria utilizzabile.

### 3.4.1 Generazione delle griglie di superficie e di volume

Dopo il processo di importazione del file .stl in STAR-CCM+, è essenziale visualizzare la geometria delle regioni e dei contorni creati, al fine di controllarne la qualità.

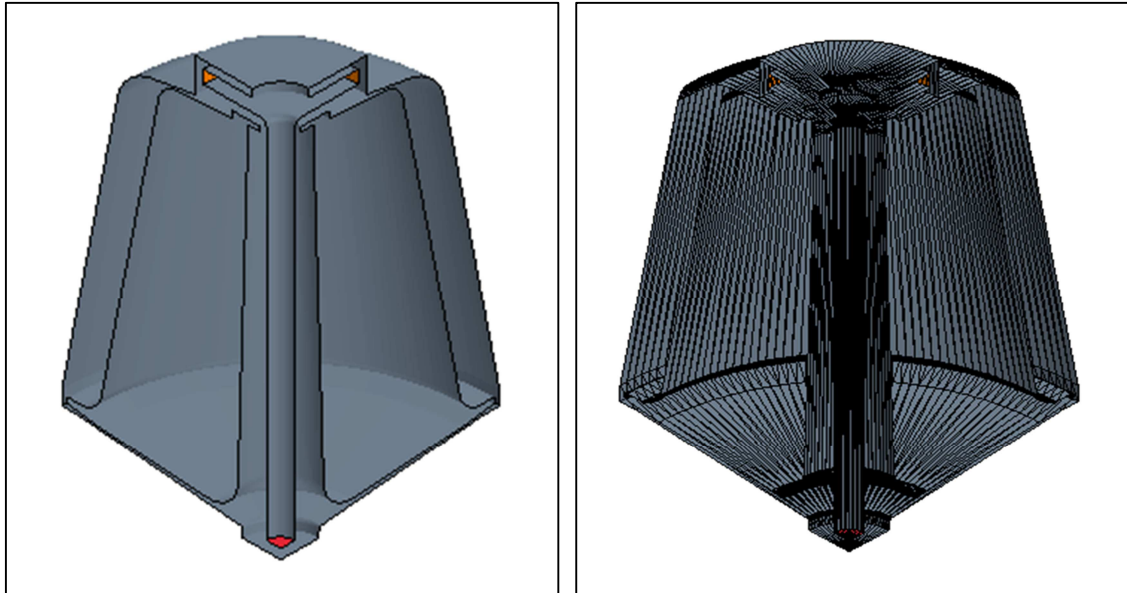
Nel caso in esame, occorre considerare che l'immagine importata comprende anche le superfici relative agli spessori dei tubi e delle bowls. Di conseguenza, nel cammino verso l'ottimizzazione della geometria, una delle prime operazioni eseguite è stata la pulizia delle superfici in eccesso, essendo necessarie per le simulazioni soltanto le zone interne delle camere, ovvero quelle bagnate dal fluido.

Operazioni di traslazione, rotazione e scala sono possibili per posizionare opportunamente gli elementi gli uni rispetto agli altri.

Alcune superfici deformate durante il processo di importazione dei dati e che, dunque, risultavano distorte sono state corrette. Successivamente, tutti i contorni non opportunamente raggruppati sono stati manipolati e resi conformi alle richieste.

Affinché il codice CFD sia in grado di riconoscere le varie parti costitutive ed eseguire la simulazione correttamente, è necessario definire la tipologia delle superfici, ovvero specificare se una data superficie è parte del contorno della bowl oppure se si trova nella sezione di ingresso o di uscita. In STAR-CCM+, tale operazione è possibile selezionando uno alla volta i diversi componenti e modificandone il tipo nella relativa finestra delle proprietà. Quando si imposta il tipo, il contorno cambia colore come mostrato nella Figura 3.3, in cui la superficie relativa all'ingresso è stata definita "velocity inlet", quella di uscita "pressure outlet" e quelle di contorno "wall". È opportuno precisare che, se si lavora su un settore di  $45^\circ$ , la soluzione dell'intero dominio fluido di  $360^\circ$  si ottiene assegnando alle sezioni radiali di confine la condizione di periodicità rotazionale, che permette di implementare la conservazione degli stati termo-fluidodinamici dei corrispondenti punti delle due sezioni. Tale condizione assicura che il flusso uscente da una sezione appaia automaticamente sull'altra grazie all'imposizione della conservazione del flusso nelle equazioni di trasporto.

È importante determinare, in questa fase, il tipo associato ad ogni superficie, poiché esso indica quali contorni saranno caratterizzati da strati prismatici e quali no nella generazione della griglia di volume.



**Figura 3.3: Immagine di un settore di 45° della bowl come appare in STAR-CCM+, dopo l'importazione e la cancellazione delle superfici in eccesso. A destra, è visibile la griglia di superficie iniziale.**

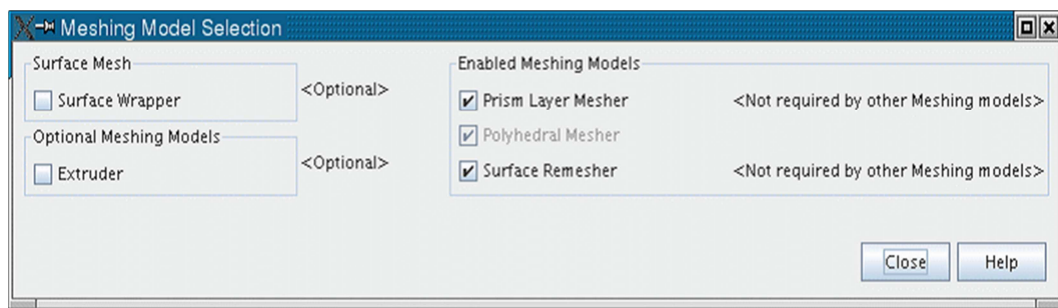
In situazioni come questa, in cui una qualità non elevata della superficie iniziale è la sola opzione disponibile, i problemi dovuti ad una geometria non perfettamente chiusa o caratterizzata da superfici che si intersecano, se presenti, devono essere risolti, altrimenti non è possibile procedere con la generazione della griglia volumetrica. Proprio perché da tale fase dipende fortemente la soluzione, essa richiede, di norma, molte ore di lavoro.

Nel caso specifico, ad esempio, le operazioni “hole filler” e “edge zipper” sono state impiegate per chiudere, a seconda della natura del problema, le superfici.

La geometria, a tal punto, risulta opportunamente chiusa ma presenta ancora una triangolazione di scarsa qualità, dovuta all'utilizzo di un file .stl. Per effettuare nuovamente la triangolazione sulla superficie di partenza così da ottenere una superficie complessivamente migliore è stata sfruttata

l'operazione di remeshing. Molta attenzione deve essere prestata ai metodi usati per generare la griglia di superficie, poiché essa influenza la qualità della successiva mesh di volume.

In questa fase è possibile selezionare non solo i modelli per la mesh superficiale ma anche quelli per la griglia volumetrica. Di conseguenza, oltre al modello "Surface Remesher" presente nella finestra "Surface Mesh", sono stati selezionati anche il "Polyhedral Mesher" dalla finestra "Volume Mesh" e il "Prism Layer Mesher" tra i modelli opzionali, così da generare strati prismatici sulle superfici solide e poliedri nel resto del volume di calcolo.



**Figura 3.4: Pannello "Meshing Model Selection" del software STAR-CCM+.**

La Figura 3.4 mostra la finestra di dialogo che si presenta all'utilizzatore e che cambia in maniera dinamica in risposta alle scelte effettuate; sulla destra sono indicati i modelli che, di volta in volta, vengono selezionati.

Per l'inserimento dei parametri necessari per la meshatura, STAR-CCM+ consente di operare su quattro livelli diversi, a seconda del grado di accuratezza che si vuole ottenere: livello globale, livello dei contorni, livello delle curve caratteristiche e livello delle interfacce. La modalità di inserimento dei valori su livelli distinti permette, per esempio, di infittire agevolmente le zone che lo richiedono senza dover incrementare inutilmente il numero di elementi nell'intera geometria che porterebbe solo ad un aumento del tempo e della complessità di calcolo. In questo lavoro, per motivi di costo computazionale, ci si limita ai soli parametri globali.

Il "Surface Remesher" è basato principalmente su una lunghezza di riferimento, indicata come "Base Size" e fornita dall'utilizzatore. Tale valore viene inizialmente posto uguale ad una dimensione rispetto alla quale è

conveniente scalare tutte le altre; nel caso specifico è stato utilizzato il diametro del canale di ingresso.

Per una maggiore flessibilità, è possibile inserire i valori in termini relativi o assoluti. I valori, in termini relativi, vengono inseriti come una percentuale del “Base Size” ed il vantaggio del loro impiego è quello di poter scalare dimensioni sia globali che locali molto più facilmente, modificando solo un valore nella sessione di generazione della griglia.

È possibile modificare, oltre al “Base Size”, anche altri parametri che regolano la dimensione e, quindi, il numero totale degli elementi durante la creazione della mesh di superficie e di volume; ne sono un esempio i parametri del nodo “Surface Size” o quelli relativi allo spessore dello strato prismatico.

In STAR-CCM+, la griglia volumetrica può essere realizzata utilizzando celle di forma diversa, ne sono un esempio quelle poliedriche oppure quelle tetraedriche; il tipo di cella viene scelto durante la fase di selezione dei modelli impiegati per la realizzazione della mesh. In generale la scelta del modello dipende da diversi fattori, tra i quali:

- ✓ il tempo impiegato per costruire la mesh,
- ✓ l'accuratezza della soluzione e la convergenza,
- ✓ la quantità di memoria disponibile sul computer,
- ✓ la qualità della mesh di superficie.

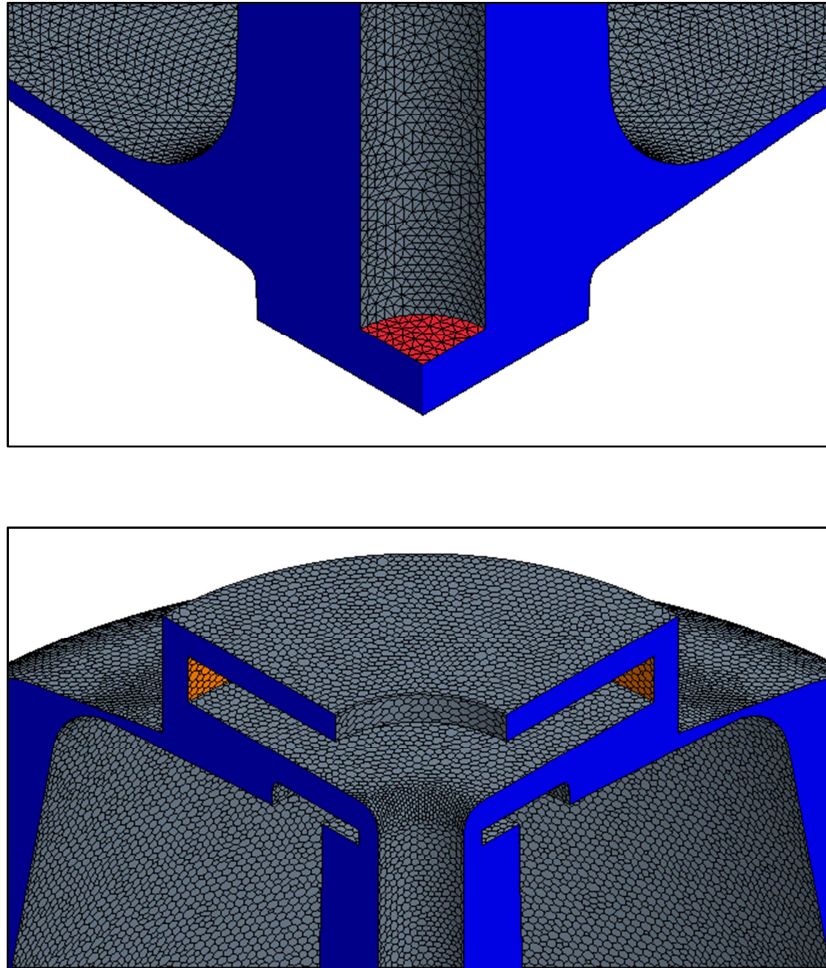
Ad esempio, il generatore di celle tetraedriche è più veloce ed utilizza minor memoria se confrontato con quello che realizza celle poliedriche; quest'ultimo, però, permette di ottenere mesh che producono, di norma, una soluzione più accurata. Sia il metodo tetraedrico che quello poliedrico sono strettamente dipendenti dalla qualità della triangolazione della superficie di partenza, quindi generare una griglia di superficie in modo opportuno permette di ottenere una mesh volumetrica di buona qualità.

In tale lavoro, come già detto, è stato selezionato il modello poliedrico, dal momento che consente di ottenere una soluzione equilibrata per problemi complessi di generazione della mesh; infatti è semplice da costruire e, al tempo stesso, efficiente.

A tal punto è possibile generare, in primis, la mesh superficiale e, poi, quella volumetrica.



I plot sottostanti visualizzano i risultati raggiunti e mostrano, nel primo caso, la migliore triangolazione ottenuta per la superficie e, nel secondo caso, la griglia di volume realizzata con poliedri.



**Figura 3.5: Particolari della sezione di ingresso e di uscita, rispettivamente con la mesh di superficie e di volume.**

La creazione della mesh di volume è di norma la fase del processo che richiede più tempo e memoria.

È importante sottolineare che dalla forma e dalle dimensioni della griglia dipende l'accuratezza dei risultati e che, qualora questi ultimi si dimostrassero non attendibili o non plausibili, è richiesta una mirata procedura di ottimizzazione della mesh. La corretta individuazione della griglia di calcolo rappresenta, dunque, un nodo strategico ed un punto di partenza

fondamentale del processo e richiede particolare attenzione, al fine di ottenere mesh accurate ma, al contempo, non computazionalmente troppo complesse.

Inoltre, una volta raggiunta la prima soluzione, è necessario ripetere la procedura variando le proprietà della mesh. Operando in tal modo è possibile investigare l'effetto della risoluzione della griglia sulla soluzione del problema risolto con il codice CFD. Quando le soluzioni numeriche, ottenute con griglie differenti, ricadono nella fascia di tolleranza scelta dall'utente, allora significa che esse sono indipendenti dalla mesh e, quindi, l'operatore può decidere di lavorare con una griglia meno fitta, riducendo il costo computazionale ma garantendo, allo stesso tempo, l'accuratezza dei risultati.

È bene precisare che, quando si imposta e risolve una simulazione, si interagisce con le regioni ed i contorni piuttosto che con le celle della mesh; tale modo di operare ha il vantaggio di:

- diminuire l'esigenza di monitorare e registrare i singoli elementi della mesh;
- consentire un facile trasferimento delle proprietà della simulazione e delle soluzioni da una griglia all'altra, al fine di lavorare su maglie diverse e, di conseguenza, studiare l'indipendenza della soluzione dalla mesh.

### **3.4.2 Definizione del modello fluidodinamico**

Il modello, fin qui sviluppato, è il punto di partenza per la realizzazione del modello fluidodinamico, ma in esso non vi è ancora alcuna informazione circa il campo delle velocità e delle pressioni. Il passo successivo è, dunque, scegliere i modelli matematici più opportuni per eseguire correttamente le simulazioni del fenomeno.

La procedura, di seguito riportata, per la definizione del modello fluidodinamico ha carattere generale e mostra solamente le potenzialità del software STAR-CCM+; nel capitolo successivo sarà descritto il tipo di modello fluidodinamico implementato per le simulazioni.

La prima scelta che STAR-CCM+ permette di effettuare riguarda il dominio dello spazio; occorre, dunque, stabilire se il modello è bidimensionale, tridimensionale o assialsimmetrico.

L'operazione successiva è la selezione del modello da utilizzare per il tempo (stazionario o non stazionario, a sua volta nella forma implicita oppure esplicita); tale scelta ha la principale funzione di fornire indicazioni per il controllo delle iterazioni o degli intervalli di tempo, se si è nel caso non stazionario. Infatti è il solutore a controllare l'aggiornamento della soluzione e la dimensione dell'intervallo di tempo, se le condizioni non sono stazionarie.

Quando il modello stazionario viene selezionato, il concetto di intervallo di tempo non ha, evidentemente, alcun significato.

In molte situazioni il fenomeno fisico in esame indica chiaramente la scelta tra i due modelli, in altre, invece, la non stazionarietà del problema può non essere subito chiara e può manifestarsi con una mancata convergenza, quando si tenta di utilizzare il modello stazionario. Infatti, risolvere un problema non stazionario con un modello stazionario equivale ad usare un intervallo di tempo estremamente inaccurato. Le iterazioni utilizzano un intervallo di tempo locale, più piccolo dove la mesh è più accurata e più esteso dove non lo è. La soluzione non è corretta e non ha alcun significato fisico, di conseguenza, a differenza di una soluzione transitoria, non è rappresentativa del fenomeno ad ogni istante di tempo. In questi casi, tuttavia, STAR-CCM+ permette di ottenere risultati medi, per ogni iterazione, così da avere un quadro rappresentativo dei fenomeni di flusso.

Fatto ciò, avvalendosi della finestra "Motion" che consente di inserire informazioni relative al moto del sistema di riferimento e/o della griglia, si seleziona il modello più consono alle proprie richieste. Ad esempio, il modello "Stationary" è usato per simulazioni in cui non c'è movimento della mesh e in cui il sistema di riferimento è fermo, mentre il modello "Moving Reference Frame" è impiegato per simulazioni (generalmente in stato stazionario) che hanno sistemi di riferimento mobili.

Per stabilire, invece, il tipo di sostanza oggetto della modellazione (si ricorda che STAR-CCM+ consente di risolvere problemi relativi a flussi di fluidi e di solidi) si utilizza la sezione "Material Model". Il modello scelto è responsabile della gestione del o dei materiali che saranno simulati nel continuum. Scelto il modello, è possibile passare alla definizione delle caratteristiche fisiche. I materiali più comuni sono già implementati nella

libreria di STAR-CCM+, tuttavia se non si trova il caso di interesse si possono creare nuovi materiali.

In STAR-CCM+ è possibile scegliere tra modelli che permettono di modellare sostanze pure (per esempio, aria, acqua o alluminio), modelli per miscele omogenee di due o più sostanze pure ed, infine, modelli per simulare due o più fasi immiscibili, dove ogni fase è composta di una sostanza pura gassosa o liquida. Per la simulazione numerica di flussi di più fluidi immiscibili, uno dei modelli multifase più affidabile e semplice è il metodo VOF (Volume of Fluid), capace di risolvere il problema dell'interfaccia tra le fasi della miscela e supportato anche da STAR-CCM+. Nel metodo VOF, piuttosto che tracciare l'interfaccia tra i due fluidi, si determina l'evoluzione della frazione di fluido in ogni cella del dominio computazionale.

La distribuzione spaziale di ogni fase ad ogni istante di tempo è data da una funzione, che è chiamata frazione di volume e che indica la quantità di volume occupata dalla fase nel volume computazionale.

Il modello assume che tutte le fasi fluide immiscibili presenti in un volume di controllo condividano lo stesso campo di velocità, pressione e temperatura. Di conseguenza, viene risolto il medesimo set di equazioni impiegato per descrivere il trasporto della quantità di moto, di massa e di energia in un flusso monofase, utilizzando però un fluido equivalente le cui proprietà fisiche sono calcolate come funzioni delle proprietà di ogni sua fase costituente e delle loro frazioni di volume. In particolare

$$\rho = \sum_i \rho_i \alpha_i \quad (3.12)$$

$$\mu = \sum_i \mu_i \alpha_i \quad (3.13)$$

dove

$$\alpha_i = \frac{V_i}{V} \quad (3.14)$$

è la frazione di volume,  $\rho_i$  e  $\mu_i$  sono la densità e la viscosità dinamica della  $i$ -sima fase.

Il passo successivo consiste nel decidere come risolvere le equazioni di conservazione della massa e della quantità di moto, se simultaneamente (“Coupled”) o in modo separato (“Segregated”).

Il modello per il flusso segregato è indicato per fluidi incomprimibili oppure leggermente comprimibili e utilizza meno memoria se confrontato con l'accoppiato. Il legame tra le equazioni della quantità di moto e di continuità è raggiunto con un approccio di tipo “predictor-corrector”. Il solutore controlla l'aggiornamento della soluzione per il modello segregato in accordo con l'algoritmo SIMPLE. Quest'ultimo, a sua volta, controlla due solutori aggiuntivi:

- il solutore per la velocità, che risolve l'equazione di conservazione della quantità di moto discretizzata per ottenere il campo intermedio delle velocità;
- il solutore per la pressione, che risolve l'equazione discreta per la correzione della pressione e aggiorna il campo delle pressioni.

Il tipo “Coupled”, invece, consente di ottenere una soluzione più robusta e accurata nei flussi comprimibili.

In molte situazioni si predilige il tipo “Coupled”, dal momento che il numero di iterazioni richieste per risolvere un problema di flusso è indipendente dalla dimensione della mesh, contrariamente a quanto si verifica nel modello segregato, in cui le iterazioni crescono con la dimensione della griglia.

Un'ulteriore scelta riguarda come modellare le equazioni di stato, usate per calcolare la densità e le derivate della densità rispetto alla temperatura e alla pressione. In tal caso, la finestra di dialogo permette di selezionare i seguenti tre modelli:

- **Densità costante.**  
Tale scelta, valida per gas, liquidi e solidi, ipotizza che la densità sia costante nel continuo.
- **Densità polinomiale.**  
Alla base di tale modello, possibile per gas, liquidi e solidi, vi è l'assunzione che la densità è una funzione della sola temperatura e può essere espressa per mezzo di una funzione polinomiale di grado  $n$ .

○ **Gas ideali.**

Disponibile solamente per i gas, impiega la legge dei gas ideali per esprimere la densità come una funzione della temperatura e della pressione.

Il passo successivo è, a tal punto, quello di definire il regime di moto. È opportuno ricordare che si parla di flusso non viscoso o inviscido, se gli effetti relativi alla viscosità del fluido possono essere trascurati (dunque, coefficiente di viscosità  $\mu$  pari a zero); le condizioni che determinano il passaggio dal moto laminare a quello turbolento si ottengono, invece, calcolando il numero di Reynolds:

$$Re = \frac{\rho V d}{\mu} \quad (3.15)$$

dove  $\rho$  è la densità del fluido,  $V$  la velocità media del flusso nella sezione,  $d$  una costante caratteristica e  $\mu$  la viscosità dinamica del fluido.

Per numeri di Reynolds inferiori a 2000-2500 il moto si dice laminare, quando le forze d'inerzia diventano preponderanti rispetto alle forze viscosi e il valore del numero di Reynolds supera i 4000 il moto diventa turbolento.

Il software STAR-CCM+ contiene una vasta gamma di modelli: Inviscid, Laminar, Turbulent; nel caso in esame, il flusso avviene in regime laminare.

È necessario sottolineare che una scelta non corretta del modello può impedire il raggiungimento della convergenza. È appropriato ricorrere a flussi laminari se si conosce a priori che il numero di Reynolds del problema è sufficientemente ridotto; infatti se si simulano flussi laminari con numeri di Reynolds troppo grandi possono verificarsi fenomeni di instabilità numerica e, di conseguenza, la soluzione può divergere.

Selezionati i diversi modelli, occorre fissare le condizioni operative e le condizioni al contorno del sistema da simulare.

A seconda delle scelte effettuate fino ad ora, le richieste per i valori di riferimento saranno, di volta in volta, diverse. Tra essi, la pressione di riferimento, ad esempio, è uno strumento impiegato per ridurre l'errore di arrotondamento nei calcoli numerici che coinvolgono la pressione. La sua presenza è fondamentale dal momento che sono importanti non i valori di pressione, bensì le loro differenze e queste ultime possono essere piccole se confrontate con il valore assoluto della pressione; sottraendo una adeguata e

costante pressione di riferimento è possibile ottenere una pressione di lavoro meno soggetta a errori di arrotondamento. In realtà, nel caso di simulazioni che ricorrono al modello a densità costante o polinomiale, il valore della pressione di riferimento non ha rilevanza ai fini del calcolo.

Inoltre, ogni modello richiede per le variabili associate valori di primo tentativo. Per simulazioni in stato stazionario, la soluzione dovrebbe essere indipendente dal campo iniziale, tuttavia il percorso di convergenza e, quindi, lo sforzo computazionale richiesto ne sono influenzati. Le condizioni iniziali devono, dunque, essere scelte con attenzione soprattutto quando il problema fisico è complesso.

Le condizioni al contorno devono essere definite per ogni superficie che delimita il volume in esame; in alcuni casi, come per le sezioni di ingresso o di uscita, una volta stabilito il tipo di condizione al contorno, sono richieste ulteriori variabili fisiche (ad esempio velocità, temperatura, pressione).

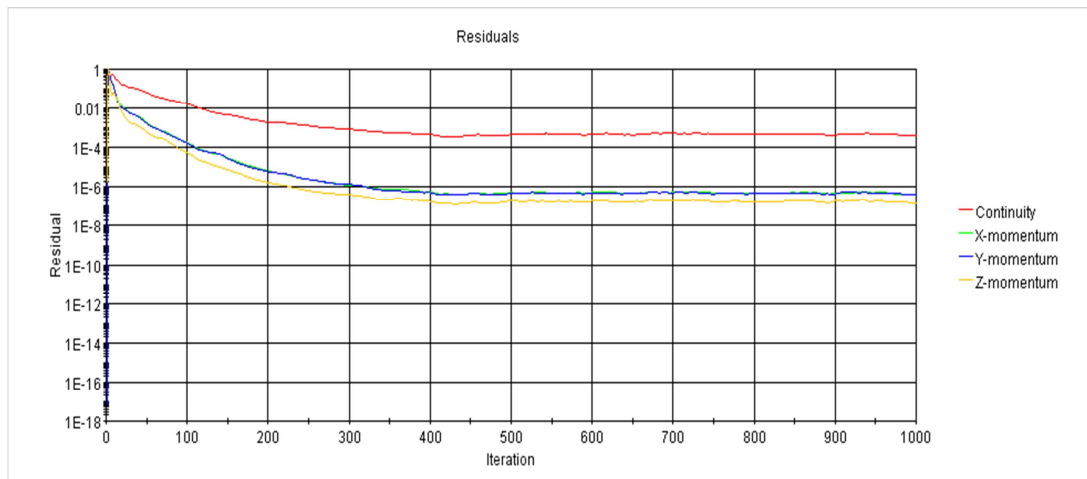
In aggiunta, per assicurarsi che si ottenga una soluzione ragionevole, può essere utile controllare alcuni dei parametri del risolutore, come i valori dei fattori di rilassamento presenti nelle equazioni di continuità, della quantità di moto, ecc. In genere, un modello seleziona automaticamente i solutori di cui ha bisogno e, di norma, i valori presenti non vanno modificati, fanno eccezione i casi in cui le soluzioni divergono.

Infine, prima di procedere con le iterazioni, si imposta il criterio di arresto per controllare il termine della simulazione. Esso permette di specificare per quanto tempo la soluzione deve essere eseguita e sotto quali condizioni deve essere fermata.

Determinati criteri d'arresto sono generati automaticamente quando un solutore è scelto, ovviamente i criteri saranno diversi a seconda della stazionarietà o non stazionarietà della simulazione.

A tal punto, la soluzione può essere inizializzata per applicare le condizioni iniziali e, se vi è la certezza che la configurazione è corretta, le iterazioni possono iniziare.

È possibile visualizzare, in tempo reale, il plot che rappresenta l'andamento dei residui assegnati all'equazione di continuità, alle componenti della velocità, all'equazione dell'energia, ecc. Generalmente i valori dei residui, ad eccezione di quello relativo all'equazione di continuità, sono dell'ordine di  $10^{-6}$ .



**Figura 3.6: Plot dei residui ottenuti in condizioni stazionarie e in assenza di rotazione.**

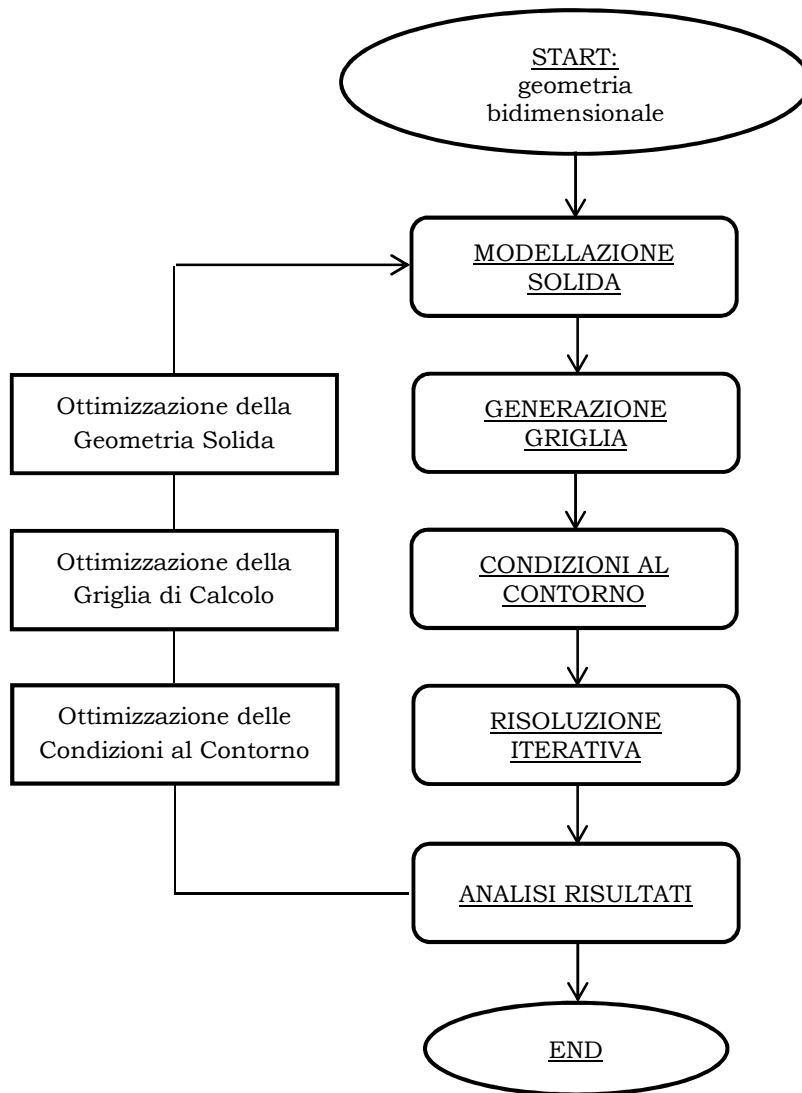
Una crescita in uno o più residui durante le prime iterazioni è abbastanza normale ed accettabile, ma se tale tendenza non si inverte e i residui continuano ad aumentare con le iterazioni la soluzione non raggiungerà la convergenza.

Le ragioni per cui una soluzione può divergere sono molteplici, ad esempio condizioni iniziali inappropriate oppure problemi legati alla qualità della mesh, alle condizioni al contorno o ad alcuni parametri risolutivi.

Oltre all'andamento dei residui, STAR-CCM+ mette a disposizione altri strumenti che aiutano ad esaminare i risultati mentre la simulazione è ancora in corso (vanno sottolineati la rappresentazione dei vettori che mostrano la direzione e l'intensità del flusso, la visualizzazione della variazione di variabili scalari nel dominio considerato e i calcoli numerici per le analisi quantitative). La simulazione prosegue fino a quando il criterio di arresto specificato non viene raggiunto.

Da quanto visto fino ad ora emerge che uno studio di questo tipo può essere ben rappresentato da un circuito chiuso, dove ogni passaggio non solo è il punto di partenza per quello successivo ma anche un metodo di controllo e validazione di quello precedente. Ad esempio, la griglia serve per far partire la simulazione ma, a sua volta, la simulazione serve per migliorare la griglia (Figura 3.7).





**Figura 3.7: Schema di analisi adottato.**

È chiaro che il software STAR-CCM+ permette di attivare molti altri comandi e svariati modelli matematici per definire le proprietà fisiche e fluidodinamiche del o dei fluidi in esame. Tale capitolo ha, infatti, illustrato solo alcuni dei punti fondamentali della struttura complessa e articolata che il codice CDF STAR-CCM+ possiede; nel prossimo capitolo verranno indicate, seguendo quanto visto fino ad ora, le scelte riguardanti il modello fisico da simulare.

## IV

### LE PROVE NUMERICHE

*La valutazione del comportamento del flusso ematico attraverso la bowl di un dispositivo per autotrasfusione e degli effetti di determinate condizioni di lavoro sulla composizione del prodotto finale costituisce un punto di partenza indispensabile ai fini di un'ottimizzazione del funzionamento del dispositivo stesso.*

*Nel presente lavoro, l'analisi delle caratteristiche del flusso all'interno della bowl-225-xtra è stata condotta avvalendosi della fluidodinamica numerica ed, in particolare, del software commerciale STAR-CCM+. In tal caso, l'obiettivo principale è stato ottenere simulazioni sufficientemente accurate sia dal punto di vista qualitativo che quantitativo, contenendo al tempo stesso i costi e le risorse di calcolo.*

*Tutte le operazioni sono state eseguite su un personal computer dotato di 8 processori e 6GB di RAM in ambiente Linux a 64 bit.*

*L'analisi finale dei risultati conseguiti ha mostrato la capacità del software e dei suoi molteplici metodi ed algoritmi di descrivere il complesso comportamento dinamico dei fluidi in esame.*

## **4.1 LE SIMULAZIONI CON IL CODICE CFD SUL DISPOSITIVO PER AUTOTRASFUSIONE**

Il presente paragrafo si articola in tre sezioni. La prima si sofferma sulle specifiche tecniche relative alla bowl-225-xtra, necessarie per risalire ai parametri fluidodinamici dei fluidi coinvolti, come la velocità e la pressione. La seconda parte richiama la costruzione del dominio fluido e la sua discretizzazione mediante una griglia di calcolo, mentre la terza riporta i modelli implementati e le scelte attuate per la realizzazione di ogni singola simulazione. Lo studio è stato condotto effettuando le seguenti analisi numeriche:

1. una simulazione, in stato stazionario, del flusso di sangue inteso come fluido omogeneo, per una prima valutazione del campo delle velocità e delle pressioni;
2. una simulazione, in stato non stazionario, con il sangue considerato, ancora una volta, un fluido omogeneo, al fine di riprodurre la fase di riempimento ed esaminare la progressiva variazione del fronte di separazione;
3. una simulazione, in stato non stazionario, con il sangue costituito dal plasma e da un fluido omogeneo formato in prevalenza da eritrociti, in modo tale da analizzare la fase di centrifugazione e, dunque, la graduale distribuzione dei diversi componenti in virtù della loro densità;
4. una simulazione della fase di lavaggio, per studiare il cammino di flusso della soluzione salina impiegata nella fase conclusiva del processo.

### 4.1.1 Caratteristiche tecniche

Il produttore dispone di bowls di quattro dimensioni, adatte a diverse applicazioni e condizioni di sanguinamento. L'analisi CFD è stata eseguita sulla bowl-225-xtra, in cui il volume di sangue, dopo la fase di riempimento, è pari a 240-250 ml.

<b>Bowl</b>	<b>Applicazioni ideali (in base al volume di bowl)</b>
BT 55	chirurgia ortopedica, chirurgia pediatrica, PRP/PPP, ostetricia
BT 125	chirurgia ortopedica, ostetricia, chirurgia cardiaca off-pump, mini-bypass, PRP/PPP
BT 175	chirurgia cardiaca on-pump, chirurgia cardiaca off-pump, chirurgia vascolare, traumatologia
BT 225	chirurgia cardiaca on-pump, chirurgia vascolare, chirurgia d'urgenza, trapianti, traumatologia

**Tabella 4.1: Esempio di possibili applicazioni delle 4 bowls disponibili in commercio.**

Le grandezze utili per condurre le simulazioni fluidodinamiche (in particolare, i valori di velocità, pressione e portata in massa) sono state ricavate a partire dai dati forniti dal costruttore e relativi alle diverse procedure che il dispositivo ATS esaminato consente di impostare in funzione delle diverse condizioni di lavoro:

- Procedura Standard:
  - Portata di riempimento = 350 ml/min
  - Portata di lavaggio = 800 ml/min
  - Volume di lavaggio = 800 ml
  - Portata di svuotamento = 450 ml/min
- Procedura Optimized:
  - Portata di riempimento = 400 ml/min
  - Portata di lavaggio = 500 ml/min
  - Volume di lavaggio = 1000 ml

- Portata di svuotamento = 400 ml/min
- Procedura Emergency:
  - Portata di riempimento = 400 ml/min
  - Portata di lavaggio = 800 ml/min
  - Volume di lavaggio = 1000 ml
  - Portata di svuotamento = 500 ml/min.

Il presente lavoro si sofferma, in particolare, sulla procedura Standard. La Sorin Group, al fine di studiare la portata di lavaggio ottimale per tale procedura, ha effettuato prove sperimentali riportando i valori seguenti:

- portata di lavaggio = 450 ml/min
- volume di lavaggio = 600 ml.

Di conseguenza, le simulazioni per la fase di lavaggio sono state realizzate a partire dalle due combinazioni di valori indicate, in modo tale da poter confrontare il cammino di flusso della soluzione neutra nei due casi.

La bowl è tenuta in rotazione ad una velocità costante di 5600 giri al minuto; più precisamente, la parte inferiore viene inserita e bloccata nel sistema che fornisce la forza centrifuga, di conseguenza tutto il corpo tronco-conico della bowl è messo in movimento, mentre gli elementi connessi alle porte di ingresso e di uscita sono fermi perché bloccati dal braccio superiore.

#### **4.1.2 Geometria e griglia di calcolo**

La geometria è stata realizzata tramite il software di disegno AutoCAD 2009, servendosi dell'assemblato del dominio solido della bowl e dei disegni bidimensionali forniti dall'azienda costruttrice, in modo da riprodurre il più fedelmente possibile il dominio fluido in esame. Per le dimensioni, la forma ed il posizionamento delle diverse parti costitutive sono state utilizzate le quote fornite.

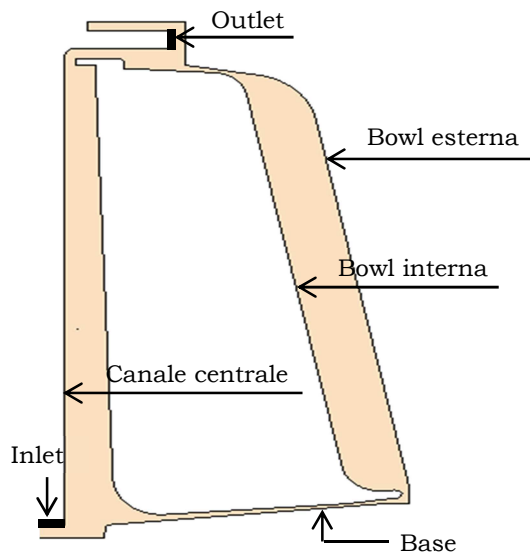
Come già ampiamente descritto nel Capitolo III, per la realizzazione del dominio fluido sono state adottate alcune semplificazioni strategiche che hanno permesso di ottimizzare il processo di calcolo senza influenzare l'accuratezza dei risultati numerici. Tali semplificazioni consistono nella

sostituzione dei componenti connessi alle porte di ingresso e di uscita con specifiche condizioni al contorno e nell'eliminazione delle strutture di sostegno e di fissaggio non significative per le simulazioni da effettuare. A fronte della trascurabile variazione che, operando in tal modo, si introduce nel campo di moto, si ottiene un considerevole vantaggio nella generazione della griglia e nel calcolo.

Nel caso specifico, inoltre, pur essendo la geometria in esame assialsimmetrica, l'analisi è stata condotta sull'intera bowl così da superare i problemi che la riduzione angolare del dominio comporta, principalmente legati alla definizione delle interfacce e all'imposizione della condizione di periodicità rotazionale.

Al termine del lavoro di modellazione solida si è proseguito con l'importazione, in STAR-CCM+, del file .stl generato dal software CAD.

Una volta concluse l'analisi della geometria importata, la correzione delle superfici distorte e la loro manipolazione per renderle conformi alle richieste, è stata definita la tipologia di ogni superficie. La Tabella 4.2 indica il tipo associato ai sei contorni opportunamente assemblati (si veda la Figura 4.1).



**Figura 4.1: Geometria del dominio fluido simulato (piano y-z).**

<b>Contorno</b>	<b>Tipo</b>
Base	Wall
Bowl esterna	Wall
Bowl interna	Wall
Canale centrale	Wall
Inlet	Velocity Inlet
Outlet	Pressure Outlet

**Tabella 4.2: Tipologia selezionata per i sei diversi contorni.**

A tal punto si è passati alla costruzione delle curve caratteristiche; tale operazione permette di preservare alcuni dettagli essenziali nel corso della fase di generazione della mesh ed è stata svolta mediante un'apposita funzione in grado di ricostruire tutte le curve che delimitano la geometria del pezzo, riproducendone fedelmente la morfologia.

Completata la preparazione delle superfici si può procedere con la realizzazione della griglia di calcolo.

In questa fase si è, in primis, effettuata nuovamente la triangolazione sulla superficie di partenza e, in secundis, generata la griglia di volume. Sono stati selezionati il modello “Surface Remesher” per la mesh di superficie e il “Polyhedral Mesher” e il “Prism Layer Mesher” per avere poliedri nel volume di calcolo e strati prismatici sulle superfici solide.

La discretizzazione del dominio fluido richiede, inoltre, di impostare i parametri globali<sup>3</sup> della griglia; detti parametri sono stati determinati compatibilmente all'onere computazionale delle simulazioni.

La realizzazione della mesh ha richiesto numerosi tentativi prima di ottenere una griglia capace di garantire una buona definizione del dominio, non appesantendo in modo eccessivo il calcolo. In particolare, sono state realizzate due differenti griglie: la prima (griglia *a*) da  $2 \cdot 10^4$  elementi e la seconda (griglia *b*), molto più fitta, costituita da circa  $1 \cdot 10^6$  celle. La mesh (*a*) è stata utilizzata nelle fasi iniziali delle indagini numeriche in modo da ottenere dei risultati preliminari utili per comprendere il fenomeno in esame ed effettuare, dunque, in maniera mirata le prove numeriche sulla mesh più fitta.

La Tabella 4.3 riporta alcuni parametri globali utilizzati per la griglia (*b*), con il numero maggiore di elementi.

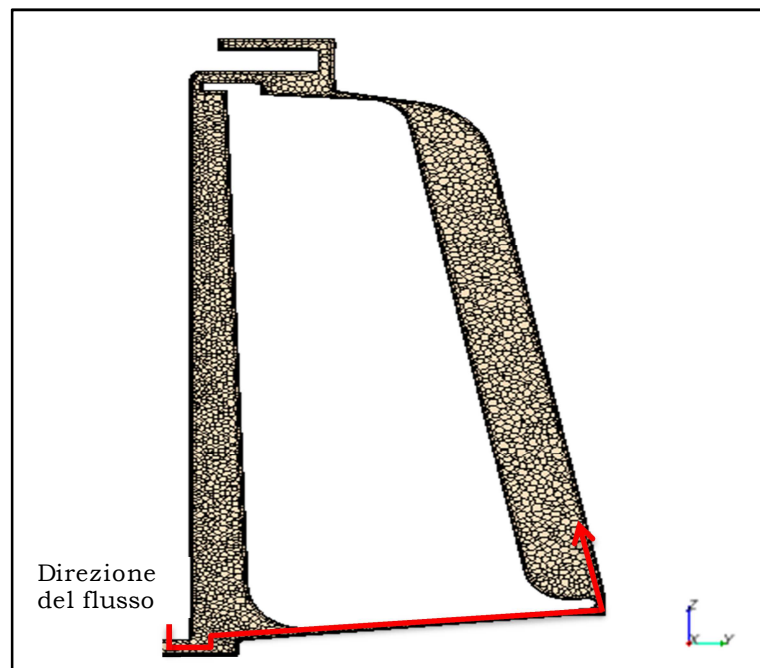
---

<sup>3</sup> I parametri globali della mesh consentono di controllare la dimensione e, quindi, il numero totale di elementi durante la creazione delle griglie di superficie e di volume. I valori principali sono la lunghezza di riferimento, detta “Base Size” e fornita dall'utilizzatore (nel caso specifico è circa pari al diametro del canale di ingresso), i parametri relativi al nodo “Surface Size” e quelli relativi allo spessore dello strato prismatico (per una più chiara definizione di dette grandezze si rimanda al Capitolo III).

Base Size	0.01 m
Number of Prism Layers	2
Prism Layer Stretching	1.5
Prism Layer thickness > Relative Size	4
Surface Size > Relative Minimum Size	4
Surface Size > Relative Target Size	8

**Tabella 4.3: Valori associati ad alcuni parametri globali per la griglia (b), costituita da circa  $1 \cdot 10^6$  elementi.**

La Figura 4.2 mostra una sezione longitudinale della griglia poliedrica (b) ottenuta (981'720 celle).

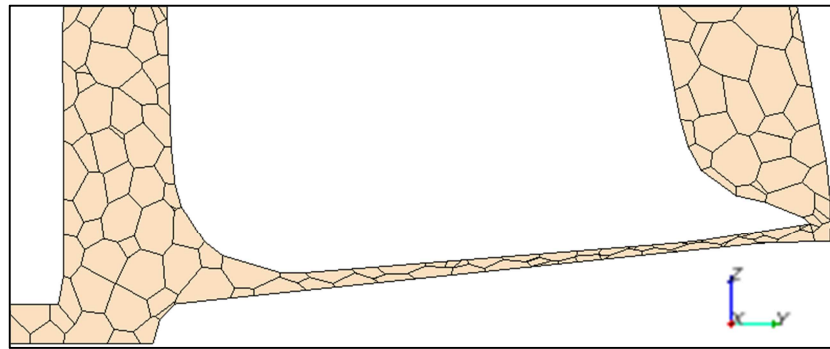


**Figura 4.2: Griglia poliedrica (b) impiegata per le simulazioni (Particolare relativo alla sezione longitudinale).**

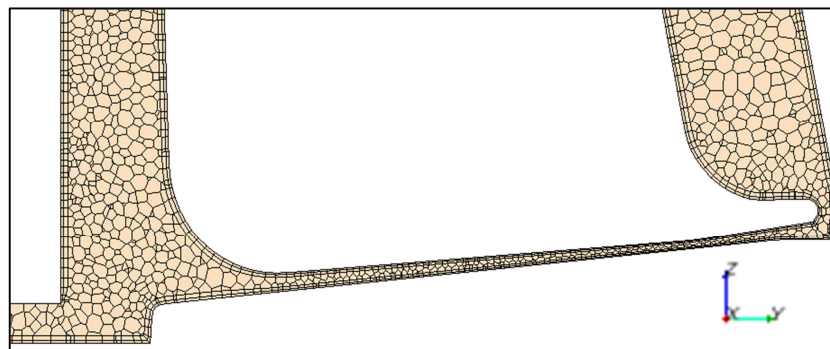
In generale, la morfologia delle zone critiche e, di conseguenza, il modo in cui esse vengono discretizzate può avere un peso sulla fluidodinamica del problema; nel caso in esame, ne è un esempio la regione relativa alla piccola ala che sporge nella parte inferiore della bowl più interna. Come è possibile



notare dalla Figura 4.3, la griglia meno densa (griglia *a*) ha due soli elementi che discretizzano lo spessore del condotto in tale zona, mentre la griglia più fitta (griglia *b*) riesce a coprire la stessa regione con circa sei elementi poliedrici, indice di una migliore qualità della mesh.



a)



b)

**Figura 4.3: Particolare della zona relativa all'ala della bowl interna.**

**a) Griglia di  $2 \cdot 10^4$  elementi e b) Griglia di circa  $1 \cdot 10^6$  elementi.**

### **4.1.3 Impostazione delle simulazioni**

In questa fase si definiscono gli aspetti delle simulazioni riguardanti:

- i) i modelli numerici da implementare,
- ii) le proprietà del fluido,
- iii) le condizioni al contorno per ogni superficie che delimita il volume.

È opportuno ricordare che il modello riproduce un campo di moto tridimensionale e che il moto del fluido avviene in condizioni che, con buona approssimazione, si possono assumere isoterme.

Nelle fasi iniziali dello studio, si è scelto di effettuare una simulazione in **stato stazionario**, per una prima valutazione del campo delle velocità e delle pressioni come funzioni delle caratteristiche del fluido in ingresso e della forza centrifuga.

In tal caso, il sangue è stato considerato un fluido omogeneo, a cui sono stati assegnati i valori seguenti di densità e viscosità dinamica:

- densità = 1040 kg/m<sup>3</sup>,
- viscosità = 1.6 cP = 1.6\*10<sup>-3</sup> Pa s,

calcolati in corrispondenza di un ematocrito del 10%.

I modelli implementati per la simulazione numerica sono elencati di seguito:

- Modello per il movimento: Moving Reference Frame,
- Modello per il materiale: Liquido,
- Modello per il flusso: Segregato,
- Modello per l'equazione di stato: Densità costante,
- Modello per il regime di moto: Laminare.

Per il regime di moto è stato selezionato il modello laminare dal momento che il numero di Reynolds relativo al flusso nel condotto centrale di alimentazione è prossimo a 1000.

Si è scelto di utilizzare uno schema risolutivo del primo ordine, imponendo una pressione di riferimento di 1 bar (e, quindi, prossima alla pressione atmosferica), una rotazione di 5600 giri al minuto e condizioni iniziali di velocità e pressione nulle. È evidente che, nelle simulazioni in stato stazionario, le 'condizioni iniziali' non sono altro che i valori di primo tentativo assunti dalla velocità e dalla pressione nelle diverse celle.

Le condizioni al contorno, in virtù di quanto già illustrato in Tabella 4.2, prevedono:

- Condizioni al contorno all'ingresso (INLET)

Per la sezione di ingresso della bowl si sceglie una condizione, la Velocity Inlet, che permette di imporre una velocità di ingresso di 0.2972 m/s. Tale valore è stato ottenuto a partire dalla portata fornita dal costruttore,

pari a 350 ml/min e dall'area del condotto centrale avente raggio di 0.0025 m.

- Condizioni al contorno all'uscita (OUTLET)

Sulla superficie di uscita si applica una pressione relativa nulla, ossia si impone una condizione di pressione ambiente.

- Condizioni sulle pareti (WALL)

Sulle superfici esterne è stata applicata una condizione di parete. Poiché è stato selezionato il modello Moving Reference Frame, le impostazioni di default relative alla rotazione prevedono che tutti i contorni di tipo Wall restino stazionari rispetto alla mesh; quindi, in termini assoluti, tali contorni ruotano ad una velocità di 5600 giri al minuto. Tale condizione è, però, inappropriata per uno dei contorni della regione in esame: il canale centrale che, in realtà, è fermo; di conseguenza è stato necessario imporre su tale superficie una rotazione della medesima entità ma opposta in verso.

La simulazione numerica è stata arrestata all'iterazione 2000 dal momento che i residui delle grandezze prese in esame presentavano un andamento stabile.

La fase successiva degli esperimenti numerici ha riguardato la simulazione del progressivo riempimento della bowl nel tempo. Questa prova è, ovviamente, di tipo **non stazionario** e rappresenta un tipico problema di flusso multifase, dal momento che il sangue è riversato nella centrifuga, a sua volta piena d'aria. In virtù della particolare composizione del sangue, si è deciso di simularlo in due modi distinti:

- A. fluido omogeneo;
- B. fluido bicomponente costituito dal plasma e da un fluido omogeneo formato prevalentemente da eritrociti.

In entrambi i casi i modelli implementati per le simulazioni numeriche sono:

- Modello per il movimento: Moving Reference Frame,
- Modello per il materiale: Multi-Phase Mixture,
- Modello per il tempo: Implicit Unsteady,
- Modello per il regime di moto: Laminare.

In tal caso, è necessario definire le proprietà di tutti i fluidi coinvolti. Nella situazione A, quando il sangue è simulato come un fluido omogeneo, per l'aria sono stati utilizzati i valori di default di densità e viscosità, mentre per il sangue vale quanto detto per lo stato stazionario. Nel caso B, cioè in presenza di plasma e di un fluido omogeneo formato da globuli rossi, per l'aria sono stati impiegati i valori preimpostati, mentre per i costituenti del sangue si sono adottati i valori:

	<b>Densità</b> (kg/m <sup>3</sup> )	<b>Viscosità</b> (cP) (1 cP = 10 <sup>-3</sup> Pa s)
<u>Plasma</u>	1035	1.35
<u>Concentrato eritrocitario</u>	1089	22.96

**Tabella 4.4: Valori assegnati al plasma e al concentrato eritrocitario nel caso di sangue considerato come un fluido non omogeneo.**

L'indagine si svolge ad una pressione di riferimento di 1 bar, con rotazione di 5600 giri al minuto e condizioni iniziali di velocità e pressione nulle. Poiché a  $t=0$  nella bowl vi è solo aria, all'istante iniziale la distribuzione spaziale della concentrazione dei diversi fluidi è

per il Caso A:           Sangue (fluido omogeneo)=0,  
                               Aria=1,  
 per il Caso B:         Globuli=0,  
                               Plasma=0,  
                               Aria=1,

in tutte le celle di calcolo.

Le condizioni al contorno applicate sono:

- Condizioni al contorno all'ingresso (INLET)

Sulla sezione di ingresso della bowl si impone la velocità di 0.2972 m/s e, entrando esclusivamente sangue, la frazione di volume assegnata ai diversi fluidi è:

per il Caso A:           Sangue=1,  
                               Aria=0,

per il Caso B:           Globuli=0.1,  
                                  Plasma=0.9,  
                                  Aria=0,

dove le percentuali di plasma ed eritrociti sono state fissate in virtù della scelta di un ematocrito del 10%.

- Condizioni al contorno all'uscita (OUTLET)

Sulla superficie di uscita si applica una pressione relativa nulla e, ipotizzando che ad uscire sia solo aria, la frazione di volume risulta essere:

per il Caso A:           Sangue=0,  
                                  Aria=1,

per il Caso B:           Globuli=0,  
                                  Plasma=0,  
                                  Aria=1.

- Condizioni sulle pareti (WALL)

Sulle superfici esterne è stata applicata la condizione di parete.

Le simulazioni sono state arrestate all'iterazione 860, considerando per la fase di riempimento e centrifugazione una durata di  $T=43$  s e fissando l'intervallo di iterazione a  $\delta t=0.05$  s (pari a circa  $1 \cdot 10^{-3} T$ ).

Come descritto nel Capitolo II, in seguito al frazionamento del sangue, una quantità stabilita di soluzione sterile viene riversata nella bowl per eliminare il surnatante (i.e. la componente liquida separata). La simulazione della fase di lavaggio è una prova tempo-dipendente e, a rigore, caratterizzata dalla contemporanea presenza di emazie concentrate, surnatante, aria e soluzione sterile. Nel presente lavoro l'interesse riguarda la sola comprensione del cammino di flusso della soluzione di lavaggio, di conseguenza, per contenere il calcolo computazionale, si è ritenuto opportuno effettuare detta prova a partire dal campo di moto ottenuto al termine della simulazione non stazionaria, in presenza di aria e del fluido omogeneo 'sangue' (caso A).

Per la fase di lavaggio sono state condotte due simulazioni, una per ogni combinazione dei seguenti valori di portata e volume di lavaggio:

portata di lavaggio:	800 ml/min	450 ml/min
volume di lavaggio:	800 ml	600 ml

I modelli implementati sono quelli indicati nelle simulazioni non stazionarie; nella definizione dei diversi fluidi coinvolti e delle loro proprietà è necessario inserire la soluzione di lavaggio, per la cui densità e viscosità dinamica si sono fissati i valori dell'acqua a 25°C, rispettivamente pari a 998 kg/m<sup>3</sup> e 0.001 Pa s. La distribuzione iniziale del liquido di lavaggio nella bowl (e, dunque, nell'intera griglia poliedrica) è evidentemente pari a zero.

Le condizioni al contorno applicate sono:

- per la sezione di ingresso, una velocità di 0.6624 m/s per la prima combinazione e di 0.3822 m/s per la seconda. I valori di velocità sono stati ricavati a partire dalle portate di lavaggio precedentemente indicate e dall'area del condotto centrale.

La frazione di volume è pari a 1 per la soluzione di lavaggio e nulla per aria e sangue.

- per la superficie di uscita, una pressione relativa nulla. Inoltre si ipotizza che ad uscire sia solo la soluzione di lavaggio.

Per il criterio di arresto è stata considerata una durata di T=60 s nel primo caso e di T=80 s nel secondo.

La definizione delle simulazioni numeriche ha messo in evidenza l'elevata complessità del problema esaminato, dovuta principalmente alla particolare composizione del fluido in esame e alla contemporanea implementazione dei modelli numerici necessari per descrivere l'intero fenomeno.

## **4.2 ANALISI DEI RISULTATI NUMERICI**

Il presente paragrafo riporta i risultati più significativi delle prove numeriche effettuate. L'analisi si è rivelata particolarmente interessante ed ha permesso sia di valutare la capacità del codice CFD di risolvere un problema caratterizzato da un elevato livello di complessità sia di esaminare, con evidente utilità applicativa, il comportamento del flusso ematico all'interno della bowl.

Le semplificazioni introdotte e le ipotesi utilizzate per lo studio del problema sono state indispensabili per poter simulare con sufficiente realismo il processo di centrifugazione ma, al tempo stesso, hanno influenzato pesantemente il livello di convergenza numerica. Per giudicare la convergenza (o la divergenza) di una soluzione è possibile esaminare l'andamento dei residui assegnati all'equazione di continuità, alle componenti della velocità, all'equazione dell'energia, ecc. Infatti, i residui forniscono un'indicazione sulla distanza (normalizzata) che intercorre tra la soluzione approssimata e quella esatta delle equazioni del sistema; generalmente, ad eccezione di quello relativo all'equazione di continuità, essi assumono valori dell'ordine di  $10^{-6}$ . Nel presente lavoro i residui delle grandezze considerate mostrano valori piuttosto elevati in tutti i casi esaminati (il loro andamento oscilla attorno a valori dell'ordine di  $10^{-1}$  per la simulazione stazionaria e di  $10^2$  negli altri casi), aspetto che non deve essere trascurato nella valutazione dei risultati riportati. Molto probabilmente l'entità elevata dei residui ottenuti nelle prove svolte è da imputare alla qualità della mesh.

Prima di proseguire con l'analisi dei risultati, è opportuno soffermarsi su un altro aspetto cruciale: la velocità di rotazione. È ragionevole ritenere che variazioni della velocità di rotazione possano influenzare la composizione del prodotto finale e provocare danni di diversa entità ai globuli rossi. Naumenko K.S. et al. (2008) hanno dimostrato sperimentalmente che l'uso di una velocità di rotazione pari a circa 5600 giri al minuto fornisce una più elevata concentrazione di emazie rispetto al caso in cui si utilizzano velocità inferiori (come 4350 giri al minuto) e che il danneggiamento degli eritrociti è il medesimo nei due casi. Di conseguenza, in questo lavoro di tesi, le simulazioni sono state eseguite imponendo una rotazione costante e pari a 5600 giri al minuto, valore tipicamente in uso nella pratica medica data la rapida e ottimale separazione, senza ulteriori danni meccanici per le RBCs.

### 4.2.1 Simulazioni in stato stazionario

È opportuno precisare che, nella consueta procedura di autotrasfusione, la bowl è inizialmente scarica e, solo in seguito alla fase di raccolta, il sangue recuperato viene convogliato in essa ad una portata costante nel tempo. Infine, una volta raggiunto il livello desiderato di eritrociti concentrati, l'infusione viene arrestata. Il fenomeno fisico che si realizza è, dunque, caratterizzato da una sensibile dipendenza temporale.

La simulazione numerica in stato stazionario, essendo una prova tempo indipendente, non è ovviamente rappresentativa del reale fenomeno ad ogni istante di tempo, tuttavia è stata eseguita per un'analisi iniziale del campo delle velocità e delle pressioni all'interno della centrifuga. In tal caso, la prova simula il flusso di sangue nella bowl, continuamente alimentata da una portata di riempimento costante e pari a 350 ml/min.

La valutazione della distribuzione delle velocità e delle pressioni non può prescindere dalle variazioni di geometria che il fluido incontra (ne è un esempio il restringimento dovuto all'ala inferiore della struttura più interna) e dal campo centrifugo imposto.

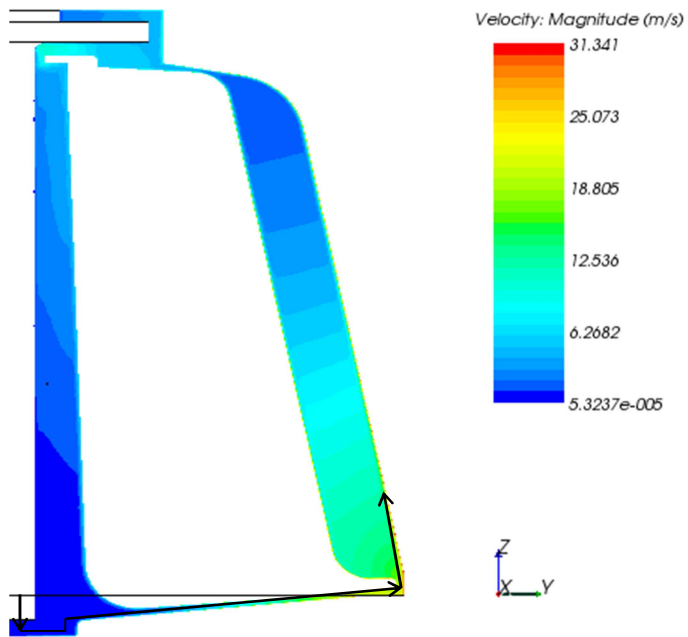
Le Figure 4.4 e 4.6 visualizzano rispettivamente il modulo delle velocità e la variazione della pressione nel dominio considerato.

La velocità mostra un comportamento particolare dal momento che, in prossimità dell'ala della bowl interna, la direzione del flusso cambia da radiale ad assiale.

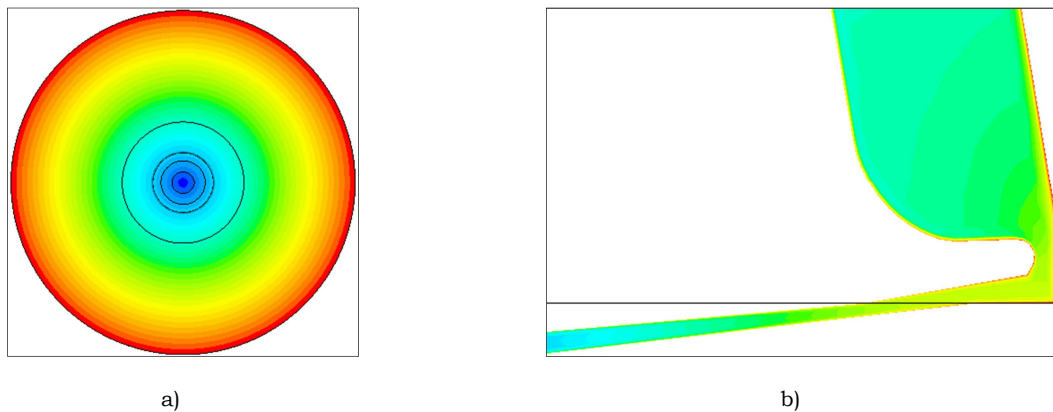
Lungo l'intercapedine alla base, in virtù della rotazione imposta alle due bowls, il modulo della velocità cresce progressivamente con l'aumentare del raggio (Figura 4.5 a); il pannello 4.5 b mostra inoltre che, in direzione assiale, essa assume i valori più elevati sulle pareti; queste ultime infatti trasferiscono la loro rotazione al fluido tra esse compreso.

Nell'intercapedine esterna, procedendo lungo l'asse verso l'alto, la velocità si riduce gradualmente; in aggiunta, in prossimità di ogni superficie solida, si registrano valori maggiori in virtù di quanto detto in precedenza.





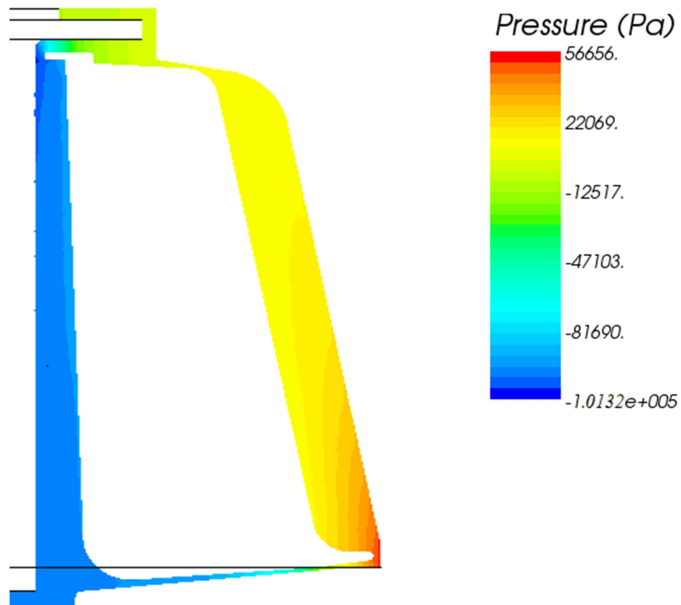
**Figura 4.4: Distribuzione delle velocità su un piano longitudinale (stato stazionario – fluido omogeneo ‘sangue’).**



**Figura 4.5: Distribuzione delle velocità in corrispondenza della base  
a) sezione trasversale e b) sezione longitudinale  
(stato stazionario – fluido omogeneo ‘sangue’).**

La pressione, a sua volta, mostra una dipendenza dalla forza centrifuga, in particolar modo in posizione radiale. Come indicato in Figura 4.6, lungo l’intercapedine alla base, la pressione aumenta con il crescere della distanza dall’asse di rotazione fino ad assumere i valori maggiori in prossimità della parete più esterna della bowl.

Nell’intercapedine esterna, invece, la pressione tende a diminuire all’aumentare dell’altezza, verosimilmente per effetto delle dissipazioni viscosive.



**Figura 4.6: Distribuzione delle pressioni su un piano longitudinale (stato stazionario – fluido omogeneo ‘sangue’).**

I risultati della simulazione stazionaria appaiono ragionevoli con riferimento ai principali aspetti fisici del problema: rotazione del dispositivo e viscosità del fluido. Essi, dunque, avvalorano la validità del modello numerico e contribuiscono alla comprensione globale del moto del fluido all’interno della bowl.

#### **4.2.2 Simulazioni in stato non stazionario**

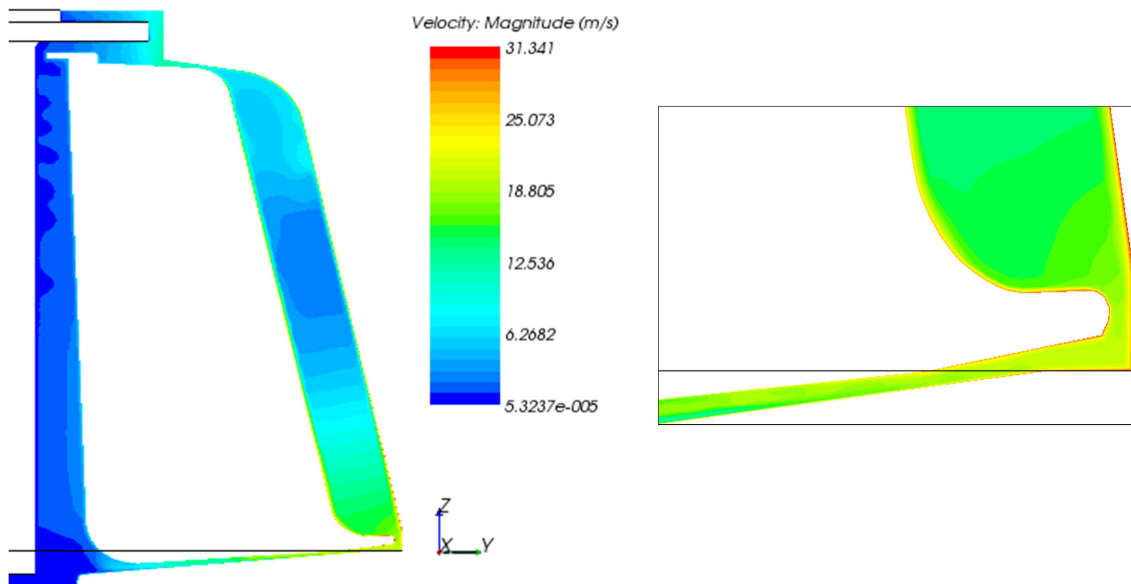
La simulazione transitoria, a differenza della prova stazionaria, permette di studiare le principali problematiche del fenomeno ad ogni istante di tempo. Nelle prove eseguite, all’istante iniziale la centrifuga è completamente scarica (in altre parole, vi è solo aria) e viene progressivamente riempita introducendo una portata costante nel tempo, pari a 350 ml/min. La simulazione del graduale riempimento del dispositivo da parte del liquido e del suo deposito sulla parete più esterna prosegue fino al termine dell’intervallo di tempo imposto.

La simulazione in stato non stazionario, utilizzando per il sangue un fluido omogeneo con specifici valori di densità e viscosità dinamica, è stata eseguita al fine di analizzare il cammino di flusso e la progressiva variazione del fronte di separazione. È opportuno ricordare che, in tal caso, viene esaminato un tipico problema di flusso multifase, di conseguenza l'analisi dei risultati ottenuti deve tener conto della contemporanea presenza nella bowl di aria e del fluido omogeneo 'sangue'.

Nelle Figure 4.7 e 4.8 sono riportati i campi di velocità e pressione, mentre il pannello 4.9 mostra chiaramente la distribuzione delle due fasi presenti nella bowl.

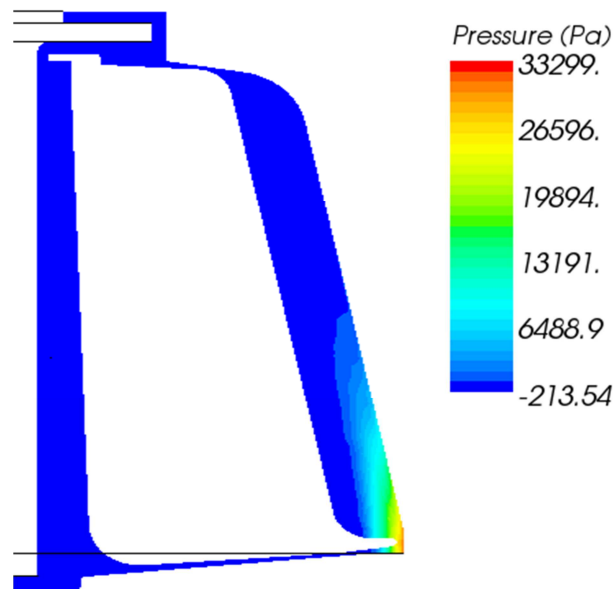
Il confronto tra le immagini 4.4 e 4.7 sottolinea che la presenza di aria nel sistema modifica il campo delle velocità. In particolare, il pannello 4.7 presenta un aumento delle velocità nella zona superiore della bowl; questo incremento è dovuto alla presenza, in tale zona, non del fluido omogeneo 'sangue' (come accade in Figura 4.4) bensì dell'aria, caratterizzata da una minore viscosità.

Tale aspetto è visibile, anche se in minor misura, lungo le pareti della bowl interna, dove l'aria viene confinata per effetto centrifugo, come è illustrato in Figura 4.9.



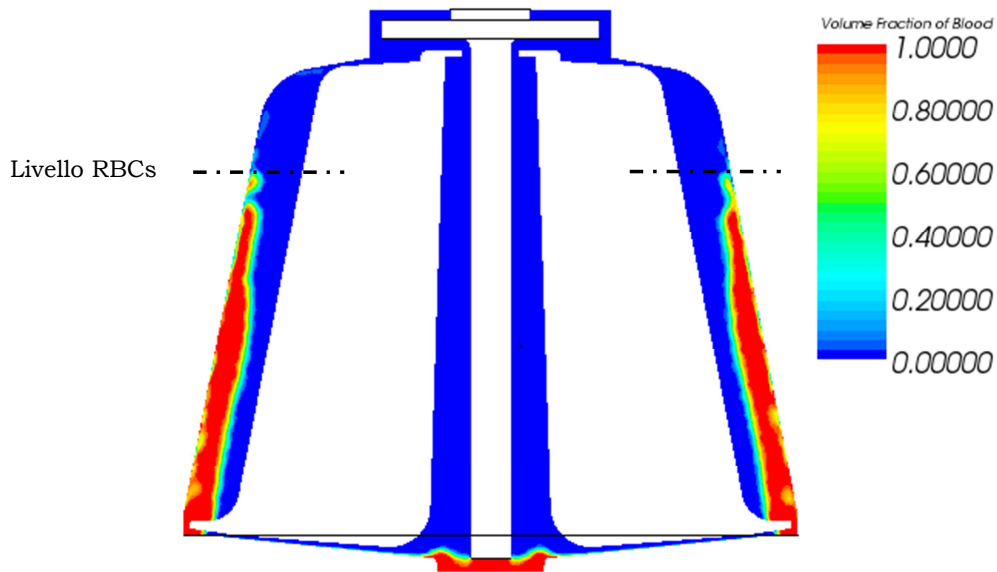
**Figura 4.7: Distribuzione delle velocità su un piano longitudinale ( a destra, dettaglio dell'ala) (stato non stazionario - fluido omogeneo 'sangue').**

L'effetto della presenza di aria e di 'sangue' e della loro stratificazione nella bowl si ripercuote, ovviamente, anche sul campo delle pressioni riportato in Figura 4.8.



**Figura 4.8: Distribuzione delle pressioni su un piano longitudinale (stato non stazionario - fluido omogeneo 'sangue').**

Come illustrato in Figura 4.9, nell'intervallo di tempo imposto, la bowl si riempie sino ad un livello prossimo a quello impiegato nella realtà per bloccare l'afflusso di sangue; contemporaneamente, quest'ultimo si deposita sulla parete esterna della struttura in virtù della forza centrifuga. È necessario ricordare che il sangue viene simulato come un fluido omogeneo, dunque non si verifica il suo frazionamento nei singoli elementi costitutivi; sembra ragionevole pensare che sia questo il motivo per cui il livello raggiunto dal fluido 'sangue' sia inferiore a quello ottenuto nel corso della consueta procedura. Nella realtà, infatti, il sangue è costituito principalmente da plasma e globuli rossi, i quali, a causa della maggiore densità, si accumulano sulla parete esterna, formando uno strato cellulare altamente concentrato, il cui livello, con il procedere dell'infusione, tende a spostarsi verso l'alto.

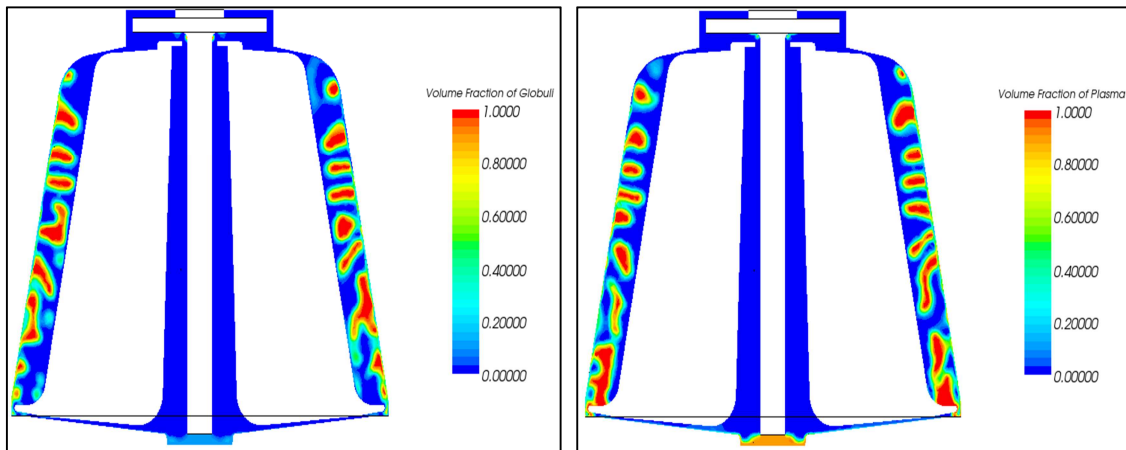


**Figura 4.9: Distribuzione spaziale del fluido 'sangue' entro la bowl. (stato non stazionario - fluido omogeneo 'sangue').**

Al fine di esaminare la fase di centrifugazione e, dunque, la graduale distribuzione dei diversi componenti in virtù della loro densità, si è effettuata una prova numerica in condizioni non stazionarie ipotizzando il sangue costituito dal fluido plasma e da un fluido omogeneo composto prevalentemente da eritrociti. È opportuno precisare che, trattandosi di un problema particolarmente complesso, ricorrere ad oculate semplificazioni è pressoché indispensabile. Infatti, nonostante la grande varietà di modelli disponibili in STAR-CCM+, non è possibile descrivere compiutamente la particolare composizione del sangue e il suo reale comportamento.

I risultati conseguiti, soprattutto in termini di distribuzione dei diversi fluidi entro l'intero dominio, descrivono il fenomeno di frazionamento del sangue e la progressiva concentrazione delle emazie (Figure 4.10 e 4.11).

L'immagine 4.10 riporta la distribuzione spaziale dei singoli fluidi all'interno della bowl dopo un intervallo di tempo di 43 s; in particolare, a sinistra è mostrata la tendenza dei globuli rossi ad accumularsi in prossimità della parete più esterna, mentre a destra si mette in evidenza il comportamento del solo plasma e la sua stratificazione nella zona centrale dell'intercapedine.

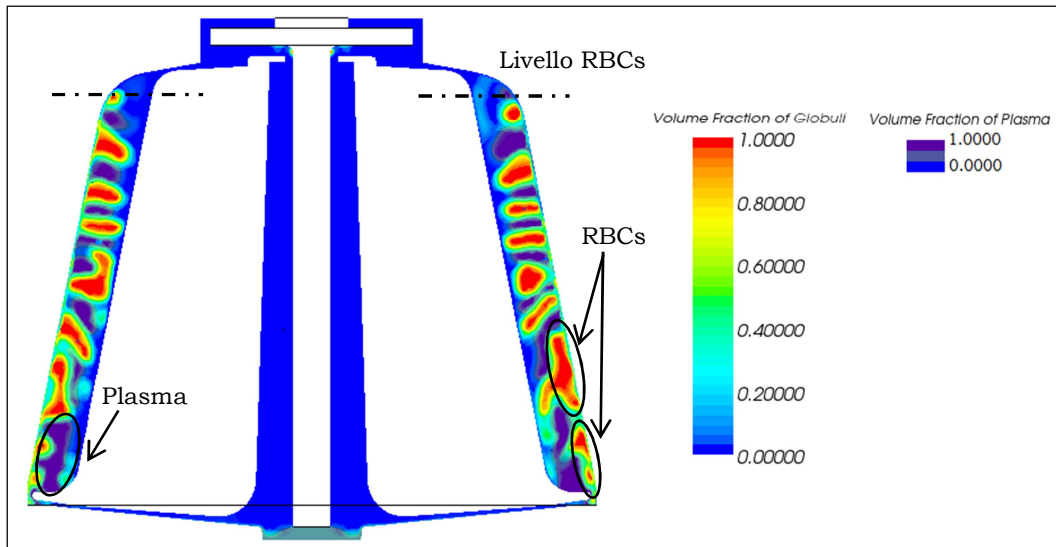


**Figura 4.10: Distribuzione spaziale del ‘concentrato eritrocitario’ (a sinistra) e del plasma (a destra) dopo 43 s (stato non stazionario - plasma + fluido omogeneo per il concentrato eritrocitario).**

Al fine di mostrare, in modo chiaro ed immediato, il processo di separazione degli eritrociti dal plasma, i risultati ottenuti per ciascuna delle fasi presenti nella bowl sono stati combinati e mostrati in un unico plot. Il fenomeno complessivo è presentato in Figura 4.11, in cui gli eritrociti (in colore rosso) si accumulano sulla parete esterna, dando luogo alla loro concentrazione, mentre i componenti meno densi (in viola) fluiscono tra lo strato cellulare e la bowl interna.

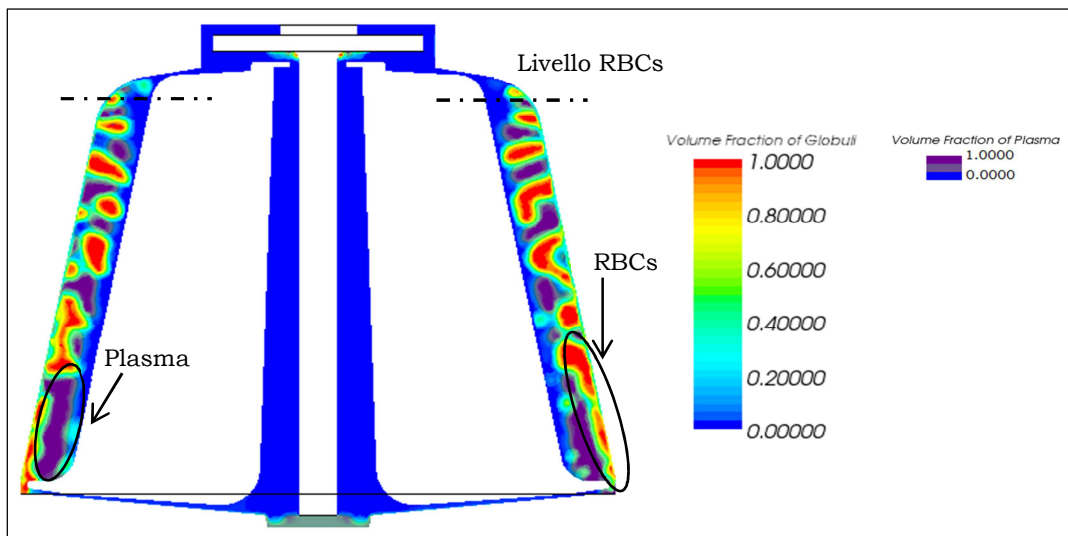
Gli eritrociti restano concentrati in virtù della forza centrifuga, maggiore in prossimità della superficie più esterna; una conseguenza diretta di questo aspetto è che i globuli rossi più vicino all’asse e, dunque, sottoposti a minore forza centrifuga, risultano meno concentrati.

Pur non avendo a disposizione dati reali con cui confrontare il fenomeno simulato, è opportuno evidenziare che, nell’intervallo di tempo imposto, il livello raggiunto dallo strato di emazie concentrate è maggiore se confrontato con quello riportato nel caso di fluido omogeneo e, soprattutto, è paragonabile con il livello reale, in corrispondenza del quale si arresta l’infusione.



**Figura 4.11: Distribuzione dei tre diversi componenti all'interno della bowl dopo 43 s (eritrociti in rosso, plasma in viola, aria in blu) (stato non stazionario - plasma + fluido omogeneo per il concentrato eritrocitario).**

Come mostrato dall'immagine 4.11, nel corso del processo si assiste alla graduale separazione dei singoli componenti; a tal proposito, sono state condotte ulteriori prove riducendo la portata in ingresso, ossia pompando il sangue più lentamente nella bowl. In tal caso il sangue è sottoposto al campo centrifugo per un intervallo di tempo più esteso (60 s), con conseguente migliore concentrazione delle emazie e demarcazione tra le RBCs e il surnatante, come emerge dal confronto tra le Figure 4.11 e 4.12.



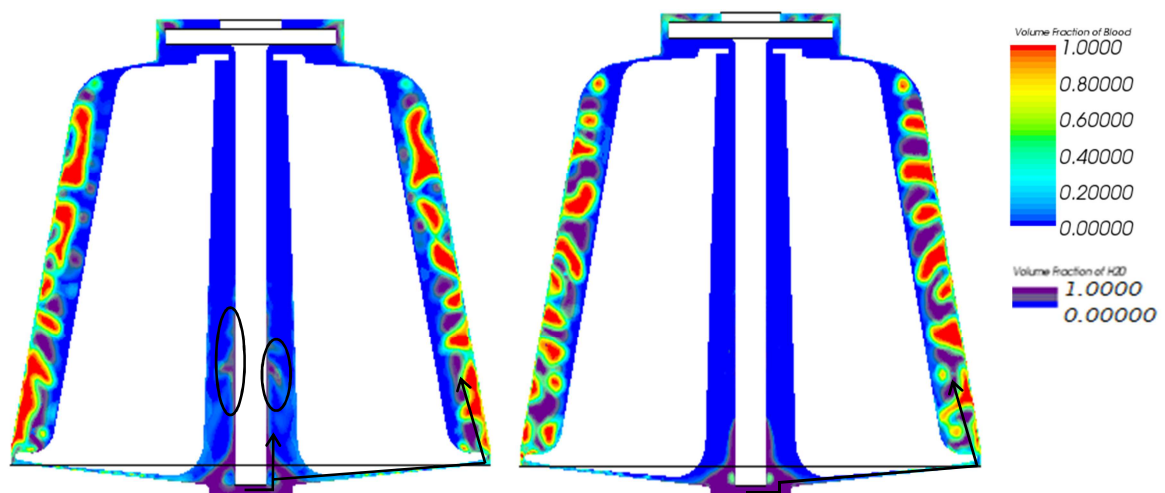
**Figura 4.12: Distribuzione dei tre diversi componenti all'interno della bowl dopo 60 s (eritrociti in rosso, plasma in viola, aria in blu) (stato non stazionario - plasma + fluido omogeneo per il concentrato eritrocitario).**

Per completare il quadro sulle caratteristiche del flusso ematico all'interno della bowl si è passati alla fase di lavaggio, al fine di valutare il cammino di flusso della soluzione sterile. È opportuno precisare che per esaminare gli effetti che diverse portate di lavaggio hanno sulla qualità del sangue processato e, quindi, determinare la portata di lavaggio ottimale è necessario tener conto anche di ulteriori fattori strettamente legati alla composizione del sangue, per esempio la concentrazione dell'emoglobina, l'ammontare dell'emoglobina plasmatica, la concentrazione delle proteine, ecc.

Nel caso in esame la soluzione di lavaggio viene convogliata nella bowl, sulla cui parete esterna è depositato il fluido omogeneo 'sangue' (Figura 4.9). La soluzione salina meno densa fluisce nella centrifuga in rotazione, mentre il fluido omogeneo resta concentrato per effetto della forza centrifuga.

Uno degli obiettivi attuali è quello di poter processare volumi di sangue più velocemente in modo da consentire una più rapida reinfusione. Come già presentato nel Capitolo II, un'idea per poter ridurre la durata complessiva del trattamento del sangue consiste nel rendere più veloce il ciclo di lavaggio aumentando la portata della soluzione salina.

La Figura 4.13 riporta i risultati ottenuti per le due combinazioni di portata e volume di lavaggio precedentemente indicate.



**Figura 4.13: Cammino di flusso della soluzione di lavaggio. A sinistra, combinazione: portata di lavaggio di 800 ml/min, volume di lavaggio di 800 ml (durata 60 s); a destra, combinazione: portata di lavaggio di 450 ml/min, volume di lavaggio di 600 ml (durata 80 s) (fluido 'sangue' in rosso, soluzione neutra in viola, aria in blu).**



Il confronto tra i due plot mette in evidenza che l'utilizzo di una portata maggiore comporta un cammino di flusso della soluzione di lavaggio diverso da quello atteso. In particolare, nel caso in cui si utilizza una portata lavaggio pari a 450 ml/min, la soluzione segue la normale direzione di flusso (a destra nella Figura 4.13), mentre se si impiega una portata di lavaggio maggiore, 800 ml/min, la soluzione comincia a fluire anche nell'intercapedine centrale, come indicato nel pannello a sinistra e confermato dalle prove sperimentali eseguite dal produttore. In quest'ultimo caso è ragionevole che sia necessario un maggiore volume di soluzione (800 ml) per rimuovere la quantità residua di surnatante, dal momento che parte della soluzione viene perduta nell'intercapedine.

Un aspetto di fondamentale importanza applicativa che emerge dai due pannelli precedenti è che, all'aumentare della portata, si ha una migliore stratificazione del fluido omogeneo 'sangue'; tale risultato appare ancor più significativo in virtù del minor tempo impiegato per svolgere la procedura di lavaggio (60 s nel caso a sinistra con portata pari a 800 ml/min e 80 s in quello a destra con portata di 450 ml/min).

I risultati delle simulazioni presentate in questo lavoro indicano che la fluidodinamica computazionale è un utile strumento per predire in modo qualitativo e quantitativo il comportamento del flusso ematico in un dispositivo per autotrasfusione. Le prove numeriche hanno consentito di valutare le caratteristiche del flusso, operando sempre in condizioni controllate.

D'altra parte, però, è necessario ricordare che i risultati riportati sono stati ottenuti a partire da un certo numero di semplificazioni ed assunzioni che sono state indispensabili per poter rappresentare il complesso problema in esame ma che, al contempo, hanno influenzato il livello di accuratezza dei risultati.

Sebbene accordi semi-quantitativi siano stati ottenuti tra i dati sperimentali e quelli acquisiti per via numerica, i profili predetti di velocità e pressione nella centrifuga non sono stati validati direttamente da prove sperimentali.

## CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

Nel lavoro sviluppato sono state analizzate le caratteristiche del flusso ematico all'interno di un dispositivo per autotrasfusione e gli effetti di determinate condizioni operative sulla composizione del prodotto finale, aspetti cruciali in vista di una possibile ottimizzazione del sistema di autotrasfusione. Le analisi sono state condotte al fine di indagare su alcune problematiche, non ancora risolte, legate alle fasi di frazionamento del sangue e di lavaggio.

Per comprendere il comportamento del flusso ematico sono state realizzate opportune simulazioni fluidodinamiche con il codice di calcolo STAR-CCM+, dimostratosi capace di cogliere i principali effetti dinamici dei fluidi in esame.

Per un'appropriata selezione dei modelli e dei metodi presenti nel codice CFD, si è ritenuto necessario illustrare le principali proprietà fisiche e, in particolare, reologiche del sangue umano (Capitolo I) e i principi di funzionamento dello specifico dispositivo (Capitolo II). La realizzazione delle prove numeriche ha richiesto, inoltre, la costruzione della geometria tridimensionale della bowl e la sua opportuna discretizzazione con una griglia di calcolo (Capitolo III).

Lo studio è stato condotto effettuando due tipologie di simulazione: una stazionaria ed una di tipo non stazionario (Capitolo IV).

Nel primo caso, il sangue è stato simulato come un fluido omogeneo con specifiche caratteristiche fluidodinamiche e sono state valutate la distribuzione delle velocità e la variazione delle pressioni entro il dominio considerato.

L'analisi di tipo non stazionario ha riguardato, invece, lo studio delle diverse fasi di lavorazione del sangue, dall'ingresso nel dispositivo al frazionamento e al lavaggio finale.

La prima prova numerica è stata realizzata simulando il sangue come un fluido omogeneo. I risultati ottenuti, in merito al cammino di flusso entro la bowl, sono in linea con il fenomeno reale e dimostrano che la simulazione è stata impostata in modo corretto.

Successivamente, si è ipotizzato il sangue composto dal plasma e da un fluido omogeneo relativo al concentrato eritrocitario. La prova ha mostrato la

graduale separazione del sangue e gli effetti positivi che una minore portata in ingresso ha sulla concentrazione globulare.

In ultima analisi, è stata illustrata la fase di lavaggio; il confronto dei risultati, ottenuti al variare della portata della soluzione salina, ha permesso di valutare il cammino di flusso di tale soluzione. In particolare, è emerso che l'utilizzo di una portata maggiore comporta una direzione di flusso effettivamente diversa da quella attesa ma, al tempo stesso, se associata ad un opportuno volume di lavaggio, contribuisce ad una migliore stratificazione del sangue in un minor intervallo di tempo.

I risultati delle prove eseguite hanno confermato che la fluidodinamica computazionale è un utile strumento per predire in modo sia qualitativo che quantitativo il complesso comportamento del flusso ematico in un dispositivo per autotrasfusione.

L'impossibilità di una completa ricostruzione delle proprietà del sangue e del suo reale comportamento, sia perché molti meccanismi non sono tuttora chiari sia per l'elevata complessità di calcolo, ha richiesto un certo numero di semplificazioni ed assunzioni. Sebbene la dinamica del fluido sia stata ricostruita in modo corretto e accordi semi-quantitativi siano stati ottenuti tra i dati sperimentali e quelli acquisiti per via numerica, i profili predetti di velocità e pressione nella centrifuga non sono stati validati direttamente da prove sperimentali.

Dal momento che il presente lavoro perviene ad una risposta positiva sul possibile impiego della fluidodinamica numerica, si sottolinea la necessità di sviluppare modelli CFD più realistici per descrivere:

- a) la composizione del sangue, costituito da una sospensione di particelle deformabili in una matrice fluida,
- b) il particolare comportamento degli eritrociti,
- c) le zone in cui questi ultimi si depositano.

Inoltre, è possibile migliorare il modello fluidodinamico della fase di lavaggio, in modo da investigare accuratamente il fenomeno e, di conseguenza, apportare modifiche strutturali capaci di rendere la fase più rapida e, contemporaneamente, di garantire il corretto funzionamento del dispositivo stesso.

L'impiego di modelli CFD nello sviluppo di nuove bowls presenta, ovviamente, il vantaggio di ridurre i costi e il tempo necessari per lo svolgimento delle prove sperimentali; tuttavia le simulazioni eseguite nel presente lavoro sottolineano che, attualmente, il costo computazione è ancora piuttosto elevato sia per la complessità del fluido in esame sia per la contemporanea implementazione dei modelli numerici necessari per descrivere il fenomeno.

## Bibliografia

- Chandran KB, Yoganathan AP, Rittgers SE, “*Biofluid Mechanics: The Human Circulation*” - CRC / Taylor & Francis (2006).
- Pal R, “*Rheology of concentrated suspensions of deformable elastic particles such as human erythrocytes*” - Journal of Biomechanics (2003).
- Yilmaz F, Gundogdu MY, “*A critical review on blood flow in large arteries; relevance to blood rheology, viscosity models, and physiologic conditions*” - Korea-Australia Rheology Journal (2008).
- Chandler WL, Schmer G, “*Evaluation of a New Dynamic Viscometer for Measuring the Viscosity of Whole Blood and Plasma*” - Clin. Chem. (1986).
- Wells RE, Merrill EW, “*Influence of Flow Properties of Blood upon Viscosity-Hematocrit relationships*” - Journal Of Clinical Investigation (1962).
- Pirofsky B, “*The Determination of Blood Viscosity in man by a Method based on Poiseuille’s Law*” - The Department Of Medicine - The Fourth Medical Division (NY, 1952).
- Martorana MC, Mojoli G, Mannella E, “*Ipotesi di costruzione di valori di riferimento in Emoreologia indipendenti dall’ematocrito partendo da un modello matematico*” - Istituto Superiore di Sanità (2002).
- Caimi G, “*Emoreologia clinica e sindromi da iperviscosità*” - Istituto Superiore di Sanità (2002).
- Linderkamp O, Stadler AA, Zilow EP, “*Blood Viscosity and Optimal Hematocrit in Preterm and Full-Term Neonates in 50-500 $\mu$ m Tubes*” - Pediatric Research (1992).
- Cınar Y, Demir G, Pac M, Cınar AB, “*Effect of Hematocrit on Blood Pressure Via Hyperviscosity*” - A J H (1999).

- Eckmann DM, Bowers S, Stecker M, Cheung AT, “*Hematocrit, Volume Expander, Temperature, and Shear Rate Effects on Blood Viscosity*” - *Anesth Analg* (2000).
- Fraser DR, Mujoomdar A, Tien HC, “*Cell Salvage in Trauma*” - *International Trauma Care* (2008).
- Ashworth A, Klein AA, “*Cell salvage as part of a blood conservation strategy in anaesthesia*” - *British Journal of Anaesthesia* (2010).
- Griswold RA, Ortner AB, “*The use of autotransfusion in surgery of the serous cavities*” - *Surg Gynecol Obstet* (1943).
- Krajewski K, Ashley RK, Pung N et al, “*Successful blood conservation during craniosynostotic correction with dual therapy using Procrit and cell saver*” - *J Craniofac Surg* (2008).
- Bridgens JP, Evans CR, Dobson PMS, Hamer AJ, “*Intraoperative red blood-cell salvage in revision hip surgery*” - *J Bone Joint Surg* (2007).
- Munoz Gomez M, Sanchez Arrieta Y, Garcia Vallejo JJ, Merida de la Torre FJ, Ruiz Romero de la Cruz MD, Eloy-Garcia JM, “*Pre and post-operative autotransfusion. A comparative study of hematology, biochemistry and red cell metabolism in pre-donated blood and blood from post-operative surgical drainage*” - *Sangre* (1999).
- Schmidt H, Kongsgaard U, Kofstad J, Geiran O, Refsum HE, “*Autotransfusion after open heart surgery: the oxygen delivery capacity of shed mediastinal blood is maintained*” - *Acta Anaesthesiol Scand* (1995).
- Goglia G, “*Il sangue e la linfa. Citologia ed istologia*” - Piccin (1988).
- Goodnough LT, Despotis GJ, “*Consensus Conference. Establishing practice guidelines for surgical blood management*” - *Am J Surg* (1995).
- Orr M, “*Autotransfusion: the use of washed red cells as an adjunct to component therapy*” - *Surgery* (1978).
- Pineda AA, Zylstra VW, Clare DE et al, “*Viability and functional integrity of washed platelets*” - *Transfusion* (1989).

- Azzopardi N, Yabri M, “*A fatal reaction following scavenged autologous blood transfusion*” - Anaesth Intens Care (1993).
- Noon GP, Solis RT, Natelson EA, “*A simple method of intraoperative autotransfusion*” - Surg Gynecol Obstet (1976).
- Davies MJ, Cronin KC, Moran P et al, “*Autologous blood transfusion for major vascular surgery using the Sorenson recptal Device*” - Anaesth Intens Care (1987).
- Andrews NJ, Bloor K, “*Autologous blood collection in abdominal vascular surgery. Assessment of a low pressure blood salvage system with particular reference to the preservation of cellular elements, trygliceride, complement and bacterial content in the collected blood*” - Clin Lab Haematol (1983).
- Ruggeri A, Comai G, Belloni M, Zanella A, “*A Simulation Study for the Design of a Control System for the Blood Concentration Process in Autotransfusion*” - Annals of Biomedical Engineering (2000).
- Blundell J, “*Experiments on the transfusion of blood by the syringe*” - Med Chir Trans (1818).
- Dyer RH, “*Intraoperative autotransfusion. A preliminary report and new method*” - Am J Surg (1966).
- Klebanoff G, “*Early clinical experience with a disposable unit for the intraoperative salvage and reinfusion of blood loss (intraoperative autotransfusion)*” - Am J Surg (1970).
- Williamson KR, Taswell HF, “*Indications for intraoperative blood salvage*” - J Clin Apher (1990).
- Williamson KR, Taswell HF, “*Intraoperative blood salvage: a review*” - Transfusion (1991).
- Wilson JD, Taswell HF, “*Autotransfusion: historical review and preliminary report on a new method*” - Mayo Clin Proc (1968).

- Kellet BE, Han B, Dandy DS, Wickramasinghe SR, “*Modeling Centrifugal Cell Washers Using Computational Fluid Dynamics*” - Artificial Organs (2004).
- De Gruttola S, Boomsma K, Poulikakos D, Ventikos Y, “*Computational Simulation of the Blood Separation Process*” - Artificial Organs (2005).
- Judson G, Jones A, Kellogg R, Buckner D, Eisel R, Perry S, Greenough W, “*Closed Continuous-Flow Centrifuge*” - Therapeutic Apheresis (2000).
- Naumenko KS, Kim SF, Cherkanova MS, Naumenko SE, “*The Haemonetics Cell Saver 5 washing properties: effect of different washing pump and centrifuge speeds*” - Interact CardioVasc Thorac Surg (2008).
- Kleinstreuer C, “*Biofluid Dynamics - Principles And Selected Applications*” - CRC / Taylor & Francis (2006).



## Siti web

- <http://www.med.unipi.it/patchir/bloodl/bmr-it/pietrini.htm>
- <http://www.med.unipg.it/ccl/Didattica/Fisiologia/Emodinamica>
- [http://www2.fci.unibo.it/~oskar/Rheology\\_beamer\\_II\\_s](http://www2.fci.unibo.it/~oskar/Rheology_beamer_II_s)
- <http://www.dipic.unipd.it/faculty/canu/files/Seminari%20di%20Reologia/6%20Reometria>

## **Ringraziamenti**

I miei primi ringraziamenti vanno innanzitutto alla Prof.ssa F. M. Susin e al Prof. M. Antonello, per aver creduto nel progetto e per avermi introdotto nel mondo della fluidodinamica computazionale, mettendo a mia disposizione le risorse necessarie al compimento dello studio. Senza i loro consigli difficilmente questo lavoro avrebbe potuto concludersi.

Un grazie particolare lo devo, inoltre, a tutto lo staff della Sorin Group Italia S.r.l, soprattutto ad Antonia Saraceno e all'Ing. G. Simonini, per avermi dato l'opportunità di muovere i primi passi in una realtà industriale leader nel settore e ad E. Maculan e A. Galavotti, per avermi permesso di approfondire ed analizzare le diverse problematiche, mostrando sempre disponibilità e comprensione.

Rivolgo i miei più vivi ringraziamenti ai miei genitori e a mio fratello, perché hanno sempre compreso e sostenuto i miei sforzi. I loro incoraggiamenti e le loro premure sono stati indispensabili per permettermi di realizzare le mie aspirazioni.

Un pensiero va a tutti gli amici che hanno condiviso con me le gioie e gli affanni di questi anni e che, soprattutto in quest'ultimo periodo, hanno compreso le mie rinunce agli incontri mondani con la solita scusa: devo studiare (ma non avevo finito gli esami?). Un grazie speciale va al futuro Ing. Mimi, per il supporto tecnico e per la smisurata pazienza nel rendermi una 'eccellente' disegnatrice CAD.

Infine, ringrazio tutte quelle persone che mi hanno sostenuto in questo percorso senza mai smettere di credere in me.