



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

“REOLOGIA DEL SANGUE”

Relatrice: Prof.ssa Francesca Maria Susin

Laureando: Antonio Berti

ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022

23 Settembre 2022

Ai miei genitori

INDICE

INTRODUZIONE	7
1. IL SANGUE.....	9
1.1. FUNZIONI.....	9
1.1.1. TRASPORTO DI SOSTANZE.....	9
1.1.2. OMEOSTASI	10
1.1.3. PROTEZIONE DELL'ORGANISMO	11
1.2. LA COMPOSIZIONE	11
1.2.1. IL PLASMA	12
1.2.2. I GLOBULI ROSSI.....	13
1.2.3. I GLOBULI BIANCHI.....	14
1.2.4. LE PIASTRINE.....	15
1.3. IL SISTEMA CIRCOLATORIO	16
1.3.1. ARTERIE.....	17
1.3.2. CAPILLARI	18
1.3.3. VENE.....	18
2. LA REOLOGIA.....	20
2.1. CONCETTI FONDAMENTALI	20
2.1.1. STRESS.....	20
2.1.2. DEFORMAZIONE.....	21
2.1.3. SOLIDI.....	23
2.1.4. VISCOSITÀ DEI FLUIDI.....	24
2.2. REOLOGIA DEI FLUIDI	25
2.2.1. FLUIDI NEWTONIANI.....	25
2.2.2. FLUIDI NON-NEWTONIANI	26
2.3. MODELLI REOLOGICI	28
2.3.1. MODELLO DI HERSHEL-BULKLEY	29
2.3.2. MODELLO NEWTONIANO.....	29
2.3.3. MODELLO POWER LAW	30
3. EMOREOLOGIA.....	31
3.1. AGGREGAZIONE DEI GLOBULI ROSSI	31
3.1.1. FORMAZIONE DEI ROULEAUX.....	32
3.1.2. CONDIZIONI DI FLUSSO	34
3.1.3. EMATOCRITO	35
3.1.4. FLUSSO SANGUIGNO IN VIVO	35
3.1.5. MODELLO MATEMATICO	36
3.2. DEFORMABILITÀ DEI GLOBULI ROSSI.....	37
3.2.1. FATTORI	39
3.2.2. PROCESSI PATOLOGICI	40
3.2.3. MECCANICA DELLA MEMBRANA.....	40
3.3. VISCOSITÀ.....	41
3.3.1. VISCOSITÀ PLASMATICA.....	41
3.3.2. VISCOSITÀ EMATICA.....	43
3.3.3. MODELLO DI CASSON.....	46
3.4. EFFETTO DI FÅHRAEUS	48
3.4.1. EFFETTO DI FÅHREUS-LINDQVIST.....	52
3.5. INVECCHIAMENTO	54
3.6. TEMPERATURA.....	56
4. ASPETTI CLINICI	58
CONCLUSIONI.....	61
BIBLIOGRAFIA	63

INTRODUZIONE

La reologia del sangue, lo studio della deformazione e del flusso ematico, è una scienza tutta da esplorare. Vi è ragione di pensare che il suo futuro sviluppo implicherà profondi cambiamenti nel pensiero medico riguardo alla diagnosi, prognosi e alla terapia di diversi disturbi clinici.

Nelle indagini riguardanti la reologia del sangue, o emoreologia, sono coinvolte figure specialistiche appartenenti a diverse scienze accademiche, tra cui biochimici, biofisici, fisiologi, ematologi e ingegneri. Difatti, la maggior parte dei lavori pubblicati sull'argomento sono nati da una collaborazione multidisciplinare tra diverse figure specialistiche.

L'emoreologia esplora i fenomeni circolatori e i loro effetti, concentrandosi soprattutto sugli elementi contenuti all'interno del sangue. Infatti, la circolazione non può essere considerata separatamente dal contenuto vascolare, essendo il comportamento reologico del sangue in funzione delle proprietà dei suoi elementi corpuscolati (in particolare i globuli rossi).

Il presente lavoro è nato con l'intento di fornire, a chi ne usufruirà, una più ampia prospettiva sulle proprietà reologiche del sangue. Di fatto, il sangue non può essere definito propriamente un fluido a causa della sua peculiare composizione, che gli conferisce delle proprietà specifiche e distintive.

Nel primo capitolo, dopo una breve introduzione, viene preso in esame il sangue umano da una prospettiva biologica, così da fornire le informazioni riguardo alla sua funzione, composizione e all'articolata rete di vasi in cui scorre, il sistema circolatorio. In particolare, fondamentali risulteranno le nozioni sugli elementi corpuscolati.

Il secondo capitolo espone i concetti alla base della scienza reologica (stress, deformazione e viscosità), in modo da disporre di tutti gli strumenti necessari alla trattazione dell'argomento principe di questo elaborato.

Il terzo capitolo rappresenta, senza dubbio, il cuore di questo lavoro. In esso vengono esplorati i principali fattori che determinano le proprietà e i fenomeni alla base dell'emoreologia, tra i quali: le capacità di aggregazione e deformazione dei globuli rossi, l'influenza di parametri come la temperatura e l'invecchiamento umano, il comportamento della viscosità ematica e l'effetto di Fåhræus.

Il quarto e ultimo capitolo rappresenta una breve parentesi sui risvolti clinici di questa scienza, così da fornire un inciso sugli aspetti pratici a cui può condurre.

1. IL SANGUE

Il sangue è un tessuto biologico allo stato fluido, di tipo connettivo, composto da numerosi e vari elementi cellulari sospesi in una soluzione salina, chiamata plasma.

I tessuti connettivi, la seconda principale tipologia di tessuto nel corpo umano, forniscono supporto strutturale all'organismo e ne rappresentano una barriera per le sostanze estranee. La caratteristica che li distingue dagli altri tessuti, presenti nel corpo umano, è la presenza di una estesa matrice extracellulare contenente diverse cellule. In particolare, il sangue si differenzia dagli altri tessuti connettivi per la presenza di una matrice extracellulare acquosa, il plasma. Quest'ultima, composta da una soluzione diluita di ioni e molecole organiche disciolte insieme ad una varietà di proteine solubili, costituisce un quarto del liquido extracellulare e agisce da tampone tra le cellule e l'ambiente esterno. La sua composizione è pressoché identica a quella del liquido interstiziale; infatti, la componente principale è l'acqua, seguita da proteine (tra cui il fibrinogeno, la globulina e l'albumina), molecole organiche, ioni, vitamine, ossigeno e anidride carbonica.

1.1. FUNZIONI

Il sangue viaggia all'interno del nostro organismo attraverso una complessa e districata rete di condotti, chiamati vasi, i quali raggiungono ogni nostro organo e apparato. Per tale connotazione è lecito aspettarsi che il sangue ricopra un ruolo fondamentale nella vita e nella sopravvivenza del nostro organismo.

I concetti esposti in tale paragrafo non sono direttamente correlati con l'argomento dell'elaborato. Ciò nonostante, consapevole della loro rilevanza, ho ritenuto necessario riportarli, seppur brevemente, così da fornire una più ampia prospettiva e una maggior completezza d'insieme.

Tra le numerose funzioni svolte dal sangue, le principali e fondamentali sono: il trasporto di sostanze, l'omeostasi dell'organismo e la sua protezione.

1.1.1. TRASPORTO DI SOSTANZE

Nel suo viaggio all'interno del sistema circolatorio, il sangue ha il compito di distribuire ossigeno e sostanze nutritive, necessari allo svolgimento delle funzioni metaboliche da parte delle cellule dei vari organi e apparati. Contemporaneamente, il sangue si occupa di raccogliere

e trasportare anidride carbonica insieme ad altri materiali di rifiuto, i quali verranno successivamente eliminati, nelle modalità adeguate, nelle zone adibite al loro smaltimento.

Lo scambio di sostanze, che siano nutrienti per le cellule o sostanze di scarto da loro prodotte, avviene a livello dei capillari. Essi

sono i più piccoli vasi del sistema cardiovascolare e rappresentano, di fatto, la principale sede di scambio di sostanze tra il sangue e il liquido interstiziale. Tale scambio è

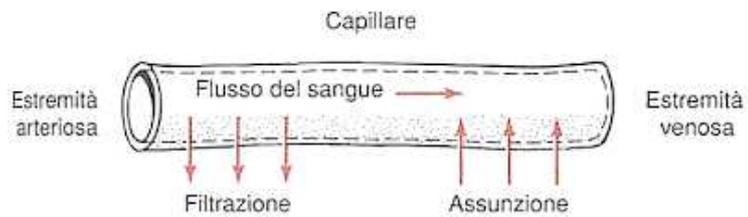


Figura 1.1 - scambio di sostanze nei capillari

facilitato dalla sola presenza di uno strato monocellulare di endotelio, caratterizzato da uno spessore medio di circa 0.5 μm , il quale risulta appoggiato su una lamina basale.

Nello scambio di sostanze tra il plasma e il liquido interstiziale, i soluti più piccoli e i gas disciolti si muovono per diffusione, mentre i soluti più grandi e le proteine si muovono mediante il trasporto vescicolare. La velocità di diffusione dei soluti disciolti è proporzionale al loro grado di concentrazione. Un'altra forma per lo scambio di sostanze a livello dei capillari è il flusso di massa, che consiste nel movimento di sostanze liquide in funzione del gradiente di pressione.

1.1.2. OMEOSTASI

La capacità di un organismo di mantenere il proprio ambiente interno pressoché stabile è nota come omeostasi. Gli organismi dotati di tale capacità sono, di fatto, in grado di controllare e monitorare il proprio stato interno, per poi eventualmente attuare le procedure necessarie a correggere le alterazioni che minacciano il normale equilibrio. Quando l'organismo fallisce nella sua auto-regolazione, esso raggiunge delle condizioni che possono essere indubbiamente associabili allo stato di "malattia".

Uno dei compiti del sangue è proprio quello di controllare e mantenere l'omeostasi del nostro organismo, mediante: la regolazione del pH e quindi dell'equilibrio acido-base (garantito dalla presenza di sostanze tampone, consiste nello scambio di ioni a livello polmonare e renale), il controllo dell'equilibrio idro-salino (la necessità di mantenere entro determinati valori le concentrazioni dei soluti in ambiente acquoso) e il mantenimento dell'equilibrio termico (il nostro organismo mantiene solitamente una temperatura uniforme e costante, attorno ai 37°C, grazie ad una omogenea distribuzione dei vasi sanguigni, che garantiscono un continuo scambio di calore tra sangue e tessuti).

1.1.3. PROTEZIONE DELL'ORGANISMO

All'interno del sangue sono presenti alcune tra le sostanze in grado di proteggere l'organismo da eventuali agenti esterni e patogeni, i globuli bianchi (chiamati anche leucociti).

I leucociti sono le cellule principali che si occupano della risposta immunitaria dell'organismo. Esse, grazie alla loro varia e numerosa specializzazione, intervengono nella protezione dell'organismo in diversi modi: i fagociti sono in grado di inglobare materiale estraneo, le cellule natural killer (chiamate anche cellule NK) inducono apoptosi nelle cellule infettate da un virus o in cellule tumorali, mentre i linfociti B e T si occupano della risposta immunitaria antigene specifica con il supporto degli anticorpi.

Nella protezione dell'organismo prende parte anche l'emostasi, il processo che permette l'arresto della perdita di sangue dai vasi danneggiati. Tale processo si articola in tre fasi principali: la vasocostrizione del dotto danneggiato, il blocco della lesione tramite un tappo piastrinico, e la formazione di un coagulo per sigillare la lesione. La formazione del tappo piastrinico è garantita dall'adesione delle piastrine al collagene, esposto a causa della lesione al vaso.

1.2. LA COMPOSIZIONE

Il sangue costituisce il 5 – 7 % del volume corporeo umano. In un soggetto adulto ne circolano in media 4 - 5 l (mediamente meno nelle donne e leggermente di più negli uomini). La composizione del sangue può essere riassunta in due grandi porzioni: il plasma, che ne costituisce il 55%, e gli elementi corpuscolati sospesi al suo interno.

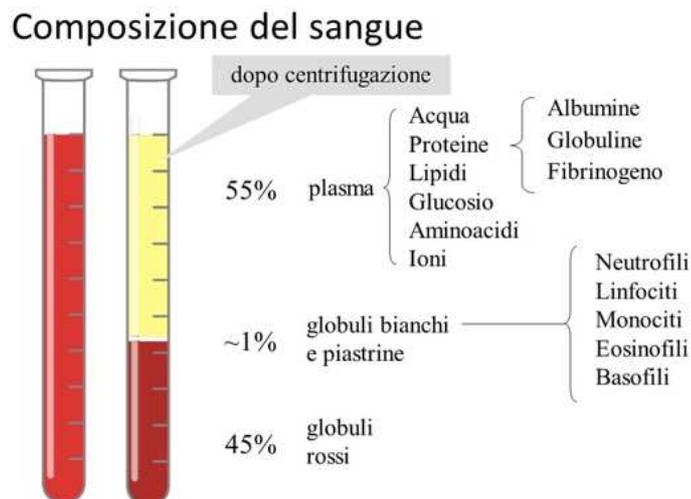


Figura 1.2 - composizione del sangue

Gli elementi corpuscolati presenti nel sangue sono: i globuli rossi detti anche eritrociti, i globuli bianchi altrimenti chiamati leucociti, e infine le piastrine o trombociti. Tutti gli elementi corpuscolati del sangue discendono dalla stessa classe di cellule, definite cellule staminali emopoietiche pluripotenti. Tali cellule sono presenti nel midollo osseo e hanno la capacità di differenziarsi in diverse forme cellulari. Maturando, esse perdono tale capacità, trasformandosi in cellule staminali multipotenti e successivamente in cellule progenitrici, che possono specializzarsi in un numero molto limitato di cellule.

1.2.1. IL PLASMA

Tramite centrifugazione, la componente corpuscolare del sangue può essere separata dal mezzo di sospensione, chiamato plasma. Esso rappresenta la parte liquida del sangue; infatti, l'acqua ne è la principale componente (circa il 92% del suo peso). La restante parte è composta da proteine (seconda componente per quantità), varie molecole organiche, ioni (essenziali in molti processi fisiologici) e vitamine. Tra le proteine più importanti abbiamo l'albumina e il fibrinogeno. L'unico elemento che differenzia il plasma dal liquido interstiziale è la presenza di proteine plasmatiche, le quali intervengono in vari processi, tra cui: la coagulazione, la difesa dell'organismo e il trasporto di diverse sostanze.

Componente materiale	Concentrazione (g/ 100 ml)	Peso molecolare x 10 ⁻³	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 ⁺⁺	0,009 – 0,011		
Mg ⁺⁺	0,002 – 0,003		
<i>Anioni</i>			
Cl ⁻	0,36 – 0,39		
HCO ₃ ⁻	0,20 – 0,24		
Fosfati	0,003 – 0,004		

Tabella 1.1 – costituenti del plasma

Il plasma umano ha una densità relativa (rispetto a quella dell'acqua) di circa 1,035 e una viscosità che varia tra $1,1 \cdot 10^{-3}$ e $1,6 \cdot 10^{-3}$ Pa·s. La maggior viscosità del plasma rispetto a quella dell'acqua, nelle medesime condizioni di temperatura, nonostante essa sia la sua principale componente, è da ricondurre alla presenza delle proteine disciolte al suo interno.

In linea di principio, qualsiasi proteina presente nel corpo può diventare, almeno temporaneamente, una proteina plasmatica a seconda dello stato dell'organismo. Tale assunzione risulta particolarmente utile nell'individuazione di patologie. Infatti, una proteina che di solito non è presente nel plasma sanguigno, può essere utilizzata come marcatore diagnostico per l'individuazione di una certa malattia.

Una classificazione completa e univocamente accettata delle proteine plasmatiche non è ancora stata riconosciuta. Negli anni '70 del secolo scorso è stata proposto di identificare, come proteine plasmatiche, tutte quelle che svolgono la loro funzione durante la circolazione del sangue. Tale definizione esclude, inevitabilmente, tutte quelle proteine presenti nel plasma che svolgono la funzione di messaggero (come gli ormoni) tra organi e tessuti, e quelle che fuoriescono dalla circolazione a seguito di lesioni ai tessuti.

Il fibrinogeno è il principale fattore di coagulazione delle proteine plasmatiche. La sua concentrazione plasmatica è di 1,5 - 4,5 g/l. Oltre ad essere il precursore della fibrina, il fibrinogeno ricopre un ruolo importante nell'aggregazione piastrinica. Esso svolge quindi un ruolo chiave nell'emostasi e nella trombosi. Di conseguenza, è naturale associare l'aumento della concentrazione di fibrinogeno a diversi fattori di rischio.

1.2.2. I GLOBULI ROSSI

I globuli rossi, o eritrociti, sono gli elementi corpuscolati più numerosi nel sangue. L'ematocrito, il rapporto tra il volume occupato dai globuli rossi e il volume totale del sangue, è solitamente del 45%, ma può facilmente variare da soggetto a soggetto in base all'età e al sesso. Di conseguenza, è doveroso aspettarsi che i globuli rossi influenzino fortemente le proprietà di flusso del sangue.

Se osservati quando il sangue si trova ad uno stato stazionario, i globuli rossi presentano una forma a disco biconcavo, il cui diametro massimo è in media dell'ordine degli 8 μm , con uno spessore variabile tra 1 μm e i 2 μm , con un volume medio di 87 μm^2 . La forma e le dimensioni appena descritte sono molto flessibili, e variano continuamente lungo tutta la circolazione del corpo umano. In media, in un soggetto di donna in salute, il numero di eritrociti è all'incirca di

4,6 milioni per millimetro cubo di sangue (occupandone così il 42% del volume totale), mentre per un uomo in salute il numero di eritrociti aumenta arrivando nell'ordine dei 5,4 milioni per millimetro cubo di sangue (occupandone il 47% del volume totale).

I globuli rossi maturi non presentano il nucleo, il quale viene espulso dalla cellula nell'ultima tappa del processo di maturazione, e il loro interno è riempito con una soluzione di emoglobina. Il tutto è circondato da una membrana viscoelastica flessibile, composta da un doppio strato lipidico appoggiata ad una struttura citoscheletrica, la quale ne mantiene la struttura e il profilo.



Figura 1.3 - globuli rossi

Nei mammiferi, queste cellule presentano la forma di dischi biconcavi con la parte centrale schiacciata, a patto che siano immersi in una soluzione isotonica. La struttura a disco permette agli eritrociti di modificare la propria geometria in risposta ai cambiamenti omeostatici del sangue.

Si è osservato che gli eritrociti hanno un ciclo di vita dell'ordine dei 100 - 140 giorni. La loro produzione è regolata dall'eritropoietina, una glicoproteina il cui funzionamento è regolato dall'ipossia (la presenza di bassi livelli di ossigeno nei tessuti). La maggior parte, al termine del loro ciclo vitale, viene inglobata dai macrofagi presenti nella milza (organo altamente vascolarizzato). Una porzione dei gruppi eme viene convertita da tale organo in bilirubina, un pigmento che viene trasportato al fegato, dove viene metabolizzato e incorporato nella bile (secreta poi nel tratto digerente).

L'emoglobina, una proteina complessa composta da quattro catene globulari circondanti un gruppo eme contenente ferro, è il principale componente dei globuli rossi e ricopre un ruolo fondamentale nel trasporto dell'ossigeno nella circolazione sanguigna. La sua quantità, strettamente correlata a quella dei globuli rossi, è un indice importantissimo per la ricerca e individuazione di eventuali patologie nel corpo umano.

Gli eritrociti hanno l'importante ruolo di trasportare ossigeno (dai polmoni ai tessuti) e l'anidride carbonica (dai tessuti ai polmoni).

1.2.3. I GLOBULI BIANCHI

I globuli bianchi, o leucociti, hanno un ruolo fondamentale nella risposta immunitaria dell'organismo, in quanto lo difendono da agenti esogeni (batteri, virus e parassiti vari). Nel

sangue sono presenti cinque tipologie di globuli bianchi: linfociti, monociti, neutrofilo, eosinofili e basofili. Essi possono essere suddivisi in base alle caratteristiche morfologiche e funzionali in: fagociti (neutrofilo, monociti e macrofagi) per la loro capacità di inglobare e digerire particelle estranee all'organismo, immunociti (linfociti) per il ruolo che ricoprono nel determinare le risposte immunitarie specifiche contro agenti esogeni, granulociti (basofili, eosinofili e neutrofilo) per l'aspetto granulare causato dalle inclusioni citoplasmatiche contenute al loro interno. Tutte e cinque le tipologie di globuli bianchi presentano nucleoli, citoplasma e mitocondri.

In un soggetto adulto, la concentrazione di globuli bianchi è, solitamente, di circa 7000 per millimetro cubo di sangue, di cui il 63% è composto da neutrofilo, il 30% da linfociti, il 5% da monociti, l'1,6% da eosinofili e il restante 0,4% da basofili. È importante sottolineare che la loro concentrazione e distribuzione può variare notevolmente, e rapidamente, anche in soggetti sani.

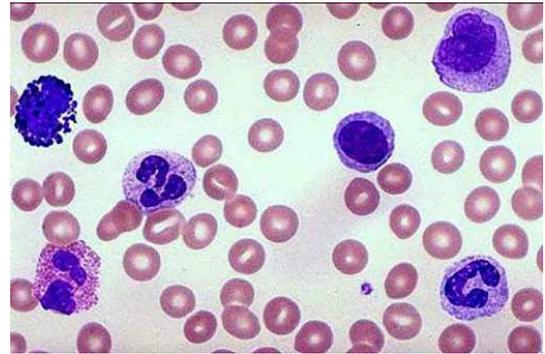


Figura 1.4 - leucociti

In generale, la forma dei globuli bianchi è quella di una sfera altamente deformabile, le cui dimensioni variano in base alla classe di appartenenza, tra quelle elencate precedentemente. La loro membrana è molto elastica; pertanto, quando un globulo bianco, specialmente i fagociti, ingloba una particella estranea, può aumentare considerevolmente il suo volume.

La vita media dei globuli bianchi non si conosce con certezza, essendo tali elementi corpuscolati non limitati al solo sistema circolatorio, ma utilizzando quest'ultimo come mezzo di trasporto per passare dalle zone in cui vengono prodotti (midollo osseo e in generale organi linfogeni) alle aree del corpo in cui sono necessari.

1.2.4. LE PIASTRINE

Le piastrine sono frammenti cellulari, prodotti nel midollo osseo, derivanti da cellule di grandi dimensioni, chiamati megacariociti. Essendo frammenti di altre cellule, le piastrine non presentano il nucleo e non hanno una struttura ben definita. Le piastrine sono solitamente di piccole dimensioni, da 1 a 3 μm , e la loro quantità è dell'ordine dei 400 000 per millimetro cubo. La vita media di una piastrina si aggira attorno ai 10 giorni. Il loro citoplasma contiene mitocondri, reticolo citoplasmatico liscio e granuli (vescicole ancorate alla membrana ricche di citochine).

La classica immagine delle piastrine di piccoli dischi non è corretta. Grazie alla microscopia di contrasto di fase si è potuto osservare che le piastrine presentano numerose fibrille sulla loro superficie. Nelle piastrine più giovani, la distribuzione e la formazione di queste fibrille dipendono dalla CO₂ disciolta e dall'O₂ presente nell'ambiente piastrinico (bassa concentrazione di CO₂ e alta di O₂ consentono la formazione delle fibrille, viceversa ne provocano la distruzione). Con l'invecchiamento il numero delle fibrille tende a diminuire, risultando coerente con la minor tendenza delle piastrine ad agglutinarsi tra loro. Tuttavia, l'età non sembra influenzare la capacità delle piastrine di svolgere il loro ruolo nella formazione dei coaguli (solo il ruolo della retrazione del coagulo sembra esserne influenzato).

Le piastrine ricoprono un ruolo di fondamentale importanza nel processo di coagulazione del sangue, ossia la formazione di un blocco meccanico, in corrispondenza della lesione del vaso sanguigno, per mezzo di un tappo piastrinico (le piastrine presenti nel sangue aderiscono al collagene esposto a seguito della lesione nella parte del vaso).

1.3. IL SISTEMA CIRCOLATORIO

Il sistema circolatorio umano è costituito da un circuito chiuso di vasi sanguigni contenenti sangue, circa 4 – 5 l, connessi al cuore che funge da pompa, la cui pressione permette il continuo flusso di sangue all'interno del sistema.

Vi sono due principali tipologie di circolazione, le quali consentono di definire il sistema circolatorio doppio e completo:

- La circolazione sistemica, o grande circolazione, ha origine nel ventricolo sinistro e ha lo scopo di trasportare ossigeno e metaboliti nelle varie parti dell'organismo e, al contempo, di rimuovere le sostanze di scarto quali l'anidride carbonica e i cataboliti
- La circolazione polmonare, o piccola circolazione, origina dal ventricolo destro e ha lo scopo di portare sangue privo di ossigeno ai polmoni e, in seguito, riportare il sangue ricco di ossigeno dai polmoni all'atrio sinistro del cuore

Possiamo quindi affermare che la funzione principale del sistema circolatorio è il trasporto di sostanze (nutrienti, acqua, ossigeno) da e verso tutti i distretti corporei, raccogliendo contemporaneamente i rifiuti cellulari che verranno poi espulsi dall'organismo. Inoltre, per la presenza all'interno del sangue di leucociti e piastrine, il sistema circolatorio ricopre un ruolo fondamentale nella difesa dell'organismo.

Il sistema circolatorio è costituito da una complessa rete di vasi, all'interno dei quali scorre il sangue, che si differenziano per dimensione (diametro e spessore medio), organizzazione strutturale (porzioni relative dei vari tessuti) e per il ruolo ricoperto nel sistema circolatorio, in: arterie o vasi efferenti, arteriole, capillari, venule, vene o vasi afferenti. Da notare che risultano ininfluenti le caratteristiche del sangue trasportato, ossia se risulta ossigenato o deossigenato. Le pareti di arterie e vene sono composte da strati di muscolatura liscia, tessuto connettivo elastico e tessuto connettivo fibroso. Il rivestimento interno di tutti i vasi sanguigni è formato da uno strato di endotelio, un particolare tipo di epitelio. L'insieme di endotelio e tessuto connettivo costituisce la tonaca intima. La muscolatura liscia è organizzata in strati circolari o a spirale, le cui cellule mantengono costantemente una parziale contrazione, definita tono muscolare. Infine, è presente la tonaca avventizia, la quale riveste i vasi ed è costituita da tessuto connettivo e nervi, e ha lo scopo di mettere in relazione i vasi con i tessuti che li circondano.

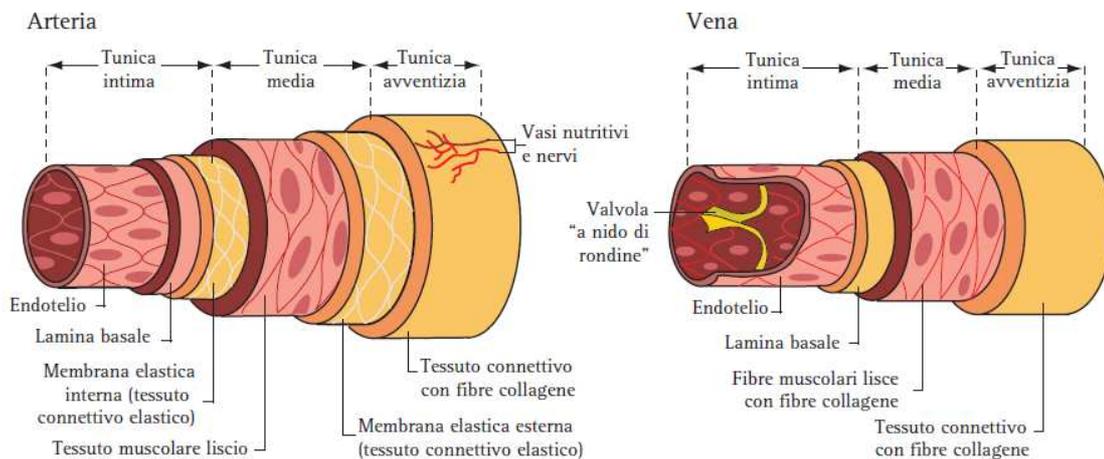


Figura 1.5 - struttura dei vasi sanguigni

1.3.1. ARTERIE

Le arterie vengono classificate in base al calibro. Quelle di grosso calibro, definibili elastiche, come l'aorta e le arterie polmonari, hanno un diametro tra i 7 e i 30 mm. Esse trasportano il sangue verso le arterie di medio calibro e sono collocate in prossimità del cuore. Sono caratterizzate da una lamina elastica interna molto spessa, posizionata tra la tonaca intima e la tonaca media. Tale peculiarità gli consente di resistere allo stress meccanico che deriva dalla pressione sistolica grazie all'elasticità, mantenendo così costante il flusso ematico.

Le arterie di medio calibro, o muscolari, hanno un diametro tra i 2,5 e i 7 mm, e il loro tessuto muscolare liscio, che costituisce circa il 75% della massa della loro tonaca intima, consente di mantenere costante la pressione sanguigna periferica.

Le arterie di piccolo calibro hanno un diametro inferiore ai 2,5 mm e, se minore di 0,2 mm, sono dette arteriole (faranno quindi parte della microcircolazione). La loro tonaca media presenta fibrocellule muscolari lisce con un elevato volume citoplasmatico, distribuite in modo concentrico attorno al lume. Tale struttura consente di regolare il flusso di sangue all'interno della microcircolazione grazie alla loro contrattilità e alla loro azione di sfinteri precapillari.

1.3.2. CAPILLARI

I capillari hanno un diametro variabile tra i 4 e gli 8 μm . Sono i vasi più piccoli del sistema circolatorio e anche quelli più vicini al tessuto da irrorare, in quanto gli scambi di sostanze, tra il flusso sanguigno e il liquido interstiziale, avvengono attraverso le loro pareti. Tale scambio è facilitato proprio dalla sola presenza di uno strato monocellulare di endotelio, posto al disopra della membrana basale, raggiungendo uno spessore medio di circa 0.5 μm .

Il lume dei capillari è nell'ordine delle dimensioni dei globuli rossi (6 – 7 μm) e ne consente il passaggio.

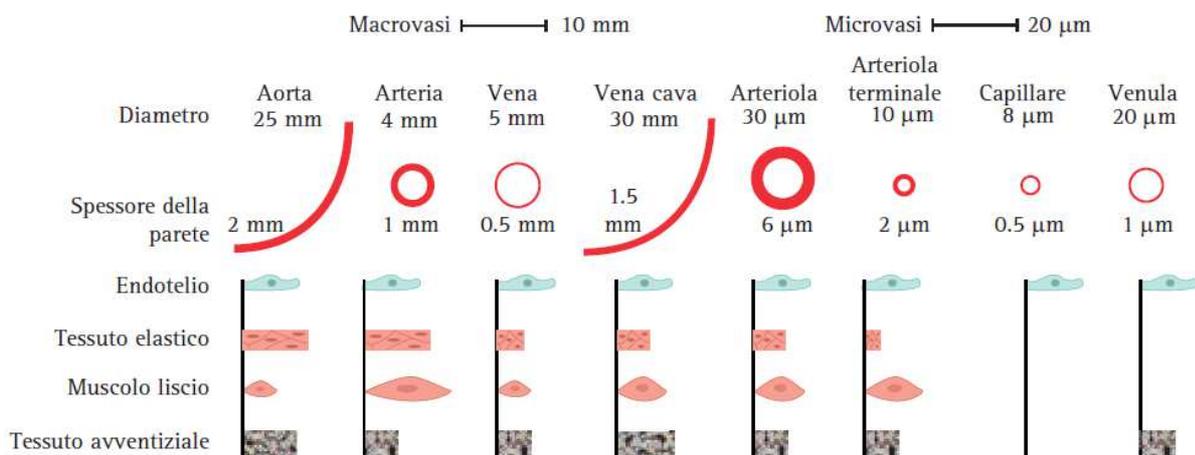


Figura 1.6 - caratteristiche e configurazione dei vasi sanguigni

1.3.3. VENE

Le vene sono caratterizzate da una diminuzione della pressione sanguigna (inferiore ai 5 mmHg) e presentano anch'esse calibri diversi, superiori a 1 mm, che li conferisce una elevata capacità. Le loro pareti presentano spessori diversi in base al distretto corporeo in cui si trovano. Grazie alla distensibilità delle pareti, esse sono in grado di trasportare un grande volume ematico senza subire considerevoli variazioni di pressione nel lume. Rispetto alle arterie, le vene hanno una ridotta quantità di tessuto elastico e di cellule muscolari lisce ma, al contempo, vi è una prevalenza di fibre di collagene. Infatti, il flusso ematico è garantito dalla pressione

ricevuta dalla contrazione dei muscoli circostanti. Nelle principali vene degli arti inferiori sono presenti delle valvole che ostacolano il reflusso del sangue per effetto della gravità, garantendo la direzionalità del flusso sanguigno.

2. LA REOLOGIA

La reologia è la scienza che si occupa dello studio della deformazione e del flusso della materia, sia solida che fluida. Il suo fine è quello di indagare come risponde la materia quando viene sollecitata da una o più forze esterne, sia normali che tangenziali alla superficie sollecitata.

Il nome venne coniato dal Prof. Bingham del Lafayette Collage di Easton, PA. La definizione venne accettata nel 1929, quando fu fondata l'American Society of Rheology. Ci si rese subito conto dell'ampia portata di questa nuova scienza, nella quale sono coinvolte numerose e disparate discipline scientifiche.

In questo capitolo vengono esposti e discussi i concetti alla base della scienza reologica, come lo stress e la deformazione, per poi approfondire i principali modelli reologici. Si è cercato di soffermarsi sulla reologia applicata ai fluidi, essendo l'oggetto di questo elaborato, ossia il sangue, definito spesso come un fluido.

2.1. CONCETTI FONDAMENTALI

La reologia è la scienza della deformazione e del flusso dei materiali, le cui proprietà reologiche vengono determinate applicando e misurando forze e deformazioni. Infatti, la reologia è la scienza che si occupa di studiare il legame, per un dato materiale, tra la sollecitazione applicata su di esso e la deformazione provocata (per i fluidi tra la sollecitazione e lo scorrimento derivante). I concetti di sollecitazione (forza per area) e deformazione sono fondamentali per tutte le valutazioni reologiche. Essi sono legati tra loro da leggi specifiche.

I materiali considerati solidi ideali obbediscono alla legge di Hooke, nella quale lo stress è direttamente proporzionale alla deformazione. Mentre i materiali chiamati fluidi ideali sono definibili non viscosi, ossia fluidi in cui non è presente una resistenza interna al loro scorrimento.

2.1.1. STRESS

Lo stress σ (chiamato anche sforzo o sollecitazione unitaria) è la pressione esercitata da una forza. Definito, infatti, come il rapporto tra la forza F e l'area A su cui viene applicata la forza, la sollecitazione viene espressa nel Sistema Internazionale (SI) tramite Pascal (Pa, $1 \text{ Pa} = 1 \text{ N/m}^2$).

La direzione della forza rispetto alla superficie di applicazione determina il tipo di sollecitazione provocata. Se la forza è ortogonale alla superficie si ottiene una sollecitazione normale, detta compressione n . Invece, se la forza agisce parallelamente alla superficie di applicazione, si verifica uno sforzo tangenziale τ . Considerando una porzione di superficie all'interno di un campo fluido, lo sforzo tangenziale τ è definito come il rapporto tra la componente tangenziale di una forza applicata ad una porzione elementare della superficie in esame e l'area infinitesima su cui la forza è applicata:

$$\tau = \lim_{\delta A \rightarrow 0} \frac{\delta F}{\delta A}$$

Equazione 2.1 - sforzo tangenziale

2.1.2. DEFORMAZIONE

La deformazione di un corpo, o in generale di un materiale allo stato solido, è un qualsiasi cambiamento nella configurazione geometrica del corpo che porta ad una variazione della sua forma o delle sue dimensioni in seguito ad una o più sollecitazioni esterne, la cui direzione determina il tipo di deformazione. Se la sollecitazione è ortogonale alla superficie del materiale, esso subirà una deformazione normale ε . Tale forma di deformazione può essere calcolata come integrale sulla lunghezza deformata del materiale:

$$\varepsilon = \int_{L_i}^{L_i + \Delta L} \frac{dL}{L}$$

Equazione 2.2 – deformazione normale

Si ottengono valori negativi di deformazione in caso di compressione. Al contrario, si ottengono valori positivi in caso di trazione.

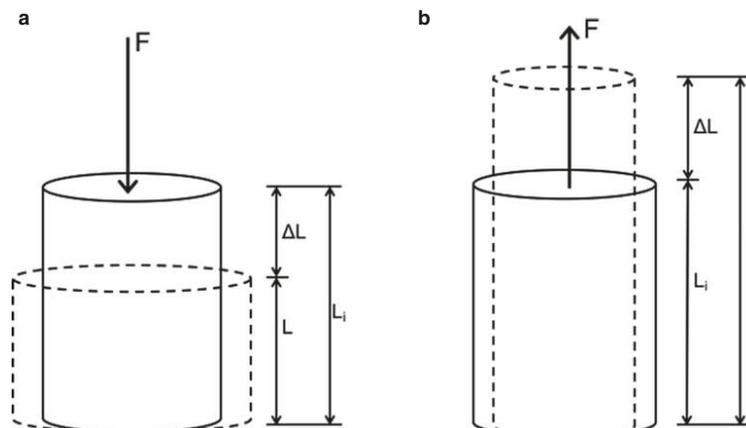


Figure 2.1 – (a) compressione, (b) trazione

Invece quando un campione incontra uno sforzo di taglio, si osserva quella che viene chiamata una deformazione di taglio γ . Tale deformazione viene ottenuta come:

$$\tan(\gamma) = \frac{\Delta L}{h}$$

Equazione 2.3 – deformazione tangenziale

dove h rappresenta l'altezza del campione.

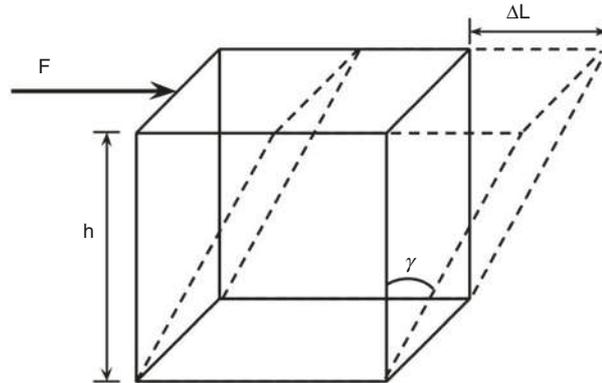


Figura 2.2 – deformazione di taglio

Per i fluidi l'approccio è leggermente diverso, in quanto i fluidi esposti ad una sollecitazione di taglio mostrano deformazioni irreversibili. Quindi, per quantificare la deformazione durante il flusso di un fluido, viene utilizzata la velocità di deformazione $\frac{\partial v}{\partial y}$ (o di taglio, chiamata anche shear rate $\dot{\gamma}$), ossia la deformazione per unità di tempo (unità di misura s^{-1}).

Per definire la risposta reologica di un fluido bisogna pertanto determinare la relazione che intercorre tra lo sforzo tangenziale τ e la deformazione del fluido:

$$\tau = f\left(\frac{\partial v}{\partial y}\right) = f(\dot{\gamma})$$

Equazione 2.4 – relazione tra sforzo tangenziale e shear rate

Per visualizzare il concetto di velocità di deformazione si consideri un fluido che riempie lo spazio tra due piastre mobili e parallele, sperate da una distanza nota h . Mettendo in moto una piastra rispetto ad un'altra a velocità orizzontale U costante, lo strato di fluido direttamente adiacente ad essa inizierà a muoversi con velocità pari a quella della lastra. Di conseguenza, per lo stesso principio, anche gli strati successivi inizieranno a muoversi con una velocità

inversamente proporzionale alla distanza dello strato fluido dalla lastra in movimento, arrivando all'ultimo strato adiacente alla seconda lastra (immobile), caratterizzato da velocità nulla.

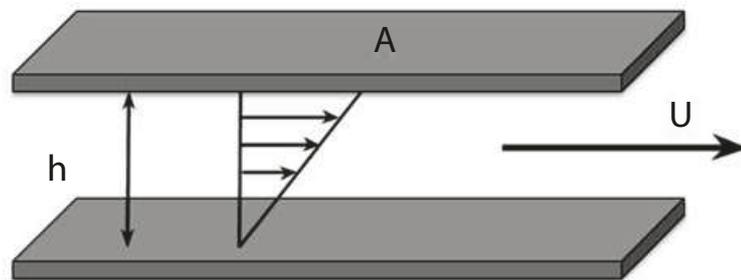


Figura 2.3 – flusso di un fluido attraverso due lastre parallele

2.1.3. SOLIDI

La legge di Hooke afferma che quando un materiale solido è sottoposto ad una sollecitazione, esso subisce una deformazione proporzionale alla sollecitazione stessa.

$$\sigma = (\varepsilon \text{ oppure } \gamma)$$

Equazione 2.5 - equazione di Hooke generalizzata

Se ad un campione viene applicata una sollecitazione normale, la costante di proporzionalità, nella relazione tra sforzo e deformazione, è nota come modulo elastico E , chiamato anche modulo di Young:

$$\sigma = \frac{F}{A} = E\varepsilon$$

Equazione 2.6 – legge di Hooke per una sollecitazione normale

Invece, se viene applicato uno sforzo di taglio, la costante viene chiamata modulo elastico di taglio G :

$$\sigma = G\gamma$$

Equazione 2.7 - legge di Hooke per uno sforzo di taglio

Tali costanti sono proprietà intrinseche al materiale in esame.

2.1.4. VISCOSITÀ DEI FLUIDI

La viscosità di un fluido è una resistenza intrinseca allo scorrimento, che si manifesta a causa dell'attrito interno tra molecole e particelle che lo compongono.

Immaginando un fluido che scorre all'interno di un semplice tubo cilindrico, diritto e rigido, a velocità costante (così da poter assumere un flusso laminare), gli strati del fluido viaggeranno ciascuno con velocità costante, la quale aumenterà allontanandosi dalla parete del tubo, raggiungendo la velocità massima nella posizione assiale. La resistenza al flusso, la sua viscosità, deriverà dall'attrito tra gli strati di fluido adiacenti.

La viscosità dinamica η di un fluido, abitualmente chiamata semplicemente viscosità, è il rapporto tra lo sforzo di taglio τ e la velocità di deformazione $\dot{\gamma}$ (rapporto tra shear stress e shear rate), con unità di misura Pa·s.

Nei flussi laminari, la portata volumetrica Q dipende dal gradiente di pressione ΔP presente nel tubo in cui scorre il flusso, dalla lunghezza L e dal raggio r del tubo stesso, insieme alla viscosità η del liquido. Tale relazione è espressa dall'equazione di Poiseuille:

$$Q = \frac{\Delta P \cdot \pi r^4}{8L} \frac{1}{\eta}$$

Equazione 2.8 – equazione di Poiseuille

dove la quantità $8L/\pi r^4$ viene definita resistenza geometrica del tubo.

Il profilo di velocità parabolico, proprio dei flussi laminari, comporta una distribuzione di velocità e di sforzi di taglio attraverso il tubo non uniformi. Gli strati esterni presentano bassa velocità ed elevati sforzi di taglio, mentre negli strati più interni la situazione è diametralmente opposta a quella appena descritta.

La viscosità di tutti i fluidi dipende dalla temperatura: un incremento nella temperatura provoca generalmente una diminuzione nelle interazioni tra molecole e quindi una diminuzione della viscosità.

Finora abbiamo assunto che ad una data velocità di deformazione si abbia un corrispondente sforzo di taglio, il cui valore non cambia nel tempo, a meno che non venga alterata la velocità di deformazione. Non sempre le cose stanno così in quanto lo sforzo di taglio misurato, e di conseguenza la sua viscosità, può aumentare o diminuire nel tempo in alcuni fluidi, pur mantenendo costante la velocità di deformazione. Tali cambiamenti possono essere reversibili

o irreversibili. Si definisce tissotropia una graduale diminuzione della viscosità sotto sforzo di taglio, seguito da un graduale recupero quando lo sforzo viene rimosso. Il comportamento opposto, ossia un graduale aumento della viscosità, seguito da un ritorno allo stato iniziale, viene definito anti-tissotropia.

2.2. RELOGIA DEI FLUIDI

I fluidi vengono classificati in base alla loro relazione tra sforzo tangenziale τ e shear rate $\dot{\gamma}$. I due gruppi principali in cui vengono divisi i fluidi sono: i fluidi newtoniani e i fluidi non-newtoniani.

2.2.1. FLUIDI NEWTONIANI

Nel 1686 Newton ipotizzò che gli shear rate di un fluido fossero direttamente proporzionali agli sforzi tangenziali, e che la viscosità fosse costante e indipendente dalle condizioni di flusso. I fluidi newtoniani, ossia quei fluidi che rispettano tale enunciato, vengono pertanto definiti come fluidi a viscosità costante, indipendente dalle diverse condizioni di flusso. Tra questi abbiamo l'acqua, il siero e il plasma. La relazione tra sforzo tangenziale e shear rate è quindi una relazione di proporzionalità diretta, con coefficiente di proporzionalità costante e caratteristico del fluido in esame. Tale coefficiente di proporzionalità è definito come la viscosità dinamica μ del fluido (SI: $\frac{kg}{ms}$).

$$\tau = \mu \frac{\partial v}{\partial y}$$

Equazione 2.9 – equazione caratteristica per fluidi newtoniani

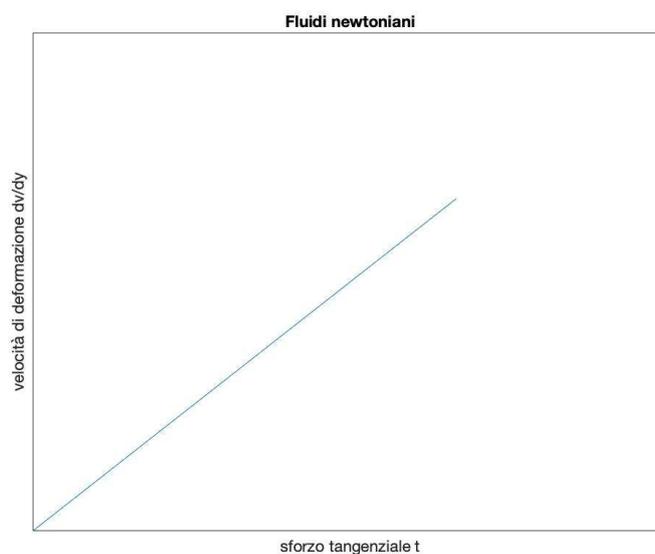


Figura 2.4 – comportamento dei fluidi newtoniani

2.2.2. FLUIDI NON-NEWTONIANI

Nei fluidi non-newtoniani rientrano tutti quei fluidi che non possono essere considerati come newtoniani. Molti di essi presentano proprietà dissimili tra loro. Tra questi troviamo anche il sangue intero, la cui viscosità aumenta per bassi shear rate, principalmente a causa dell'aggregazione dei globuli rossi.

Questi fluidi presentano una viscosità dipendente dalle condizioni in cui si trovano, la quale può diminuire o aumentare al variare della velocità di deformazione. Alcuni fluidi non-newtoniani presentano un limite di snervamento, al di sotto del quale è presente uno sforzo finito, ma la velocità di deformazione è nulla (quindi non è presente un flusso).

Come già affermato, il comportamento dei flussi di alcuni liquidi non-newtoniani può anche dipendere dal tempo; tali liquidi vengono definiti tissotropici e la loro viscosità diminuisce con il passare del tempo per velocità di deformazione finite.

Per tutti i fluidi non-newtoniani si osserva una dipendenza della propria viscosità dalla temperatura. Un aumento della temperatura determina una diminuzione delle interazioni molecolari e quindi una diminuzione della viscosità. Tale dipendenza dalla temperatura si osserva anche nel sangue.

Come già affermato, i fluidi non-newtoniani possono essere anche molto diversi tra loro. Un primo gruppo è rappresentato dai fluidi dilatanti, i quali manifestano una resistenza allo scorrimento che cresce all'aumentare della sollecitazione tangenziale alla quale sono sottoposti.

$$\tau = k \left(\frac{\partial v}{\partial y} \right)^n \quad \text{con } k > 0, n > 1$$

Equazione 2.10 – equazione caratteristica per fluidi dilatanti

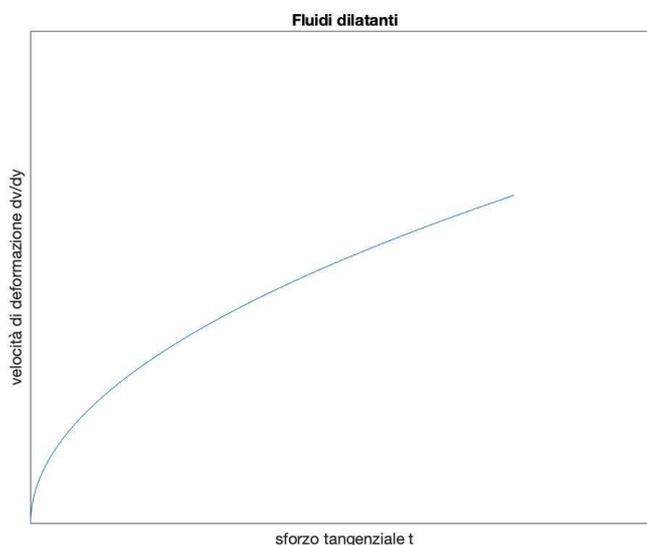


Figura 2.5 – comportamento dei fluidi dilatanti

Tra i fluidi non-newtoniani troviamo anche i fluidi pseudoplastici, i quali presentano un comportamento completamente opposto a quello dei fluidi dilatanti. Infatti, all'aumentare dello sforzo tangenziale, la loro resistenza allo scorrimento diminuisce.

$$\tau = k \left(\frac{\partial v}{\partial y} \right)^n \quad \text{con } k > 0, n < 1$$

Equazione 2.11 – equazione caratteristica per fluidi pseudoplastici

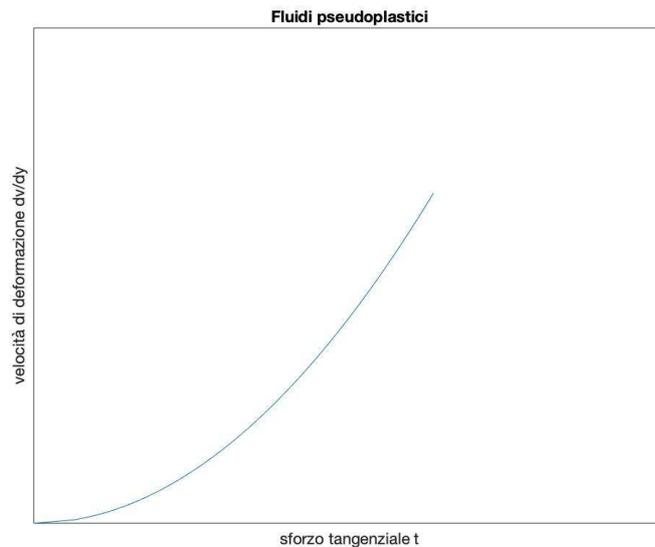


Figura 2.6 – comportamento dei fluidi pseudoplastici

Una classe di fluidi con caratteristiche molto diverse dalle precedenti sono i fluidi di Bingham. Essi sono caratterizzati da uno sforzo tangenziale limite τ_c . Se la sollecitazione tangenziale τ è inferiore a τ_c il fluido si comporterà come una sostanza solida (si deformerà ma non subirà uno scorrimento), mentre se lo sforzo tangenziale τ è maggiore di τ_c il fluido scorrerà comportandosi come un fluido newtoniano.

$$\tau = \tau_c + \mu' \frac{\partial v}{\partial y}$$

Equazione 2.12 – equazione caratteristica per i fluidi di Bingham

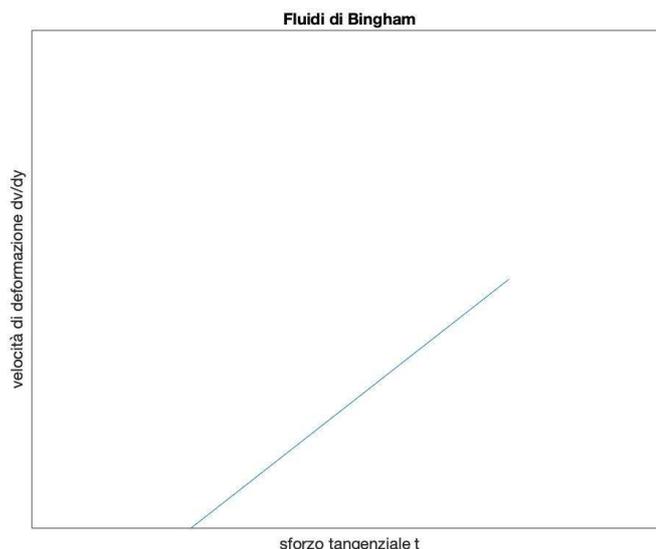


Figura 2.7 – comportamento dei fluidi di Bingham

Anche il sangue presenta una sollecitazione di snervamento, nonostante i valori riportati differiscano molto tra loro (da 0,002 a 0,4 dyne/cm²). Tale discrepanza è attribuibile alle interazioni tra i globuli rossi, al metodo sperimentale utilizzato per misurare lo snervamento, al criterio usato per definire lo stress di snervamento e al periodo di tempo durante il quale viene eseguito l'esperimento. Se fosse un valore costante sarebbe indipendente da questi parametri. Per tale motivo Dintenfass ha suggerito di trattare lo snervamento del sangue come una funzione del tempo.

2.3. MODELLI REOLOGICI

Ottenuti i valori per lo sforzo di taglio e la velocità di deformazione, i modelli reologici possono essere utilizzati per ottenere una più completa comprensione della risposta dei fluidi in esame. I modelli reologici sono relazioni matematiche che legano lo sforzo di taglio con la velocità di deformazione per una determinata tipologia di fluidi. Inoltre, tali modelli permettono la previsione del comportamento reologico dei fluidi in un'ampia gamma di condizioni di lavoro.

È necessario anticipare che i modelli reologici che verranno presentati di seguito rappresentano una generalizzazione delle tipologie di fluidi presentate precedentemente. Questi modelli reologici vengono riportati a scopo di fornire una maggior completezza e visione d'insieme della reologia dei fluidi.

2.3.1. MODELLO DI HERSHEL-BULKLEY

Il modello di Hershel-Bulkley descrive le proprietà reologiche allo stato stazionario di molti fluidi:

$$\sigma = \sigma_0 + K\dot{\gamma}^n$$

Equazione 2.13 – modello di Hershel-Bulkley

K ed n sono delle costanti dipendenti dal materiale in esame e vengono chiamate, rispettivamente, coefficiente di consistenza e indice di comportamento del flusso. Quest'ultimo fornisce informazioni riguardo alla natura newtoniana o non-newtoniana del fluido. Infatti, è facilmente osservabile come dal modello di Herschel-Bulkley, agendo su τ_0 , k ed n , si possono riottenere le equazioni caratteristiche riportate precedentemente, sia per i fluidi newtoniani che non-newtoniani.

<i>Fluid type</i>	σ_0	n
Newtonian	0	1.0
Non-Newtonian		
Pseudoplastic	0	<1.0
Dilatent	0	>1.0
Yield stress	>0	Any

σ_0 yield stress; n flow behavior index

Tabella 2.1 – classificazione di σ_0 e n

La *Tabella 2.1* mostra come vengono scelti i valori dello stress di snervamento e dell'indice di comportamento in funzione delle specifiche caratteristiche dei fluidi.

I successivi modelli possono essere considerati delle modifiche al modello di Herschel-Bulkley, in modo che risulti più adatto per alcuni fluidi in casi specifici.

2.3.2. MODELLO NEWTONIANO

Per i fluidi newtoniani, l'*Equazione 2.12* viene alterata ponendo l'indice di comportamento $n = 1$, lo stress di snervamento nullo e il coefficiente di consistenza K pari alla viscosità del fluido μ :

$$\sigma = \mu\dot{\gamma}$$

Equazione 2.14 - modello newtoniano

2.3.3. MODELLO POWER LAW

I fluidi che rispondono a questo modello non mostrano una sollecitazione di snervamento σ_0 , mentre hanno una relazione non lineare tra la sollecitazione di taglio e la velocità di deformazione. I fluidi pseudoplastici e dilatanti sono fluidi che rispettano la legge di potenza, ognuno con intervalli diversi per i valori dell'indice di comportamento.

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n$$

Equazione 2.15 – modello power law

3. EMOREOLOGIA

La reologia del sangue, o emoreologia, si occupa dello studio della deformazione e del flusso del sangue, indi dei fenomeni circolatori e delle loro implicazioni, non limitandosi esclusivamente allo studio della parete dei vasi sanguigni, ma estendendo la ricerca anche al loro contenuto. La circolazione non può essere separata dal contenuto vascolare in quanto il comportamento reologico del sangue, in funzione delle proprietà delle sue componenti, influenzerà indubbiamente la viscosità, la resistenza periferica e in generale il flusso sanguigno.

Si è fiduciosi nell'affermare che lo sviluppo della ricerca in tale ambito porterà profondi cambiamenti nel pensiero medico e ingegneristico riguardo la diagnosi, prognosi e la terapia di diversi disturbi clinici. Prima di entrare più approfonditamente nell'argomento, è opportuno evidenziare come il tema sia estremamente complesso a seguito dei numerosi fattori in gioco, soprattutto in relazione alla composizione del sangue.

L'obbiettivo di questo capitolo è quello di trattare gli aspetti fondamentali dell'emoreologia, così da indagarne i fattori maggiormente rilevanti. Nei successivi paragrafi e sottoparagrafi, come conseguenza dell'estensione e complessità dei fenomeni esaminati, non vengono riportati gli strumenti e i metodi utilizzati nelle diverse indagini di laboratorio, ma i loro risultati. Permettendo così di focalizzarsi sulla natura dei fenomeni esposti, insieme alle loro cause e possibili sviluppi. È infatti ormai noto come le proprietà reologiche del sangue vengano alterate in presenza di stati patologici.

3.1. AGGREGAZIONE DEI GLOBULI ROSSI

La risposta reologica del sangue dipende fortemente dalla presenza dei globuli rossi, cellule deformabili propense a formare aggregati, chiamati rouleaux. Infatti, in condizioni stazionarie i globuli rossi si aggregano lungo le facce piatte per formare delle pile di questi aggregati. È importante sottolineare come i rouleaux non siano rigidi, ma bensì in grado di deformarsi senza rompersi. In generale, si può affermare che tanto più i rouleaux si disgregano e i globuli rossi si deformano, tanto più il comportamento reologico del sangue approssima quello di un fluido newtoniano.

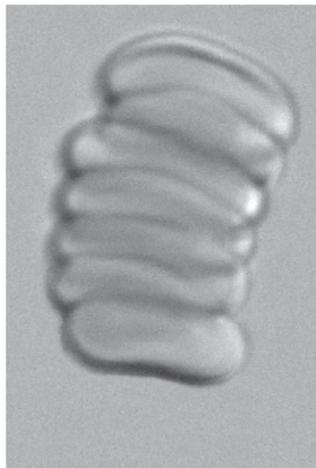


Figura 3.1 – istantanea di un rouleaux composto da 7 globuli rossi

L'aggregazione dei globuli rossi è stata descritta per la prima volta da John Hunter nel 1786. A lungo è stata considerata di primaria importanza a livello fisiopatologico, essendo un fenomeno molto presente in diversi stati patologici. Si ipotizza che in condizioni di basso flusso, o di shock circolatorio, i rouleaux ostacolerebbero il normale flusso di sangue in vivo. Tuttavia, l'aggregazione dei globuli rossi è normalmente presente nell'essere umano e in molte altre specie animali non sedentarie. Si solleva quindi la possibilità che normali valori di aggregazione nei globuli rossi siano utili ad una funzione omeostatica.

Il numero di globuli rossi che compongono un rouleaux è variabile; inoltre, possono verificarsi delle ramificazioni nei singoli aggregati. La formazione dei rouleaux è influenzata dalle proprietà intrinseche ai globuli rossi, come l'elasticità della membrana, che contribuisce alla loro resistenza.

Le forze attrattive coinvolte nel processo di formazione dei rouleaux sono relativamente deboli. Risulta quindi possibile dissolvere i rouleaux in parti più piccole, fino alle singole cellule, applicando una forza di taglio sufficiente.

Per basse velocità di deformazione, gli aggregati di grandi dimensioni portano ad un aumento della viscosità del sangue intero. Mentre alti valori di velocità di deformazione rompono gli aggregati e la viscosità diminuisce fino al raggiungimento di un valore costante.

3.1.1. FORMAZIONE DEI ROULEAUX

La formazione di rouleaux è provocata dalla presenza di macromolecole, come il fibrinogeno, all'interno del plasma sanguigno. Sia nel processo di coagulazione del sangue, sia nell'aggregazione dei globuli rossi, il fibrinogeno gioca un ruolo fondamentale. Infatti,

l'aggregazione dei globuli rossi, mediata dal fibrinogeno, aumenta in modo proporzionale con l'incremento della sua concentrazione.

I meccanismi alla base dell'aggregazione dei globuli rossi non sono ancora stati completamente compresi. Ad oggi in letteratura si trovano due principali modelli: il modello a ponte (bridging model) e il modello di esaurimento (depletion model).

Una prima spiegazione è l'ipotesi del modello a ponte avanzata da Chien e Jan, i quali ipotizzarono che macromolecole a catena lunga o ad alto peso molecolare, come il fibrinogeno, possano essere adsorbite sulla superficie di più cellule, portando alla formazione di un "ponte" tra di esse. Inoltre, ulteriori studi sembrano mostrare la tendenza di alcune proteine plasmatiche, come l'albumina, a prevenire, se non impedire, la formazione dei rouleaux.

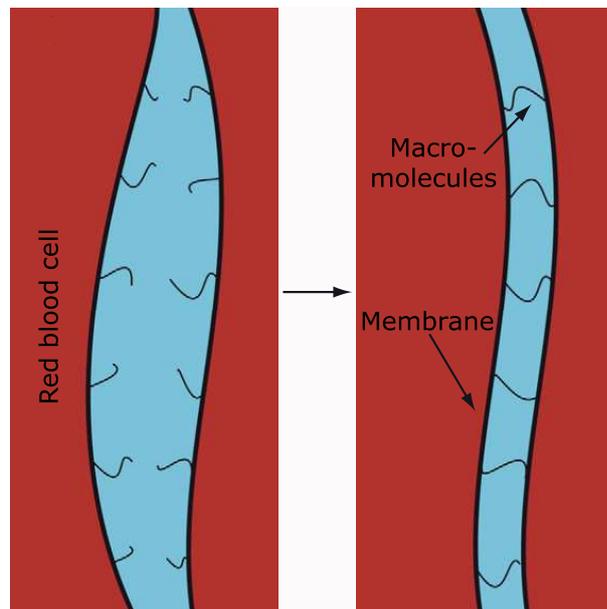


Figura 3.2 – rappresentazione del bridging model

Nel modello ad esaurimento, si ipotizza che la ridotta concentrazione di macromolecole in prossimità dei globuli rossi riduca le forze osmotiche in prossimità delle cellule, provocando così l'allontanamento del fluido di sospensione e aumentando la tendenza dei globuli rossi, tra loro adiacenti, ad unirsi.

Entrambe le teorie riportate concordano nell'assumere che la forza di adesione totale tra cellule sarebbe massima quando esse sono orientate lungo le facce.

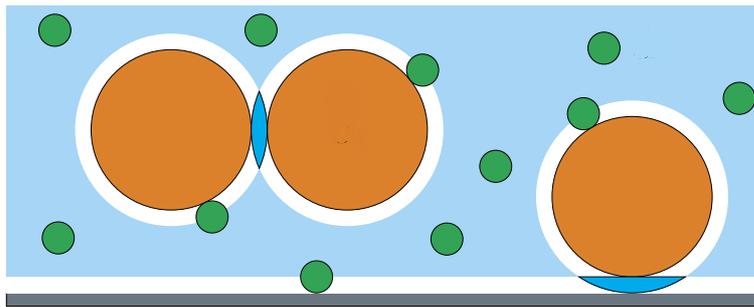


Figura 3.3 – rappresentazione del depletion model

La sollecitazione di taglio richiesta per separare due cellule nella formazione di un rouleaux è stata determinata da Chien et al. come inferiore a 1 dyn/cm^2 (ricordiamo che $1 \text{ dyn} = 10^{-5} \text{ N}$). L'esatta configurazione di un rouleaux dipende dalle condizioni locali, come la velocità di deformazione e la concentrazione dei globuli rossi (l'ematocrito). Perciò è possibile osservare una varietà di forme complesse, che vanno da singoli rouleaux a reti ramificate.

3.1.2. CONDIZIONI DI FLUSSO

In condizioni di basso flusso, i normali globuli rossi (non soggetti a condizioni patologiche) tendono a formare aggregati all'interno del plasma, i rouleaux appunto, i quali subiscono un'ulteriore aggregazione nella formazione di strutture assimilabili a delle reti. Tali strutture presentano proprietà elastiche ed è necessaria una sollecitazione di taglio finita affinché si rompano.

Sembra che basse tensioni tangenziali promuovano maggiormente l'aggregazione dei globuli rossi rispetto alle condizioni statiche (appena citate), in quanto probabilmente promuovono il contatto intracellulare dei globuli. Per basse velocità di deformazione (shear rate inferiori a 10 s^{-1}), gli aggregati spezzano le linee di flusso aumentando notevolmente la viscosità ematica. Per fornire un esempio: la viscosità ematica per una velocità di deformazione di 1 s^{-1} a 37 °C è di circa $18 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, ossia cinque volte superiore alla viscosità ematica per shear rate più elevati (con una media di $3,4 \text{ mPa}\cdot\text{s}$).

Con l'aumento della velocità di deformazione, i rouleaux vengono progressivamente deformati e dispersi, essendoli totalmente per una velocità di deformazione di 50 s^{-1} e sforzo tangenziale di $0,2 \text{ Pa}$. Ulteriori riduzioni nella viscosità ematica a shear rate più elevati sono da ricondurre ad un aumento della deformazione dei globuli rossi.

3.1.3. EMATOCRITO

Un aumento dell'ematocrito provoca un notevole incremento nell'aggregazione dei globuli rossi e nella velocità con cui si formano. Di conseguenza aumenta anche la viscosità del sangue a basso taglio e la tensione di snervamento. È doveroso sottolineare che per valori di ematocrito troppo alti (attribuibili ad uno stato patologico) la stretta vicinanza tra i globuli rossi può portare all'effetto opposto, ossia una riduzione nell'aggregazione, probabilmente a causa delle forze elettrostatiche in gioco. Quindi, concludendo, l'aggregazione dei globuli rossi esercita il suo massimo effetto sulla viscosità del sangue per valori di ematocrito normali o leggermente superiori. L'effetto dell'ematocrito sulla viscosità del sangue aumenta notevolmente con la riduzione della velocità di deformazione a causa del suo effetto crescente sull'aggregazione dei globuli rossi.

3.1.4. FLUSSO SANGUIGNO IN VIVO

Le zone della circolazione in cui le forze di taglio risultano essere tali da permettere l'aggregazione dei globuli rossi sono: le regioni assiali dei grandi vasi, la microcircolazione in condizioni di basso flusso e le zone in cui si verificano separazioni di flusso (biforcazioni, stenosi e tasche valvolari).

Si registrano basse velocità di deformazione lungo l'asse dei vasi di grandi dimensioni, in cui un aumento dell'aggregazione dei globuli rossi provoca un'attenuazione del profilo di velocità del flusso, influenzando significativamente le portate.

Nella normale microcircolazione, l'aggregazione dei globuli rossi migliora la loro migrazione assiale e può quindi aumentare la portata nei microvasi. Diversi fattori della microcircolazione legati a condizioni patologiche, per bassi flussi, favoriscono l'aggregazione dei globuli rossi, tra i quali: la vasodilatazione ipossica e diminuzione della pressione (riducono lo shear rate e la velocità assiale), l'aumento della permeabilità vascolare e l'aumento della viscosità nelle venule (aumentano la pressione capillare). Possiamo quindi immaginare un ciclo di feedback positivo di aumento della viscosità del sangue e diminuzione del flusso sanguigno, favorito dall'aumento dei livelli di ematocrito e fibrinogeno, che portano a un aumento nell'aggregazione dei globuli rossi.

In un normale flusso sanguigno gli eritrociti attraversano facilmente le arterie e i capillari più stretti senza modificare la loro forma discoidale. Nelle venule, sebbene gli eritrociti mantengano solitamente la loro forma discoidale, essi tendono ad aggregarsi formando rouleaux temporanei.

Perché i rouleaux alterino il flusso, il sangue deve essere soggetto a velocità di deformazione inferiori a 1 s^{-1} per un lasso di tempo sufficiente affinché tali strutture si formino e alterino il normale flusso. Schmid-Schönbein et al. hanno osservato che un intervallo di 0,5-1,5 s permette la formazione degli aggregati. Nei loro esperimenti, i campioni di sangue sono stati esposti a bruschi cali di velocità di deformazione. Essendo il tempo necessario al sangue a completare la circolazione sanguigna nell'ordine dei minuti, gli aggregati dei globuli rossi si scomporranno maggiormente nel sistema arterioso ed esisteranno stabilmente solo in zone con ricircolo stabile e con sforzi di taglio molto inferiori a 1 s^{-1} . Per tali ragioni, il comportamento non-newtoniano del sangue risulta più significativo nelle zone a valle di alcune stenosi e nelle sacche di aneurismi.

Per concludere, i globuli rossi possono passare all'interno di capillari caratterizzati da un diametro inferiore rispetto alle loro dimensioni, ma se si verifica coagulazione il flusso potrebbe interrompersi completamente, portando così la formazione di un trombo e un successivo possibile ictus.

3.1.5. MODELLO MATEMATICO

Sappiamo che la formazione dei rouleaux dipende dalla posizione iniziale delle cellule, dalla forza adesiva, dalle forze elastiche e da quelle idrodinamiche. Partendo dalla teoria di adesione di due corpi elastici, Skalak et al. (1981) hanno fornito un'equazione dinamica generale che descrive la formazione dei rouleaux basata sulla conservazione dell'energia:

$$\frac{dU}{dt} = \frac{dW}{dt} + \frac{dT}{dt} + \frac{dD}{dt} - \phi \frac{dA_c}{dt}$$

Equazione 3.1 – equazione fornita da Skalak et al. (1981)

dove $\frac{dU}{dt}$ rappresenta il lavoro svolto dalle forze esterne, $\frac{dW}{dt}$ è l'energia elastica, $\frac{dT}{dt}$ è la variazione dell'energia cinetica, $\frac{dD}{dt}$ rappresenta la dissipazione di energia a causa delle viscosità del fluido e infine $-\phi \frac{dA_c}{dt}$ rappresenta la forza fornita per separare le superfici a contatto. L'energia di interazione ϕ viene definita come:

$$\phi = \int_{y_0}^{\infty} \sigma_n dy$$

Equazione 3.2 – definizione di energia di interazione

dove σ_n è la forza netta tra due superfici di membrana opposte, mentre y_0 è definita come la distanza di equilibrio.

Successivamente Neu e Meiselman (2002) hanno proposto un nuovo modello teorico per l'aggregazione dei globuli rossi. In tale modello, l'energia di interazione totale ϕ per unità di superficie della cellula è data dalla somma dell'energia di interazione di esaurimento w_D e dall'energia di interazione elettrostatica w_E :

$$\phi = w_D + w_E$$

Equazione 3.3 – formulazione di Neu e Meiselman (2002)

w_D dipende dalla pressione osmotica e dallo spessore dello strato di svuotamento, mentre w_E si ottiene dall'integrazione dell'energia elettrostatica libera di due cellule (la quale dipende ovviamente dal potenziale elettrostatico tra esse).

3.2. DEFORMABILITÀ DEI GLOBULI ROSSI

I globuli rossi sono le cellule più “flessibili” e deformabili del nostro organismo. Possono cambiare la loro forma, sotto l'influenza di forze esterne, molto più facilmente rispetto ad altre cellule dell'essere umano. Tali deformazioni permettono il loro orientamento lungo le linee di flusso nei vasi sanguigni, con conseguente diminuzione della viscosità del sangue. Questi cambiamenti nella forma e nell'orientamento vengono facilitati se in presenza di alte velocità di deformazione. La forma biconcava-discoidale e la mancanza di un nucleo e organelli sono gli elementi chiave dei globuli rossi che, insieme allo scheletro della membrana, rappresentano i principali determinanti della loro deformabilità.

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 3.1 – composizione dei globuli rossi

La deformabilità dei globuli rossi risulta fondamentale per il trasporto di ossigeno ai diversi tessuti. Un eritrocita, in sospensione in una soluzione isotonica, consiste in una sottile membrana flessibile, contenente un liquido newtoniano saturo di emoglobina, il quale non offre una resistenza elastica alla deformazione, favorendo così la flessibilità del globulo. La membrana, inoltre, mostra una resistenza alla flessione minore rispetto a quella osservabile in trazione.

La deformazione dei globuli rossi all'interno del flusso sanguigno riduce al minimo la viscosità del sangue nei vasi di grandi dimensioni. La deformazione è influenzata da diversi fattori: le condizioni di taglio, l'ematocrito e la viscosità del mezzo di sospensione. È fondamentale evidenziare che anche il diametro dei vasi sanguigni influenza la deformabilità degli eritrociti nel caso di piccoli canali. Inoltre, anche fattori intrinseci ai globuli rossi ne influenzano la deformazione, tra i quali: la geometria cellulare (forma e rapporto superficie-volume), la flessibilità della membrana e la viscosità interna al globulo rosso.

Nei microvasi i globuli rossi cambiano la loro forma biconcava assumendo una forma tozza anteriormente e maggiormente spigolosa posteriormente. Tale configurazione suggerisce uno spostamento del liquido contenuto al loro interno. In movimento i globuli rossi si deformano e ruotano. La rapidità con cui tali cambiamenti avvengono dipende dalla velocità tangenziale del fluido. Per velocità tangenziali inferiori a 20 s^{-1} i globuli si flettono mentre ruotano; invece, al crescere della velocità di deformazione, i globuli rossi cessano di ruotare e traslano solamente, provocando una progressiva riduzione della viscosità.



Figura 3.4 – deformazione dei globuli rossi in microvasi

3.2.1. FATTORI

Una variazione nella normale forma degli eritrociti, e quindi nel rapporto tra superficie e volume, è legata ad una mancanza di emoglobina al loro interno. Al contrario, un aumento dell'emoglobina comporta una riduzione nella filtrabilità dei globuli rossi, riducendo in quelli più vecchi e densi la deformabilità della membrana.

La forma discoidale biconcava conferisce ai globuli rossi uno specifico rapporto area-volume (S/V), che facilita le trasformazioni elastiche reversibili permettendo grandi cambiamenti. Tipicamente il rapporto S/V è pari a 1,5 ma può variare in funzione della pressione osmotica. Qualsiasi diminuzione del rapporto S/V contribuisce a ridurre la deformabilità dei globuli rossi.

La membrana dei globuli rossi determina fortemente le proprietà chimico fisiche degli eritrociti. Alcuni studi hanno dimostrato che lo stroma costituisce circa il 10% del volume della cellula. La sua composizione chimica è determinata per circa il 90% da proteine e per il restante 10% da lipidi. Le proteine comprendono l'emoglobina e diverse frazioni proteiche, che dipendono sia per numero che per attività dal metodo analitico utilizzato per ottenerle.

L'immagine classica della membrana cellulare è quella di un doppio strato di fosfolipidi ricoperto da proteine. Alcuni lavori al microscopio elettronico hanno mostrato che la superficie esterna dei globuli rossi è ricoperta da placche di natura protesica, legate tra loro da lipidi. La membrana dei globuli rossi sembra avere una certa forza elastica, in quanto sono stati registrati cambiamenti reversibili nella loro forma a seguito di variazioni nel pH, nella pressione osmotica, nella temperatura e nella pressione.

L'aumento della concentrazione intracellulare di Ca^{2+} provoca una diminuzione della deformabilità dei globuli rossi, a causa di cambiamenti nella forma e nel volume cellulare, aumentandone la rigidità. Si è osservato che i globuli rossi invecchiati possiedono una concentrazione degli ioni Ca^{2+} quattro volte superiore a quella dei globuli più giovani. Possiamo quindi dedurre che gli eritrociti più anziani presentano una maggior rigidità di membrana.

Alterazioni nella viscosità del sangue, in conseguenza di una riduzione della deformabilità degli eritrociti, influiscono sul flusso sanguigno attraverso la macro e microcircolazione. Questi cambiamenti nella viscosità ematica tendono a ridurre l'ossigenazione e la nutrizione dei tessuti. Possiamo quindi affermare che la deformabilità degli eritrociti gioca un ruolo piuttosto importante nella determinazione del comportamento reologico del sangue, influenzando il flusso sanguigno, attraverso i microvasi, e la viscosità del sangue.

3.2.2. *PROCESSI PATOLOGICI*

Significative alterazioni nella deformabilità dei globuli rossi sono spesso accompagnate da cambiamenti fisiopatologici nelle loro membrane.

Un primo gruppo di fattori che influenzano la deformabilità di membrana è costituito dalle malattie genetiche che causano una malformazione dei globuli rossi e dell'emoglobina, la più famosa delle quali è l'anemia falciforme.

Un secondo gruppo è correlato alle funzioni delle proteine di membrana, compreso lo scheletro e i suoi regolatori (pompe ioniche e canali). Esistono numerose malattie che alterano la struttura e le proprietà di membrana degli eritrociti e, di conseguenza, le loro proprietà meccaniche.

La deformabilità dei globuli rossi è influenzata anche da diversi processi patologici, tra cui infezioni, disturbi circolatori, malattie metaboliche e disturbi polmonari. Tali alterazioni possono causare diversi cambiamenti nei globuli rossi, tra i quali: alterazioni nella concentrazione di emoglobina citoplasmatica, cambiamenti nella forma biconcavo-discoide per adottare una morfologia maggiormente sferica, aumenti nella reticolazione delle proteine scheletriche, cambiamenti nella composizione lipidica della membrana, interferenze con i meccanismi che regolano le relazioni proteina-proteina e le proprietà meccaniche della membrana.

Recenti studi suggeriscono che la deformabilità dei globuli rossi può essere attivamente regolata attraverso la fosforilazione/defosforilazione di varie proteine che contribuiscono alla rete scheletrica della membrana e alla sua interazione con altre membrane adiacenti.

3.2.3. *MECCANICA DELLA MEMBRANA*

Consideriamo la membrana di un globulo rosso sano in uno specifico stato, in cui ciascun suo punto viene descritto dalle coordinate curvilinee (ξ, η) e dal vettore normale n alla membrana nel punto stesso. Consideriamo che la membrana si deformi assumendo una nuova forma, allora i punti della membrana saranno denotati da una nuova coppia di coordinate e da un nuovo vettore normale n .

Le tensioni nel piano sono descritte nei termini del tensore cartesiano τ , definito in modo tale che tale tensione esercitata su una sezione trasversale della membrana, normale al vettore unitario tangenziale b , sia dato da $b \cdot \tau$. Inoltre, per garantire che la tensione si trovi nel piano tangenziale, richiediamo che $n \cdot \tau = 0$. La tensione di taglio trasversale è descritta in termini del vettore cartesiano q , definito in modo tale che risulti esercitata su una sezione trasversale della membrana, normale al vettore dell'unità tangenziale b , sia data da $b \cdot q$. Quindi imponiamo la condizione $n \cdot q = 0$. I momenti flettenti sono espressi in termini del tensore cartesiano m , definito in modo che il vettore di momento flettente esercitato su una sezione trasversale della

membrana, normale al vettore di unità tangenziale b , sia data da $n \times (b \cdot m)$. Infine, per garantire che il vettore momento si trovi nel piano tangenziale, poniamo che $n \cdot m = 0$. Eseguendo il bilanciamento delle forze su un'interfaccia, troviamo che il carico di una membrana, indicato con L , è dato da:

$$L = (P \cdot \nabla) \cdot (\tau + qn)$$

Equazione 3.4 – carico di una membrana

in cui P è l'operatore di proiezione trasversale. Eseguendo un procedimento analogo, deriviamo un'espressione per la tensione di taglio trasversale:

$$q = [(P \cdot \nabla) \cdot m] \cdot P$$

Equazione 3.5 – tensione di taglio trasversale

e un'altra espressione per la componente antisimmetrica del tensore di tensione nel piano:

$$\tau - \tau^T = B \cdot m - m^T \cdot B$$

Equazione 3.6

dove T rappresenta l'operazione di trasposizione, e B è il tensore di curvatura cartesiano.

3.3. VISCOSITÀ

Il sangue intero è un liquido non-newtoniano la cui viscosità aumenta per bassi valori di velocità di deformazione, principalmente a causa dell'aggregazione dei globuli rossi. La viscosità ematica varia lungo il diametro dei vasi sanguigni, assumendo massimo valore lungo l'asse. La resistenza complessiva al flusso del sangue è definita viscosità apparente.

3.3.1. VISCOSITÀ PLASMATICA

Essendo il plasma la componente principale del sangue, la sua viscosità risulta influenzare in modo determinante il flusso ematico in tutti i vasi.

La viscosità del plasma è fortemente influenzata dalla temperatura e dalla sua composizione proteica. A 37 °C la viscosità plasmatica per un soggetto sano è dell'ordine dei 1,25 mPa·s, un valore 1,8 volte superiore alla viscosità dell'acqua (0,69 mPa·s a 37 °C), la componente

principale del plasma. Questo scostamento viene attribuito alla presenza delle proteine plasmatiche, le quali incrementano la viscosità plasmatica all'aumentare della loro concentrazione e della viscosità intrinseca, che aumenta proporzionalmente con la dimensione e l'asimmetria delle molecole. Questi fattori rappresentano il modo con cui una proteina plasmatica disturba le linee di flusso del sangue.

In un soggetto sano, l'albumina contribuisce solo al 36% nell'incremento della viscosità plasmatica, nonostante costituisca il 60% del peso totale delle proteine plasmatiche. Tali informazioni evidenziano un basso peso molecolare e una relativa simmetria della molecola.

Il fibrinogeno contribuisce al 22% della viscosità plasmatica, nonostante rappresenti solo il 4% del peso totale delle proteine plasmatiche. Tale effetto è dovuto al suo elevato peso molecolare e alla sua spiccata asimmetria.

La viscosità plasmatica può assumere valori diversi in base al sesso, all'età e allo stato di salute del soggetto in esame.

	25°C	37°C
<i>Plasma viscosity</i>		
Speedwell (226 men, 45–64) (Baker et al, 1982)	1.65 ± 0.09 (1.47–1.82)	1.28 ± 0.07 (1.14–1.42)
Caerphilly (560 men, 45–69) (Yarnell et al, 1985)	1.71 ± 0.10 (1.51–1.91)	1.33 ± 0.08 (1.17–1.49)
Edinburgh (380 men, 35–54)	1.73 ± 0.11 (1.51–1.95)	1.34 ± 0.09 (1.16–1.52)
Glasgow (670 men, 25–64)	1.71 ± 0.13 (1.45–1.97)	1.33 ± 0.10 (1.13–1.53)
Glasgow (593 women, 25–64)	1.70 ± 0.12 (1.46–1.94)	1.32 ± 0.09 (1.14–1.50)
<i>Serum viscosity</i>		
Edinburgh (394 men, 35–54)	1.57 ± 0.09 (1.39–1.75)	1.22 ± 0.07 (1.08–1.36)
	Microhaematocrit	Viscosity (mPa · s, 37°C)
<i>Whole-blood viscosity</i>		
Glasgow (670 men, 25–64)	0.456 ± 0.038 (0.380–0.532)	3.52 ± 0.49 (2.54–4.50)
Glasgow (593 women, 25–64)	0.422 ± 0.036 (0.350–0.494)	3.18 ± 0.48 (2.22–4.14)

Tabella 3.2 – campione di popolazione adulta, deviazioni standard e intervalli di +/- 2 SD per plasma, siero, e viscosità del sangue intero ad alto taglio (mPa); “Blood rheology in vitro and in vivo”, G.D.O. Lowe (1987)

È possibile osservare come le donne presentano una riduzione, seppur minima, nei valori della viscosità, sia plasmatica che del sangue intero. Va sottolineata l'esistenza di numerosi studi che testimoniano una generale riduzione della viscosità plasmatica nelle donne, soprattutto in

presenza di mestruazioni e in gravidanza, a causa di più bassi valori di ematocrito (informazioni più approfondite sono lasciate per altra sede). Inoltre, i bambini presentano valori di viscosità plasmatica ridotti rispetto agli adulti, a causa di bassi valori di fibrinogeno e di immunoglobuline. Di fatto, si registra un leggero incremento nella viscosità plasmatica nei soggetti più anziani, a causa di un incremento nella concentrazione di fibrinogeno nel sangue.

	Age 18–54		Age 55–75	
	Women (25)	Men (34)	Women (23)	Men (28)
Blood viscosity				
208 s ⁻¹ (cp)	4.19 ± 0.56	*	4.58 ± 0.45	‡
104 s ⁻¹ (cp)	4.44 ± 0.58	*	4.80 ± 0.47	‡
52 s ⁻¹ (cp)	4.99 ± 0.62	*	5.36 ± 0.56	‡
Hematocrit (%)	41.8 ± 3.40	*	44.8 ± 3.02	‡
Plasma viscosity (cp)	1.40 ± 0.12		1.38 ± 0.08	

Tabella 3.3 – differenza di genere correlata all'età nella viscosità del sangue intero, nell'ematocrito e nella viscosità del plasma; de Simone et al. (1991)

3.3.2. VISCOSITÀ EMATICA

La determinazione della viscosità ematica è molto complessa, in quanto non esistono attualmente dei modelli in grado di predire la viscosità di una sospensione di sfere deformabili, come i globuli rossi, a causa delle complesse interazioni tra di esse.

Essendo il sangue una sospensione non-newtoniana, non può essere descritto da un singolo valore di viscosità. Esso, in condizioni non patologiche, mostra un comportamento di assottigliamento al taglio. A basse velocità di deformazione la viscosità apparente diminuisce all'aumentare del taglio, raggiungendo un valore minimo per forze di taglio elevate. Per velocità di deformazione elevate (superiori a 100-200 s⁻¹) la viscosità del sangue normale a 37°C è di circa 3-4 cP, ed è praticamente insensibile ad ulteriori aumenti di taglio. Tuttavia, la viscosità è sempre più sensibile a velocità di deformazione inferiori a 100 s⁻¹, aumentando in modo esponenziale al diminuire della velocità di deformazione.

La viscosità del sangue è influenzata principalmente dalla viscosità plasmatica, dalla temperatura, dall'ematocrito e dalla deformabilità dei globuli rossi. L'aumento dei globuli rossi nel plasma, e quindi dell'ematocrito, disturba le linee di flusso, aumentandone progressivamente la viscosità.

Come accennato in precedenza, il sangue intero non è un fluido newtoniano, essendo caratterizzato da un aumento della viscosità a bassi valori di shear rate, ma per elevate velocità di deformazione la viscosità del sangue si stabilizza a circa 3,4 mPa·s (con un range di 2,2 – 4,5

mPa·s) a 37 °C. Infatti, per elevate velocità di deformazione, i globuli rossi vengono deformati e i loro aggregati dispersi. Tali caratteristiche permettono di considerare il sangue un liquido approssimativamente newtoniano nel caso di flussi all'interno di grandi vasi.

Essendo il sangue intero una sospensione di cellule all'interno del plasma, la sua viscosità è strettamente correlata a quella plasmatica. Una misura della viscosità del plasma fornisce una stima della viscosità ematica, ovviamente in presenza degli elementi corpuscolati, i quali disturbano il flusso del plasma aumentandone la viscosità.

Una risposta univoca sulla dipendenza dalla temperatura della viscosità del sangue intero non è ancora stata trovata. In generale, un incremento della temperatura comporta un aumento della viscosità del sangue intero (viceversa se diminuisce) in quanto aumenta le interazioni tra i vari elementi corpuscolati. Si ipotizza che tale dipendenza coincida pressoché con quella della viscosità del plasma, nonostante ulteriori studi effettuati in viscosimetri capillari abbiano mostrato un grado di dipendenza dalla temperatura maggiore per la viscosità ematica rispetto a quella plasmatica.

Per quanto riguarda l'ematocrito, un suo aumento comporta inevitabilmente un incremento nella viscosità ematica, in quanto un maggior numero di elementi corpuscolati corrisponde ad un aumento della resistenza interna al sangue, venendo spezzato il normale flusso sanguigno. Una formulazione matematica, in grado di descrivere univocamente la relazione tra queste due grandezze, sembra non essere stata ancora trovata. In letteratura si trovano numerosissime equazioni che permettono di determinare la viscosità ematica in funzione dell'ematocrito, le quali risultano essere ottenute in condizioni diverse. È ormai noto che l'utilizzo di viscosimetri diversi, a temperature e shear rate diversi, e l'utilizzo di anticoagulanti differenti sui campioni di sangue, possono portare ad ottenere risultati non coincidenti. In questo caso, relazioni discordanti tra ematocrito e viscosità ematica.

Un confronto diretto tra le relazioni riportate da diversi studi risulta molto difficile, essendo la maggior parte degli articoli sprovvisti di una tabulazione delle costanti necessarie a determinare le equazioni. Di seguito, si riportano alcune delle relazioni trovate, tenendo conto della variabilità delle differenti condizioni di lavoro, così da poter fornire degli esempi diretti sull'argomento.

$$\log \eta = k + k'H$$

Equazione 3.7 – Matrai, Whittington, Ernst (1984)

Nel lavoro di Matrai, Whittington ed Ernst (1987), il sangue è stato centrifugato a 2500g per 15 minuti. La viscosità è stata misurata con un viscosimetro LS-30 a 37°C, a velocità di deformazione di 0,7 e 94,5 s⁻¹. Nell'equazione, H rappresenta l'ematocrito in sospensione, k e k' sono costanti che dipendono dal particolare campione di sangue. Infatti, esse sembrano variare in base alla viscosità plasmatica, l'aggregabilità e la deformabilità dei globuli rossi, e dal taglio imposto durante i test. Nell'articolo viene riportato che i campioni di sangue sono stati ottenuti da due gruppi di persone: un primo gruppo di pazienti sani, e da un secondo gruppo di pazienti con verificate malattie vascolari periferiche.

$$\eta = 1,4175 + 5,878H - 15,98H^2 + 31,964H^3$$

Equazione 3.8 – Cho e Kensey (1991)

Nell'articolo di Cho e Kensey (1990), l'*Equazione 3.8* viene ricavata da uno studio pubblicato precedentemente, e non da alcune rilevazioni effettuate dai due ricercatori. Non è stato possibile esaminare direttamente il testo da cui è stata tratta l'equazione, ma ho deciso di riportarla ugualmente essendo temporalmente una delle “più recenti” e una delle poche che non presenta costanti dipendenti dalle condizioni di lavoro.

$$\ln \eta = 0,031H + 0,35$$

Equazione 3.9 – Chandler e Schmer (1986)

Chandler e Schmer (1986) hanno utilizzato un Sonoclot Coagulation Analyzer per misurare la viscosità dinamica, immergendo una sonda a vibrazione assiale a profondità controllata nel campione di fluido. La sonda oscilla ad una frequenza di 250 Hz, con un'ampiezza inferiore ai 10 μm. È inoltre presente un blocco riscaldante integrato, per mantenere i campioni a 37°C, e un agitatore magnetico per miscelare il campione.

$$\eta = 1 + B \cdot [(1 - H)^C - 1]$$

Equazione 3.10 – Pries, Neuhaus, Gaehtgens (1992)

Lo studio di Pries, Neuhaus e Gaehtgens (1992) include dati ottenuti mediante viscosimetria a flusso tubolare in capillari di vetro con diametri tra 21 e 40 μm, ed ematocriti compresi tra 0,05 e 0,89. Il viscosimetro capillare era costituito da un piccolo serbatoio collegato al capillare verticale in vetro. L'altra estremità del tubo era collegata ad una sorgente di pressione negativa,

utile per misurare la viscosità. I campioni di sangue sono stati ottenuti mediante prelievo venoso da donatori sani per poi essere successivamente trattati con anticoagulante EDTA (2,5 mg/ml). Il parametro C descrive la curvatura della relazione. Per $C = 1$ la relazione corrisponde ad una dipendenza lineare, mentre per valori < 1 si indica una curvatura convessa verso l'ascissa. In generale, C è una grandezza derivata da una non semplice relazione in funzione del parametro D , il quale insieme a B risulta tabellato per diverse condizioni di lavoro.

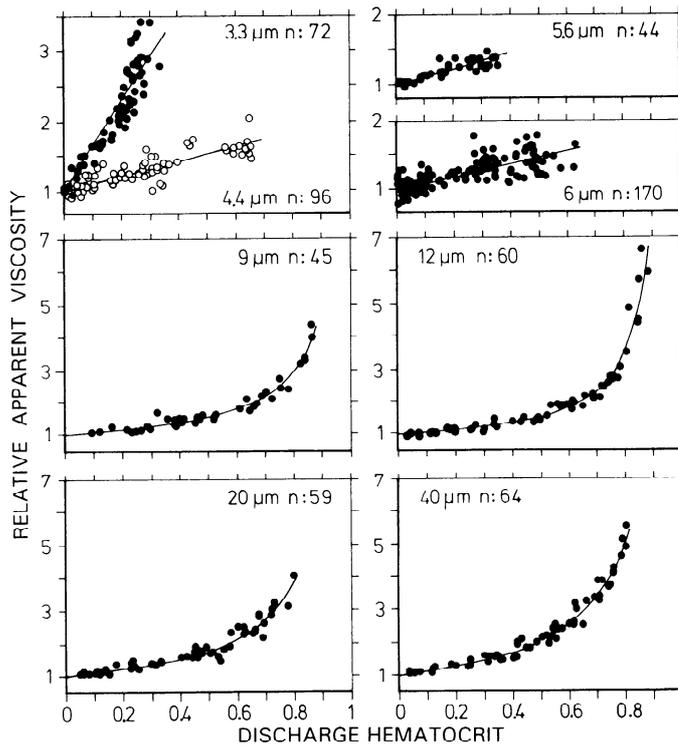


Figura 3.5 – viscosità-ematocrito, Pries, Neuhaus, Gaehtgens

A prescindere dall'ematocrito, per valori di velocità di deformazione superiori a 100 s^{-1} , la viscosità risulta pressoché indipendente dal gradiente di velocità (comportamento tipico di un fluido newtoniano). Tali ordini di grandezza per lo shear rate si manifestano normalmente nella macrocircolazione.

3.3.3. MODELLO DI CASSON

Il sangue presenta una relazione sforzo-velocità tangenziale simile a quella dei fluidi di Casson. Infatti, dopo il superamento di uno sforzo limite chiamato tensione critica τ_c , esso presenta una riduzione della viscosità all'aumentare del gradiente di velocità. Merrill ed al. hanno ottenuto dati a supporto dell'esistenza di uno stress di snervamento nel sangue, dati concordi con

l'equazione di Casson che confermano l'importanza della presenza del fibrinogeno per lo stress di snervamento. Infatti, lo stress di snervamento è il parametro che descrive le interazioni tra gli eritrociti e il fibrinogeno.

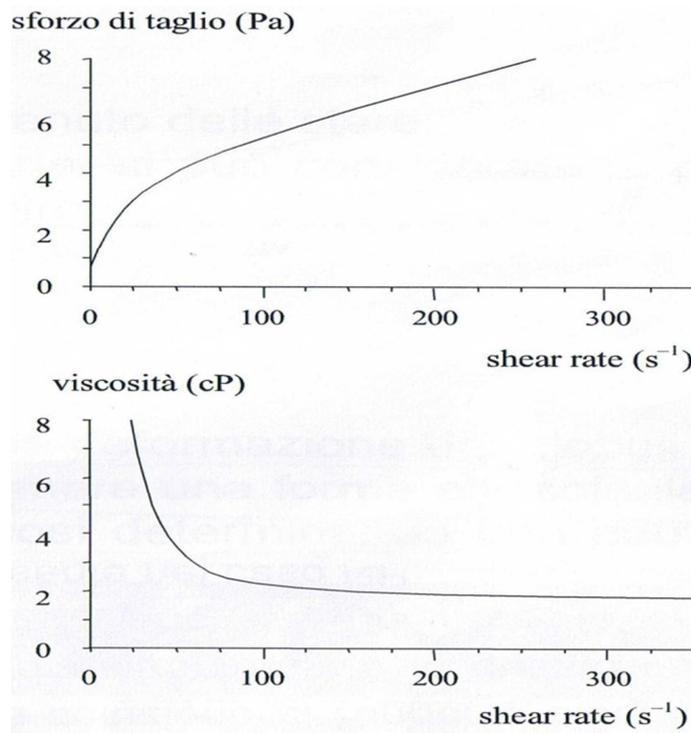


Figura 3.6 – relazioni μ - $\dot{\gamma}$ e τ - $\dot{\gamma}$

Il modello di Casson è descritto dalla seguente equazione empirica:

$$\tau^{\frac{1}{2}} = \tau_c^{\frac{1}{2}} + s\dot{\gamma}^{\frac{1}{2}}$$

Equazione 3.11 – equazione di Casson

Test sperimentali su campioni di sangue a differente ematocrito, mantenuti a 25°C, permettono di particularizzare l'equazione di Casson nella seguente forma: $\tau^{\frac{1}{2}} = \tau_c^{\frac{1}{2}} + \mu_s^{\frac{1}{2}} \dot{\gamma}^{\frac{1}{2}}$, con μ_s un parametro del fluido definito viscosità di Casson $\mu_s = \rho\nu$, con ρ densità e ν viscosità cinematica, mentre τ_c è lo sforzo di taglio limite. La viscosità di Casson dipende dalla viscosità ematica e dal volume frazionario, equivalente al valore dell'ematocrito, mentre lo sforzo di snervamento dipende dalla forma delle particelle aggreganti e dal volume frazionario.

L'equazione di Casson venne inizialmente proposta per i fluidi che si assottigliano al taglio. Il comportamento di assottigliamento è quando una sostanza presenta una viscosità decrescente in modo non lineare con la velocità di deformazione.

Il modello di Casson è valido per viscosità ematiche al di sopra di un alto valore di concentrazione di cellule e velocità di deformazione di $1-100\,000\text{ s}^{-1}$. Ricordiamo che per shear rate al di sopra di 100 s^{-1} il sangue si comporta come un fluido newtoniano.

A seguito di problemi sperimentali nella misurazione della viscosità del sangue, per basse velocità di deformazione risulta difficile ottenere il vero stress di snervamento del sangue.

Il principale vantaggio di questo modello è la possibilità di introdurre processi corrispondenti all'aggregazione e alla deformabilità dei globuli rossi.

3.4. EFFETTO DI FÅHRAEUS

Nel 1929 Fåhræus scoprì che quando il sangue, scorrendo, passa da un tubo di grande diametro ad uno di dimensioni molto ridotte (un tubo capillare), l'ematocrito medio nel tubo più piccolo risulta inferiore rispetto a quello precedente, di dimensioni maggiori. Tale effetto è rilevante solo nei vasi precapillari (diametro $< 300\mu\text{m}$), in quanto in essi l'ematocrito è determinato sia dalla resistenza allo scorrimento sia dalla capacità di trasporto dell'ossigeno.

Per comprendere al meglio il flusso sanguigno nei capillari è essenziale conoscere la concentrazione dei globuli rossi al loro interno. Tale informazione è essenziale perché il livello di ematocrito nel sangue influenza in modo non trascurabile le proprietà del flusso, in tutte le condizioni.

Nella sua prima pubblicazione del 1929, Fåhræus attribuisce l'omonimo effetto alla differenza di velocità di percorrenza tra i globuli rossi e il plasma, provocata da una distribuzione non uniforme delle cellule che scorrono attraverso il vaso. A causa dell'esclusione della parete (Vand 1948) e della migrazione assiale (Taylor 1955; Bayliss 1959; Goldsmith e Mason 1961; Bugliarello 1963) i globuli rossi occupano in modo preponderante le regioni centrali del profilo di velocità, dove le velocità di flusso risultano maggiori. Tuttavia, una parte importante di plasma è confinata nelle regioni marginali del flusso, caratterizzate da una ridotta velocità. La diversa velocità dei globuli rossi rispetto a quella del plasma fa sì che la concentrazione dei primi all'interno del tubo (ematocrito dinamico H_T) sia inferiore rispetto a quella rilevata in uscita dal tubo stesso (ematocrito di scarico H_D). Questa riduzione dell'ematocrito dipende da due parametri: la distribuzione radiale dei globuli rossi attraverso il tubo e la forma del profilo di velocità.

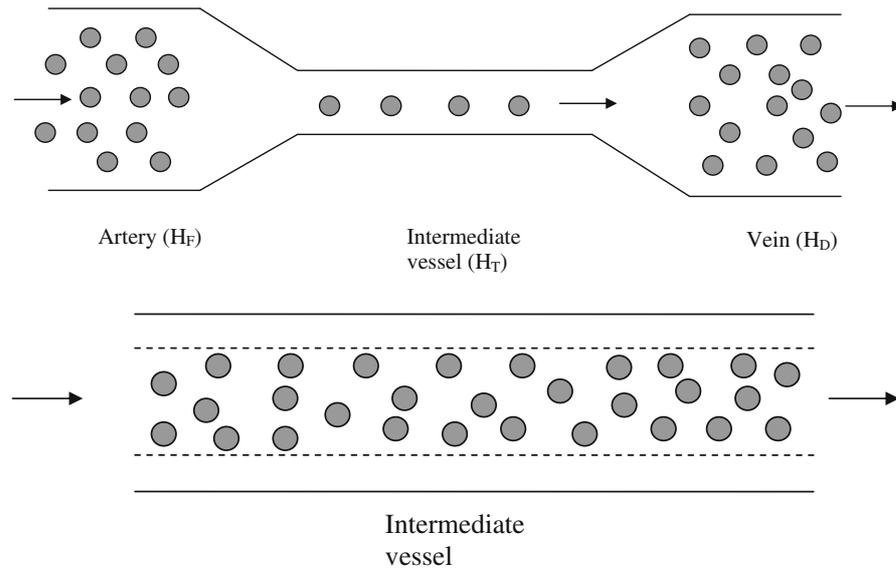


Figure 3.7 – rappresentazione dell’effetto di Fåhræus

Il termine “effetto di Fåhræus” viene spesso utilizzato per indicare una qualsiasi deviazione dall’unità del rapporto H_T/H_D , senza considerare le possibili differenze tra l’ematocrito di scarico e l’ematocrito in entrata nel tubo. Tale adozione è in linea con la descrizione data da Fåhræus nella sua pubblicazione del 1929, in cui escludeva qualsiasi “effetto filtrante” esercitato dai vasi. Quindi qualsiasi effetto che provoca una riduzione dell’ematocrito, anche impendendo alle cellule di entrare nel tubo, deve essere chiaramente distinto dalla riduzione dinamica dell’ematocrito all’interno del vaso capillare. Con tale assunzione, l’effetto di Fåhræus è solo uno dei diversi meccanismi con cui viene influenzato l’ematocrito capillare, ma è l’unico che si verifica all’interno dei vasi. Infatti, tutti gli altri fenomeni si verificano in corrispondenza, o in prossimità, dell’entrata del vaso e, principalmente, riducono l’ematocrito del sangue che scorre attraverso di esso. Tale distinzione è fondamentale in quanto fenomeni diversi presentano diverse sensibilità ai cambiamenti nei parametri di flusso. L’effetto di Fåhræus viene considerato praticamente indipendente dalle variazioni nella portata del vaso capillare.

Considerando un flusso costante di sangue attraverso un vaso, il prodotto tra l’ematocrito di scarico H_D e la velocità media del flusso sanguigno v_b è uguale al prodotto tra l’ematocrito dinamico H_T e la velocità media dei globuli rossi v_c :

$$H_D \cdot v_b = H_T \cdot v_c$$

Equazione 3.12

Pertanto, l'ematocrito di scarico H_D può essere calcolato se si conosce l'ematocrito dinamico H_T e vengono misurate le due velocità.

Il diametro del vaso capillare è uno dei parametri fondamentali nell'effetto di Fåhræus, in quanto tale effetto diminuisce al diminuire del diametro. Negli articoli analizzati, i risultati mostrano che in tubi di vetro il cui diametro è paragonabile a quello dei globuli rossi può essere osservata una riduzione dinamica dell'ematocrito. L'entità di questo effetto dipende principalmente dal diametro del capillare studiato in quanto una riduzione di quest'ultimo, porta ad un aumento dell'ematocrito del tubo (dinamico) rispetto all'ematocrito di scarico. Teoricamente, questo aumento dell'ematocrito dovrebbe cessare al raggiungimento del limite inferiore del diametro capillare che può essere attraversato da un globulo rosso (Chien, 1975). Per i globuli rossi di un essere umano tale diametro critico è approssimativamente posto a 2,6 μm . Altri studi hanno dimostrato che l'effetto di Fåhræus diminuisce con un aumento del diametro da 30 a 300 μm (è necessario mostrare come tali valori non siano paragonabili a quelli in vivo, in cui il rapporto tra i diametri delle cellule e del vaso si avvicina, o addirittura supera, l'unità). Inoltre, sembra che l'effetto possa essere influenzato da variazioni dell'ematocrito in tubi con diametro tra 11 e 21,5 μm . Queste variazioni possono essere spiegate da cambiamenti nelle condizioni di flusso dipendenti dall'ematocrito: per bassi valori di ematocrito si osservano flussi lineari, mentre per alti ematocriti flussi turbolenti.

Nei capillari con diametri inferiori a 7 μm , si è registrata una indipendenza dell'effetto di Fåhræus dall'ematocrito poiché un aumento di quest'ultimo, in tali vasi, comporta una sostituzione di un certo volume di plasma da parte dei globuli rossi. Quindi, la velocità di flusso media del plasma v_p sarà ridotta rispetto alla velocità media dei globuli rossi v_c . La conseguente alterazione del rapporto di velocità è tuttavia proporzionale alla variazione dell'ematocrito di scarico, di conseguenza non si osserva alcuna variazione nel rapporto degli ematocriti.

L'effetto di Fåhræus dipende dalla distribuzione radiale delle cellule all'interno del tubo capillare ad un dato profilo di velocità, sicché il rapporto ematocrito H_T/H_D è inversamente proporzionale allo spessore dello strato marginale privo di cellule del fluido di sospensione. Per calcolare la larghezza di questo strato, si è ritenuto che il flusso capillare fosse costituito da un "nucleo" centrale contenente i globuli rossi e alcuni fluidi circondanti il "nucleo" la cui velocità di flusso è uguale a quella delle cellule. Si è inoltre ipotizzata la presenza di una guaina marginale di plasma circondante il nucleo centrale, la cui velocità di flusso è in media la metà di quella del nucleo. Cambiamenti nella larghezza dello strato marginale dipendenti dall'ematocrito si trovano solo nei tubi capillari più grandi, mentre in quelli più piccoli sono stati rilevati valori costanti.

I limiti per i valori di H_T/H_D dipendono dalla situazione considerata. Nel caso di flusso in un singolo vaso, ci sono due fattori da tenere a mente: la velocità del fluido si riduce a zero in prossimità della parete del vaso, e la viscosità apparente della sospensione per un dato shear rate aumenta con la concentrazione cellulare. In un vaso cilindrico il minimo valore di v_b/v_c è 0,5 nel caso di un flusso a valori di ematocrito molto bassi. Ciascun movimento delle cellule dall'asse del vaso provoca un incremento del rapporto v_b/v_c , essendo il profilo di velocità in tali flussi parabolico, con valore massimo in corrispondenza dell'asse. Per ematocriti normali, il profilo di velocità risulta deviato dall'aspetto parabolico in quanto le particelle sono ammassate nella sospensione (condizione ulteriormente accentuata dalle proprietà non-newtoniane del flusso di sangue e da un incremento della concentrazione dei globuli rossi al centro del tubo). Quest'ultimo effetto è particolarmente rilevante per portate molto ridotte: quando l'aggregazione dei globuli rossi porta alla formazione di una rete centrale di rouleaux, circondato da uno strato plasmatico impoverito di cellule, il rapporto v_b/v_c varia tra 0,5 e 1. Se il flusso sanguigno è tale per cui le cellule sono perifericamente distribuite, nelle regioni a basso flusso risulta un alto valore di v_b/v_c , che può eventualmente superare anche l'unità. Tale situazione può sorgere anche a causa di forze idrodinamiche che provocano un allontanamento delle cellule dall'asse del tubo. Nei capillari, se le cellule riempiono effettivamente il lume del vaso, v_b/v_c è molto vicino all'unità. Quindi, per flussi all'interno di vasi cilindrici, v_b/v_c varia crescendo da un limite inferiore di 0,5.

Per vasi che non hanno una configurazione cilindrica non è necessario applicare questo limite a H_T/H_D . Se la parete del vaso è particolarmente "contorta" è possibile che le regioni di flusso all'interno delle pieghe della parete del vaso contengano solo plasma, che può viaggiare con una velocità media molto diversa da quella del sangue nella regione centrale del vaso. Se nel calcolo di H_T viene incluso tutto lo spazio volumetrico occupato dal fluido, è possibile che H_T/H_D sia minore o maggiore di 0,5.

Considerando invece il flusso sanguigno in una rete di vasi, non ci sono necessariamente relazioni apprezzabili tra la velocità e l'ematocrito del flusso sanguigno. Un vaso contenente alti valori di ematocrito può avere un'alta o bassa portata e lo stesso vale per un vaso con bassi valori di ematocrito. Di conseguenza, il rapporto H_T/H_D può assumere un qualsiasi valore positivo, anche minore di 0,5.

I dati oggi disponibili mostrano chiaramente una riduzione sostanziale di ematocrito nella microcircolazione, dati consistenti con il fatto che la massa totale dei globuli rossi e il volume plasmatico non sono distribuiti uniformemente, ma l'ematocrito medio del sangue all'interno di un tessuto è solitamente inferiore dell'ematocrito dei grandi vasi.

Oltre ad influenzare la resistenza al flusso, questi fenomeni possono portare ad un'alterazione dell'ematocrito medio nel sangue dei vasi ramificati. I rami laterali dei vasi sanguigni sono alimentati dal flusso marginale che ha un ematocrito ridotto, determinando così un ematocrito inferiore rispetto a quello dei vasi di grandi dimensioni. Pertanto, l'ematocrito tissutale è inferiore rispetto all'ematocrito misurato in una grande vena o arteria.

3.4.1. EFFETTO DI FÅHREUS-LINDQVIST

Il fenomeno in cui la viscosità del sangue diminuisce al decrescere del diametro del tubo, al di sotto dei 300 μm , viene chiamato effetto di Fåhræus-Lindqvist. Il loro lavoro è considerato un passo in avanti nel comprendere a pieno le caratteristiche del flusso di sangue all'interno del sistema circolatorio, in particolare per la microcircolazione. La distribuzione del flusso sanguigno attraverso numerosi microvasi paralleli è di vitale importanza per la funzione degli organi. Per una data architettura vascolare, la resistenza al flusso è determinata dal comportamento reologico del sangue che scorre attraverso i microvasi.

È consueto utilizzare l'equazione di Poiseuille-Hagen per descrivere la relazione tra le variabili che governano il flusso di sangue attraverso un vaso cilindrico:

$$Q = \frac{\pi R^4 \Delta P}{8 \eta_e L}$$

Equazione 3.13 – equazione di Poiseuille-Hagen

dove Q è la portata volumetrica della sospensione attraverso un tubo di raggio R in presenza di una differenza di pressione di ΔP in un vaso di lunghezza L .

A livello microcircolatorio, la natura particellare dei globuli rossi diventa fondamentale e le proprietà del sangue diventano non newtoniane. La viscosità nella legge di Poiseuille non è più costante e va considerata come una viscosità apparente o relativa.

Per fluidi continui newtoniani η_e (viscosità effettiva) e la viscosità apparente del fluido sarebbero uguali. Con viscosità apparente ci si riferisce al rapporto tra shear rate e shear stress per fluidi non-newtoniani. Tale rapporto varia attraverso il lume del vaso, con η_e che rappresenta una media dei rapporti. Spesso la viscosità effettiva è divisa per la viscosità del mezzo di sospensione così da ottenere la viscosità relativa. Poiché la viscosità del mezzo di sospensione (plasma o siero) non è in funzione della grandezza del vaso, o della portata, la viscosità relativa è proporzionale alla viscosità effettiva.

Il fatto che la viscosità relativa di una sospensione di globuli rossi diminuisca con il diametro del vaso potrebbe dipendere dalle proprietà reologiche, dovute ad una distribuzione non

uniforme di cellule attraverso il lume del vaso. Il profilo di velocità parabolica del flusso capillare porta i globuli rossi a ruotare, migrando così verso l'asse centrale del vaso e quindi sempre più lontano dalla parete. Si formerà di conseguenza una regione di solo plasma, senza globuli rossi. Al diminuire del diametro del tubo, l'area della sezione trasversale di questo strato di solo plasma è paragonabile a quella del "nucleo" centrale di globuli rossi. La viscosità della zona priva di cellule, essendo più bassa, porterà ad una riduzione della viscosità del sangue intero. Minore è il diametro del tubo, maggiore sarà il rapporto tra la regione di plasma priva di globuli rossi e l'intero vaso, e quindi minore risulta essere la viscosità totale.

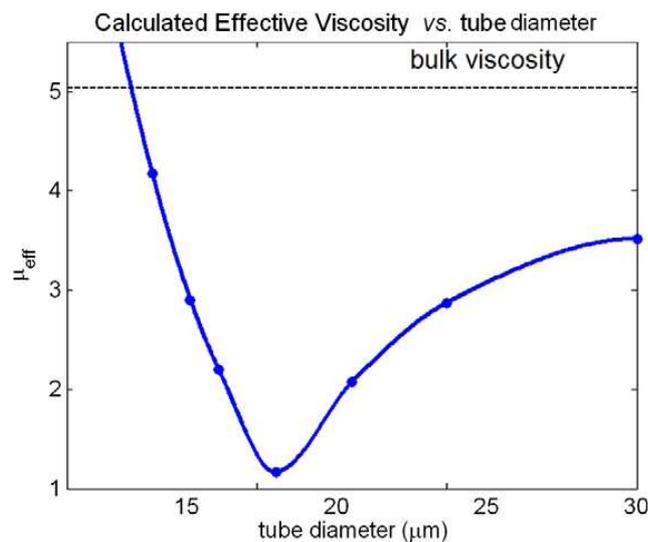


Figura 3.8 – variazione della viscosità effettiva con il diametro del tubo

Nei loro esperimenti Fåhræus e Lindqvist irroravano sangue umano attraverso tubi di vetro con diametri compresi tra 40 μm e 505 μm. In studi successivi sono state trovate viscosità minime nell'intervallo di diametro compreso tra 5 e 7 μm, corrispondenti alle dimensioni dei capillari. In questo intervallo, la viscosità apparente aumenta di circa il 30% se viene perfuso sangue con un ematocrito di 0,45 rispetto a una perfusione di plasma puro. Questo sorprendente comportamento del sangue è spiegato dall'allineamento dei globuli rossi nel tubo capillare, che lascia uno strato di plasma tra il globulo rosso e la parete dove le forze di taglio sono massime. Pertanto, in piccoli tubi (al di sotto di circa 10 μm) la viscosità apparente aumenta più o meno linearmente, e molto lievemente, con il diametro del vaso.

3.5. INVECCHIAMENTO

L'invecchiamento umano è un fenomeno molto complicato. Sono documentati cambiamenti negli eritrociti, nelle proteine plasmatiche, nella viscosità del sangue e nel flusso sanguigno che si verificano durante l'invecchiamento. È stato riscontrato che le proprietà reologiche dei globuli rossi cambiano nel corso della vita dell'essere umano. Tali cambiamenti, insieme ad un aumento del fibrinogeno nel plasma, influenzano l'apporto di ossigeno ai tessuti.

Sulla base di diversi studi, si ritiene che l'aumento dell'incidenza di malattie cardiovascolari e cerebrovascolari, in età avanzata, possa essere in parte dovuta ad uno stato di iperviscosità che influenza l'emodinamica e compromette l'apporto di ossigeno.

Nel meccanismo di coagulazione del sangue ci sono ben tredici fattori coinvolti, tra i quali il fibrinogeno è il fattore I ed è coinvolto nelle fasi finali (in cui viene convertito in fibrina). Il fibrinogeno, aumentando la propria concentrazione durante l'invecchiamento umano, potrebbe essere uno dei fattori che porterebbe ad una ipercoagulabilità tra gli anziani. La variazione di fibrinogeno determina infatti una precoce attivazione del sistema di coagulazione nelle persone in età più avanzata, rendendoli maggiormente soggetti a problemi circolatori. Va inoltre evidenziato come, con l'aumentare del fibrinogeno con l'invecchiamento, si sia registrata una diminuzione dell'albumina plasmatica.

Si suppone che l'aggregazione dei globuli rossi sia il principale responsabile dell'aumento della viscosità ematica per basse velocità di deformazione. Come già trattato, macromolecole come il fibrinogeno sono in parte responsabili della formazione degli aggregati di globuli rossi, i rouleaux. Quindi, con l'aumentare della concentrazione di fibrinogeno plasmatico aumenta anche l'aggregazione di globuli rossi. Inoltre, anche il tasso di formazione di aggregati di globuli rossi aumenta significativamente con l'aumento della concentrazione di fibrinogeno. Tuttavia, è stata segnalata anche una relazione inversa tra viscosità plasmatica e aggregazione di globuli rossi. Questa inattesa scoperta riflette probabilmente il contributo dei fattori cellulari sull'aggregazione dei globuli rossi oltre alla concentrazione plasmatica di fibrinogeno. L'invecchiamento è associato a diversi fattori che riducono le forze repulsive tra i globuli rossi e quindi ne promuovono l'aggregazione. Questi risultati suggeriscono che l'aumento dell'aggregazione dei globuli rossi correlata all'età è il risultato di fattori cellulari alterati, la cui conseguenza è un aumento della bassa viscosità del sangue.



Figura 3.9 – aggregazione di globuli rossi (rouleaux)

La deformabilità dei globuli rossi è la loro capacità di deformarsi sotto le forze di flusso. Franzini et al. (1988) hanno osservato una diminuzione della deformabilità eritrocitaria in funzione dell'età, probabilmente causata da un aumento del colesterolo di membrana. Molti studi riportano infatti una stretta relazione tra la deformabilità di membrana e il suo contenuto lipidico (colesterolo, acidi grassi, fosfolipidi). Tozzi-Ciancarelli et al. hanno anche riscontrato una ridotta deformabilità e filtrabilità dei globuli rossi nei soggetti anziani. Una ridotta deformabilità degli eritrociti è quindi un sintomo dei globuli rossi invecchiati e questo può contribuire alla loro eliminazione dalla circolazione.

Non è chiaro se l'invecchiamento alteri significativamente l'ematocrito. I risultati di alcuni studi suggeriscono che l'invecchiamento ha su di esso un effetto molto limitato e potrebbe non essere responsabile di un'alterazione dell'emoreologia. Tali valutazioni ci portano indubbiamente a chiederci: se l'ematocrito, uno dei determinanti principali della viscosità del sangue, non aumenta durante l'invecchiamento umano, quali altri fattori possono spiegare un incremento della viscosità del sangue correlato all'età a quello indotto dall'elevata viscosità plasmatica? È possibile che l'invecchiamento umano possa ridurre la durata della vita dei globuli rossi. L'invecchiamento altera la loro distribuzione, per cui le persone più anziane presentano una frazione maggiore di globuli rossi a bassa densità. Le conseguenze funzionali di questa diversa distribuzione di densità cellulare sembrano essere varie e avere un effetto diretto sulle proprietà emoreologiche. Sembra che l'invecchiamento umano acceleri il tasso di perdita di acido sialico dalle membrane dei globuli rossi, contribuendo forse alla riduzione della durata della vita dei globuli rossi nei soggetti anziani attraverso una maggiore distruzione da parte dei macrofagi.

3.6. TEMPERATURA

Si è osservato che nell'intervallo di temperatura $10^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$ i cambiamenti nelle proprietà reologiche del sangue di individui sani risultano reversibili. Per shear rate superiori ai 20 s^{-1} , la dipendenza del sangue dalla temperatura risulta essere analoga a quella dell'acqua. Mentre per velocità di deformazione inferiori, la temperatura risulta diminuire insieme allo shear rate del sangue. Tale comportamento è una conseguenza della parziale indipendenza dalla temperatura della tensione di snervamento del sangue (la tensione in corrispondenza della quale il sangue passa da un comportamento elastico ad uno plastico); mentre il plasma, che è un fluido newtoniano, presenta la stessa dipendenza dalla temperatura dell'acqua, la sua principale componente.

Viceversa, quando il sangue viene mantenuto a temperature superiori ai 37°C , si registrano dei cambiamenti irreversibili. Si ipotizza che tale irreversibilità sia determinata da un'instabilità del fibrinogeno proteico.

La tensione di snervamento del sangue risulta essere indipendente dalla temperatura per campioni di sangue con ematocrito inferiore al 40%. Per valori di ematocrito superiori, si registra una lieve dipendenza tra lo stress di snervamento e la temperatura. Tale apparente indipendenza dalla temperatura della tensione di snervamento, per ematocriti inferiori al 40%, è un'indicazione di come l'energia che lega gli aggregati di globuli rossi, nella formazione dei rouleaux, sia maggiore dell'energia termica dei costituenti del sangue. Una variazione di tale comportamento per valori di ematocrito superiori al 40% è riconducibile ad un cambiamento nell'aggregazione dei globuli rossi. Quindi è naturale ipotizzare che alcune proprietà dei globuli rossi siano dipendenti dalla temperatura.

Dato che la viscosità dell'acqua, la principale componente del plasma sanguigno, diminuisce all'aumentare della temperatura, è lecito aspettarsi che la viscosità del sangue faccia altrettanto. Infatti, alcuni studi riportano che la viscosità del sangue ad una data velocità di deformazione si comporta analogamente all'acqua. La somiglianza tra la variazione della viscosità dell'acqua e del sangue, ad alte temperature, suggerisce una maggior dipendenza dalla componente acquosa del plasma sulle proprietà del sangue.

Come già affermato, nell'intervallo di temperatura $10^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$ le variazioni nella viscosità del sangue sono reversibili, ma si è potuto osservare che tale comportamento non viene rispettato per intervalli di temperatura superiori (nell'articolo esaminato viene riportato un valore soglia di 48°C). Le cause di questo cambiamento sono dupplici: la distruzione di alcuni globuli rossi

provoca la fuoriuscita dell'emoglobina, e la denaturazione delle proteine presenti nel plasma. In studi precedenti, a quello esaminato, si era potuto osservare la denaturazione di alcune proteine in campioni di siero del sangue riscaldato tra i 52°C e i 57°C, quindi per intervalli di temperatura nettamente superiori a quelli utilizzati nel primo studio. Bisogna però evidenziare che nel siero sanguigno non è presente il fibrinogeno proteico, maggiormente sensibile alla temperatura rispetto ad altre proteine plasmatiche. Nell'articolo viene riportato che, nell'effettuare queste misurazioni, i campioni di sangue sono stati mantenuti nelle diverse temperature per lassi di tempo variabile, non riscontrandone una dipendenza.

Se esiste una temperatura limite oltre la quale si verificano cambiamenti irreversibili nelle proprietà reologiche del sangue (di un soggetto sano), essa deve essere ricercata per intervalli al di sotto dei 40°C.

Una riduzione della temperatura dei globuli rossi da 37°C a 4°C provoca aumenti significativi sia nel modulo di taglio della membrana che nella sua viscosità. Tali variazioni provocano una diminuzione della deformabilità dei globuli rossi al diminuire della temperatura. È importante sottolineare come non si registra alcuna variazione nella deformabilità al di sopra dei 25°C. Invece, al di sotto di tale valore, la deformabilità diminuisce con la temperatura.

I precedenti risultati sono stati ottenuti tramite esperimenti su campioni di sangue in vitro. Inoltre, è necessario sottolineare come gli intervalli di temperatura indagati racchiudano al loro interno anche condizioni molto lontane dal normale intervallo di temperature fisiologico.

4. ASPETTI CLINICI

Esistono numerosi studi e ricerche che testimoniano il rapporto tra le alterazioni nelle proprietà emoreologiche e un'ampia gamma di condizioni fisiologiche e fisiopatologiche. Negli ultimi decenni, gli studi hanno portato ad una migliore comprensione della reologia del sangue. Si può ipotizzare che alterazioni dei suoi parametri reologici, comprese le proprietà meccaniche dei globuli rossi, debbano comportare una perfusione tissutale ridotta. Tuttavia, la maggior parte di questi studi riguarda esperimenti di laboratorio, e non condizioni di flusso in vivo o di perfusione tissutale. Di conseguenza, aleggia ancora un grado di incertezza riguardo alle esatte implicazioni di tali alterazioni patologiche.

Sia la deformabilità che l'aggregazione dei globuli rossi sono parametri reologici che possono essere influenzati da processi fisiopatologici. Infatti, il normale comportamento reologico dei globuli rossi è fortemente dipendente dal mantenimento dell'omeostasi. Il mancato rispetto di queste condizioni può portare ad un deterioramento, reversibile o irreversibile, delle proprietà reologiche dei globuli rossi.

Il mantenimento della normale deformabilità dei globuli rossi dipende dalla disponibilità di energia metabolica sottoforma di ATP. Quest'ultimo viene richiesto per le pompe cationiche nella membrana degli eritrociti, che servono a regolare il catione intracellulare e l'acqua, mantenendo così il volume cellulare e il rapporto superficie-volume della cellula. La fonte di ATP all'interno della cellula è la glicolisi. L'apporto di glucosio ai globuli rossi è fondamentale in quanto essi non sono in grado di immagazzinarlo. Alterazioni geometriche e meccaniche dei globuli rossi possono essere rilevate nel sangue conservato per periodi di tempo prolungati. Tali cambiamenti possono verificarsi anche nei globuli rossi intrappolati nei tessuti ischemici e la riduzione del pH in questi tessuti può influenzare la deformabilità degli eritrociti. Le proprietà meccaniche della membrana sono i principali determinanti della sua deformabilità. Alterazioni nella composizione lipidica ha effetti ridotti sul comportamento meccanico, mentre alterazioni delle proteine scheletriche svolgono un ruolo importante. È noto, infatti, che alterazioni nelle principali proteine scheletriche, per effetto di anomalie ereditarie, sono associate ad una riduzione della deformabilità degli eritrociti. Un aumento della concentrazione del calcio citosolico è un'alterazione associata ad una ridotta deformabilità dei globuli rossi; infatti, relazioni tra la concentrazione di calcio citosolico e alterazioni meccaniche sono state riscontrate nelle malattie vascolari periferiche. È stato dimostrato che un aumento del livello di calcio comporta ad un irrigidimento della rete citoscheletrica.

L'aumento della concentrazione dei globuli rossi è una conseguenza ben nota di danno tissutale acuto, come l'infarto del miocardio, infiammazioni o traumi.

Il valore dell'ematocrito è un parametro dinamico, variabile. In diverse condizioni fisiologiche e patologiche l'ematocrito può raggiungere valori sufficientemente elevati da aumentare considerevolmente la viscosità del sangue. Negli articoli esaminati viene riportato che la maggior parte degli studi effettuati si basano su misurazioni dei parametri emoreologici di campioni di sangue ex-vivo. Di seguito si propone una serie di osservazioni cliniche in diverse categorie di patologie.

Le malattie cardiovascolari sono tra i disturbi con le conseguenze emoreologiche ben più comprovate. L'aumento della viscosità del sangue, la ridotta deformabilità dei globuli rossi e l'aumento della loro aggregazione sono osservabili in diverse malattie cardiovascolari. Tra queste, quelle periferiche sono le più studiate. È noto infatti come le malattie ischemiche siano associate a compromissioni emoreologiche. Tali alterazioni, nel caso di malattie cardiovascolari, possono essere associate ad una circolazione insufficiente. Variazioni nei parametri reologici possono influenzare la perfusione tissutale e successivamente manifestarsi come problemi circolatori. L'ipertensione è un esempio di disturbo clinico caratterizzato da alterazioni emoreologiche. Le forme più avanzate di questa patologia sono associate ad un danno vascolare, ritenuto essere la causa di alterazioni emoreologiche. Tuttavia, si può anche ipotizzare che la compromissione di emoreologia sia anche la causa dell'aumento della pressione sanguigna, contribuendo all'aumento della resistenza periferica. Recenti studi suggerirebbero un'alterazione nelle proprietà reologiche dei globuli rossi come causa scatenante di alcune forme di ipertensione.

Il diabete è un'altra patologia accompagnata da disturbi microcircolatori generalizzati. Esistono numerosi studi che documentano un aumento della viscosità del sangue e del plasma, un maggiore aggregazione dei globuli rossi e un'alterata deformabilità nel caso di diabete mellito. Le persone affette da tale forma di diabete mostrano un'elevata viscosità ematica sia per alte che basse velocità di deformazione, in particolare nei pazienti con microangiopatia. Uno scarso controllo metabolico riduce la deformabilità dei globuli rossi, che può essere correlato al livello cellulare di emoglobina glicolata che è iperviscosa e si lega alla membrana cellulare così da ridurre l'elasticità. È stata inoltre segnalata anche una ridotta deformabilità dei leucociti, probabilmente a causa di problemi di perfusione tissutale.

La sepsi è una delle patologie più gravi a cui il nostro organismo può imbattersi. Diversi studi testimoniano una deformabilità dei globuli rossi significativamente ridotta e una loro maggior

aggregazione nel caso di questa grave infezione. In questi casi la formazione di rouleaux può contribuire ai problemi vascolari generalizzati.

Alterazioni emoreologiche possono essere facilmente identificate come causa di problemi di perfusione tissutale. L'anemia falciforme è l'esempio principe in cui le manifestazioni cliniche possono essere direttamente correlate agli estremi cambiamenti reologici nei globuli rossi.

La malattia renale cronica è associata a livelli ridotti di albumina plasmatica e a un aumento del fibrinogeno e delle globuline sieriche, con conseguente aumento della viscosità plasmatica, dell'aggregazione dei globuli rossi e della viscosità del sangue. Tali anomalie possono essere rilevanti per l'aumento del rischio di malattia arteriosa nei trapianti renali, all'aumentato rischio di trombosi venosa nella sindrome nefrosica.

Le ripercussioni cliniche delle alterazioni emoreologiche sono molteplici e svariate, tanto da poter richiedere un apposito elaborato per poterle approfondire adeguatamente. Le patologie associate a queste variazioni non sono solo quantitativamente numerose, ma coinvolgono organi e apparati dell'organismo umano con funzioni e locazioni spaziali diverse.

In questo breve capitolo si è voluto dare un assaggio della portata dell'argomento, consci dei limiti motivati dalla natura di questo elaborato. Per un maggior approfondimento si suggerisce al lettore la visione dei seguenti articoli: "*Blood rheology in general medicine and surgery*" di G. D. O. Lowe e "*Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*" di O. K. Baskurt, M. R. Hardeman, M. W. Rampling, H. J. Meiselman (in particolare il quarto capitolo). Entrambi sono stati consultati nella stesura delle precedenti pagine e rappresenteranno sicuramente delle valide fonti per chi ne vorrà usufruire.

Per un ingegnere biomedico lo studio dell'emoreologia risulta di fondamentale importanza per lo sviluppo di dispositivi medici, dagli organi artificiali agli stent vascolari, e altre apparecchiature utili alla riabilitazione dei pazienti. È evidente come sia necessario conoscere le caratteristiche del flusso sanguigno e le sue proprietà reologiche per la progettazione di dispositivi compatibili e funzionali con organi e apparati dell'organismo umano nei quali il sangue, con le sue proprietà e il suo flusso, ricopre un ruolo fondamentale.

CONCLUSIONI

Il presente lavoro mostra, ancora una volta, come la scienza reologica applicata al sangue sia estremamente complessa. Non a caso numerosissimi degli studi incentrati su di essa nascono da un approccio multidisciplinare, essendo necessarie conoscenze provenienti da rami e settori diversi, dalla chimica, alla biologia e anatomia, per approdare al campo ingegneristico. Di fatto, risulta impensabile approfondire tale argomento senza una base di conoscenze interdisciplinari.

Le ricerche effettuate ci confermano ancora una volta come i globuli rossi ricoprano, nella scienza emoreologica, un ruolo di primaria importanza. Con la loro capacità di formare aggregati e la peculiare deformabilità della membrana lipidica, gli eritrociti sono in grado di alterare e condizionare il normale flusso del sangue: dall'azione dei rouleaux sulla viscosità ematica a, ovviamente, la variabilità nel trasporto di ossigeno (a carico, infatti, della membrana eritrocitaria).

È ormai noto come la viscosità sia uno dei parametri caratteristici di un fluido, fondamentale per una sua completa descrizione e rappresentazione. La capacità di diversi fattori di influenzare le proprietà viscosive del sangue è convalidata in diversi articoli e ricerche. Non lo sono altrettanto le relazioni che descrivono tali proprietà, come testimoniano le diverse equazioni che legano viscosità ematica ed ematocrito (riportate nei capitoli precedenti) e la mancanza di un modello reologico risolutivo. Risultano quindi necessarie ulteriori indagini a riguardo.

Importanti risultano essere le variazioni di temperatura nell'organismo umano, capaci di influenzare le sue proprietà emoreologiche. Inoltre, anche l'età dell'organismo è un fattore rilevante; abbiamo mostrato come con l'avanzare dell'età aumentino le concentrazioni di fibrinogeno, glicoproteina alla base del legame vigente tra due globuli rossi nella formazione dei rouleaux.

Possiamo quindi affermare che la strada da percorrere è ancora lunga per quanto riguarda l'emoreologia. A fronte della testimoniata corrispondenza tra le alterazioni delle proprietà reologiche del sangue e numerose condizioni fisiopatologiche a cui l'essere umano può imbattersi, si auspica a un incremento negli studi di ricerca di questa scienza, capaci di tenere conto delle qualità esistenti tra persone di età e sesso diversi, con la fiducia di giungere ad un miglioramento nella cura e prevenzione di esse.

BIBLIOGRAFIA

- [1] E SILVA, J. MARTINS. Principles of blood rheology. *Acta Médica Portuguesa*, 1983, 4: 5-7.
- [2] Cokelet, G. R. (1963). *The rheology of human blood* (Doctoral dissertation, Massachusetts Institute of Technology).
- [3] Errill, E. W. (1969). Rheology of blood. *Physiological reviews*, 49(4), 863-888.
- [4] Barnes, H. A., Hutton, J. F., & Walters, K. (1989). *An introduction to rheology* (Vol. 3). Elsevier.
- [5] Simmonds, M. J., Meiselman, H. J., & Baskurt, O. K. (2013). Blood rheology and aging. *Journal of geriatric cardiology: JGC*, 10(3), 291.
- [6] Stuart, J., & Kenny, M. W. (1980). Blood rheology. *Journal of clinical pathology*, 33(5), 417.
- [7] Joyner, H. S., & Daubert, C. R. (2017). Rheological principles for food analysis. *Food analysis*, 5, 511-552.
- [8] Kim, J., Lee, H., & Shin, S. (2015). Advances in the measurement of red blood cell deformability: A brief review. *Journal of Cellular Biotechnology*, 1(1), 63-79.
- [9] Bishop, J. J., Popel, A. S., Intaglietta, M., & Johnson, P. C. (2001). Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies. *Biorheology*, 38(2-3), 263-274.
- [10] Wagner, C., Steffen, P., & Svetina, S. (2013). Aggregation of red blood cells: from rouleaux to clot formation. *Comptes Rendus Physique*, 14(6), 459-469.
- [11] Skalak, R., & Brånemark, P. I. (1969). Deformation of red blood cells in capillaries. *Science*, 164(3880), 717-719.
- [12] Pozrikidis, C. (2003). Numerical simulation of the flow-induced deformation of red blood cells. *Annals of biomedical engineering*, 31(10), 1194-1205.
- [13] Liu, Y., & Liu, W. K. (2006). Rheology of red blood cell aggregation by computer simulation. *Journal of Computational Physics*, 220(1), 139-154.
- [14] Barcroft, H., & Edholm, O. G. (1943). The effect of temperature on blood flow and deep temperature in the human forearm. *The Journal of physiology*, 102(1), 5.
- [15] Merrill, E. W., Gilliland, E. R., Cokelet, G., Shin, H., Britten, A., & Wells Jr, R. E. (1963). Rheology of human blood, near and at zero flow: effects of temperature and hematocrit level. *Biophysical Journal*, 3(3), 199-213.
- [16] Lou, Z., & Yang, W. J. (1993). A computer simulation of the non-Newtonian blood flow at the aortic bifurcation. *Journal of biomechanics*, 26(1), 37-49.

- [17] Ai, L., & Vafai, K. (2005). An investigation of Stokes' second problem for non-Newtonian fluids. *Numerical Heat Transfer, Part A*, 47(10), 955-980.
- [18] Tomaiuolo M. (2011). *Valutazione delle caratteristiche del flusso ematico in un dispositivo per autotrasfusione avvalendosi della fluidodinamica computazionale*. <http://hdl.handle.net/20.500.12608/14485>
- [19] Albrecht, K. H., Gaehtgens, P., Pries, A., & Heuser, M. (1979). The Fahraeus effect in narrow capillaries (id 3.3 to 11.0 μm). *Microvascular research*, 18(1), 33-47.
- [20] Pries, A. R., & Secomb, T. W. (2003). Rheology of the microcirculation. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 29(3-4), 143-148.
- [21] Chebbi, R. (2015). Dynamics of blood flow: modeling of the Fåhræus–Lindqvist effect. *Journal of biological physics*, 41(3), 313-326.
- [22] Fahraeus, R., & Lindqvist, T. (1931). The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 96(3), 562-568.
- [23] Fåhræus, R. (1929). The suspension stability of the blood. *Physiological reviews*, 9(2), 241-274.
- [24] Matrai, A., Whittington, R. B., & Ernst, E. (1987). A simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 7(2), 261-265.
- [25] Lowe, G. D. O. (1987). 1 blood rheology in vitro and in vivo. *Bailliere's clinical haematology*, 1(3), 597-636.
- [26] Pries, A. R., Neuhaus, D., & Gaehtgens, P. (1992). Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 263(6), H1770-H1778.
- [27] Cho, Y. I., & Kensey, K. R. (1991). Effects of the non-Newtonian viscosity of blood on flows in a diseased arterial vessel. Part 1: Steady flows. *Biorheology*, 28(3-4), 241-262.
- [28] Chandler, W. L., & Schmer, G. (1986). Evaluation of a new dynamic viscometer for measuring the viscosity of whole blood and plasma. *Clinical chemistry*, 32(3), 505-507.
- [29] Silverthorn D. U., *Fisiologia umana. Un approccio integrato*, Milano – Torino, Pearson Italia, 2017, settima edizione.
- [30] BAŞKURT, O. K. (2003). Pathophysiological significance of blood rheology. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 33(6), 347-355.
- [31] Baskurt, O. K. (2007). Mechanisms of blood rheology alterations. *Biomedical and Health Research-Commission of the European Communities then IOS Press*, 69, 170.
- [32] Lowe, G. D. O. (1987). 9 Blood rheology in general medicine and surgery. *Bailliere's clinical haematology*, 1(3), 827-861.

