

**ALMA MATER STUDIORUM -  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA  
SEDE DI CESENA**

---

**SECONDA FACOLTÀ DI INGEGNERIA CON SEDE A CESENA  
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**“STUDIO MODELLISTICO DELLA  
REGOLAZIONE DEL VOLUME DEL  
FLUIDO INTERSTIZIALE”**

Elaborato in:  
**BIOINGEGNERIA**

Relatore:

Prof. Ing. **GIANNI GNUDI**

Presentato da:

**Matilde Iannetti**

---

**ANNO ACCADEMICO 2010/2011  
SESSIONE III**

# Indice

**Introduzione** pag. 4

**Capitolo 1: Impostazione generale della regolazione del fluido interstiziale** pag. 5

1.1 Afflusso interstiziale di liquido e di proteine pag. 6

1.2 Deflusso interstiziale di liquido e proteine pag. 10

1.3 Conservazione della massa pag. 12

1.4 Accumulo interstiziale pag. 14

1.5 Limitazioni dei tradizionali modelli matematici di bilancio idrico pag. 16

**Capitolo 2: Risoluzione del punto di equilibrio** pag. 17

2.1 Rappresentazione grafica ed equazioni algebriche del punto di equilibrio pag. 18

2.2 Validazione del modello stazionario pag. 21

2.3 Ruolo della compliance interstiziale nella pressione e nella regolazione del volume del liquido interstiziale pag. 23

2.4 Riconcettualizzazione dell'equilibrio di del liquido interstiziale con resistenza di afflusso e deflusso pag. 27

2.5 La pressione del fluido interstiziale in stato stazionario non è influenzata dalla compliance

interstiziale	pag. 30
2.6 Validità delle ipotesi	pag. 31
<b>Capitolo 3: Applicazione del modello a casi particolari</b>	pag. 34
3.1 Grafica del punto di equilibrio per concettualizzare i problemi complessi	pag. 35
<b>Conclusioni</b>	pag. 39
<b>Appendice:</b>	
A.1 Forme non lineari dell'equazione del deflusso interstiziale di proteine	pag. 41
A.2 Confronto tra soluzioni numeriche del deflusso interstiziale di proteine	pag. 42
<b>Riferimenti bibliografici</b>	pag. 45

# Introduzione

I singoli processi coinvolti nella regolazione del volume del liquido interstiziale e delle proteine sono la filtrazione microvascolare, il ritorno linfatico e l'accumulo interstiziale. Anche se, singolarmente possono sembrare semplici, la loro interazione è estremamente complessa.

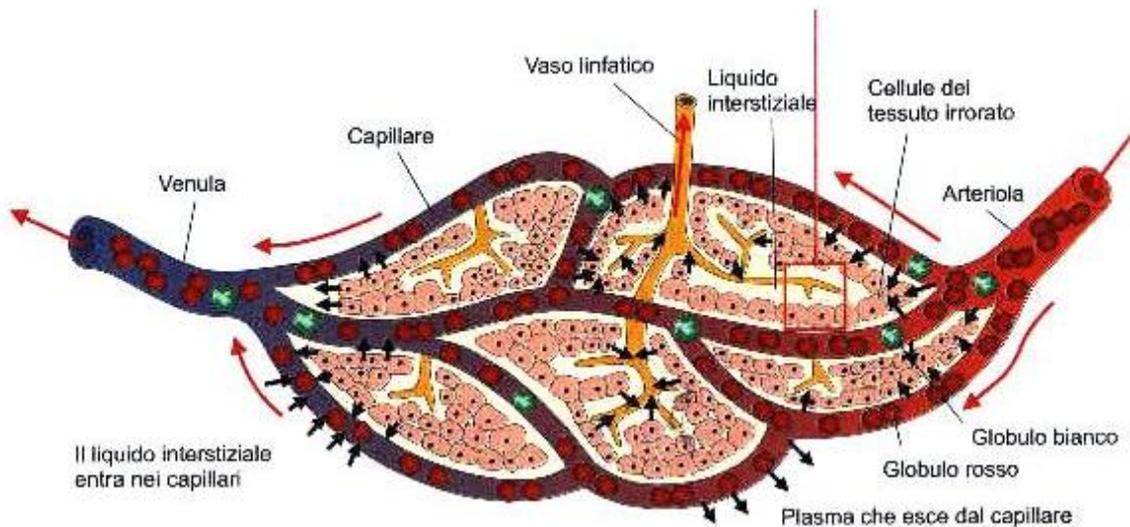
Lo scopo del seguente studio è quello di sviluppare un approccio algebrico trasparente, semplice e generale che predica la pressione del liquido interstiziale  $P_i$  e la concentrazione di proteine  $C_i$ , che prenda in considerazione tutti e tre i processi menzionati precedentemente e studiarne il punto di equilibrio.

La prima parte dell'elaborato presenta i fenomeni che regolano gli scambi e la loro dinamica. La seconda descrive il comportamento del modello in regime stazionario e durante il transitorio. Mostra il grafico del punto di equilibrio e le equazioni che caratterizzano il flusso del liquido e delle proteine in funzione di  $P_i$  e  $C_i$ , parametri che caratterizzano la funzione microvascolare, interstiziale e linfatica. Valori di equilibrio di  $P_i$  e  $C_i$  sorgono come punti dall'intersezione grafica dei flussi transmicrovascolari e linfatici. Questo approccio va oltre la descrizione dell'equilibrio del liquido interstiziale a livello di conservazione di massa, introducendo il concetto di resistenze di afflusso e deflusso. Soluzioni algebriche mostrano che  $P_i$  e  $C_i$  risultano dal rapporto del coefficiente di filtrazione microvascolare ( $1/\text{resistenza di afflusso}$ ) e la resistenza linfatica e ( $\text{resistenza di deflusso}$ ) e  $P_i$  non è influenzata dalla compliance interstiziale. Nella terza parte, è verificato come queste semplici soluzioni algebriche, che predicono  $P_i$  e  $C_i$ , siano coerenti con le misure riportate, ricavate sperimentalmente.

# **Capitolo 1**

## **Impostazione generale della regolazione del fluido interstiziale**

Il liquido interstiziale è una soluzione acquosa presente fra le cellule e ha la funzione di mediatore negli scambi tra esse ed il sangue, permettendo quindi il passaggio di elettroliti, sostanze nutritive e di scarto, nonché ormoni. Il liquido interstiziale in eccesso viene drenato dal sistema linfatico; una volta entrato nei capillari linfatici prende il nome di linfa e viene portato ai linfonodi per essere depurato da eventuali batteri. Nel passaggio attraverso i linfonodi si arricchisce di linfociti e anticorpi, formando un liquido più denso che verrà immesso nel circolo sanguigno attraverso la vena cava superiore. I termini liquido interstiziale e matrice extracellulare non devono essere confusi, in quanto hanno funzioni e composizioni differenti. La matrice extracellulare è tutto il materiale presente fra una cellula e l'altra; ha quindi funzioni di collegamento e ancoraggio delle cellule, attraverso interazioni con il citoscheletro. È composta principalmente da glicoproteine e proteoglicani, e può costituire anche la componente principale di un tessuto, come nel caso del tessuto connettivo. Il liquido interstiziale è invece una soluzione acquosa presente fra le cellule strettamente legata alla vicinanza di vasi sanguigni e linfatici.



I concetti fondamentali che verranno trattati in seguito sono:

- afflusso interstiziale di liquido e di proteine
- deflusso interstiziale di liquido e di proteine
- conservazione della massa
- accumulo interstiziale

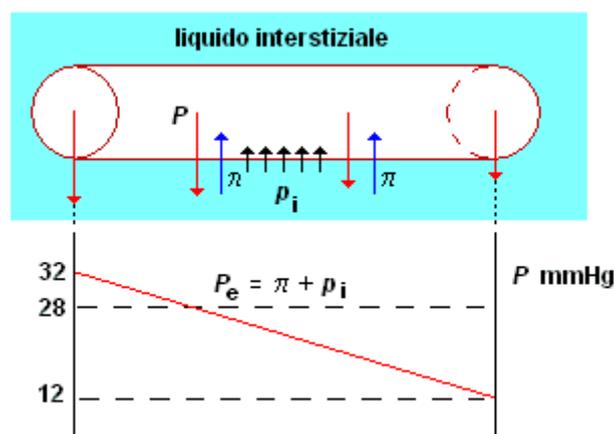
### 1.1 Afflusso interstiziale di liquido e di proteine

Per afflusso interstiziale si intende il flusso del liquido microvascolare e proteine nell'interstizio, dovuto alla pressione e alla concentrazione di proteine del liquido interstiziale. L'equazione che caratterizza la portata del liquido ( $J_v$ ) attraverso la membrana microvascolare nell'interstizio è l'equazione di Starling-Landis [42]:

$$J_v = K_f [(P_c - P_i) - \sigma(\pi_c - \pi_i)] \quad (1)$$

formulata nel 1896, che illustra il ruolo della forza idrostatica e oncotica (le cosiddette Forze di Starling) nel movimento dei fluidi attraverso membrane capillari.

La forza idrostatica è la forza esercitata da un fluido in quiete su ogni superficie a contatto con esso e la forza oncologica è dovuta alla pressione osmotica del liquido determinata dalle proteine. Il movimento dei fluidi per capillarità può avvenire come risultato di due processi: la diffusione e la filtrazione. L'equazione di Starling fa riferimento al solo movimento di fluido per filtrazione. La filtrazione attraverso la parete dei capillari dipende dalla pressione idrostatica esistente nel capillare  $P_c$ , meno la pressione idrostatica esistente nel liquido interstiziale  $P_i$ . Ma a questa pressione idrostatica si oppone il gradiente osmotico diretto verso l'interno del capillare ( $\pi_c - \pi_i$ ). Infatti la parete dei capillari permette il libero passaggio dell'acqua e di piccole molecole ma non lascia passare in quantità significative le proteine plasmatiche per cui queste si trovano nel plasma in forte concentrazione; essa si comporta come una membrana impermeabile alle proteine plasmatiche che esercitano una pressione oncologica pari a circa 25 mmHg. Pertanto a livello della estremità arteriosa del capillare dove la pressione idrostatica supera la pressione oncologica, il liquido passa dai capillari negli spazi interstiziali. All'estremità venosa del capillare invece, dove la pressione oncologica supera la pressione idrostatica, il liquido rientra nei capillari.



$\Delta$  PRESSIONE IDROSTATICA

$\Delta$  PRESSIONE DI FILTRAZIONE =

$\Delta$  PRESSIONE ONCOTICA

Il coefficiente di filtrazione  $Kf$  è la costante di proporzionalità. Un alto valore indica un vaso capillare altamente permeabile all'acqua mentre un valore basso indica una permeabilità capillare bassa. Il coefficiente di filtrazione è il prodotto tra l'area capillare e la conduttanza idraulica capillare. Il coefficiente di riflessione  $\sigma$ , indica la permeabilità alle proteine e si pensa spesso come un fattore di correzione. La differenza delle pressioni oncotiche contribuisce alla forza netta perché la maggior parte dei vasi capillari sono ragionevolmente impermeabili alle grandi proteine. Molti vasi capillari hanno una piccola permeabilità alle proteine e questo provoca due effetti importanti:

- la pressione oncotica del fluido interstiziale è più alta di quanto sarebbe altrimenti in quel tessuto;
- non tutta la quantità di proteine presenti è efficace nel trattenere l'acqua e quindi la pressione capillare oncotica è minore della pressione capillare oncotica fornita dalla formula di Van't Hoff.

Entrambi questi effetti diminuiscono il contributo del gradiente della pressione oncotica alla forza netta che si sviluppa. Il coefficiente di riflessione è usato per correggere il valore del gradiente misurato per tener conto dell'inefficacia parziale dovuta agli effetti descritti sopra. Questo coefficiente può avere valore compreso fra 0 e 1. Per essere coerenti con il resto dell'analisi, l'equazione di Starling-Landis è formulata in termini di concentrazione di proteine plasmatiche  $C_c$  ed interstiziali  $C_i$ , data dall'eq.2 che verrà utilizzata d'ora in poi.

$$Jv = Kf[(P_c - P_i) - \alpha\sigma(C_c - C_i)] \quad (2)$$

Quando la concentrazione è espressa in moli per chilogrammo,  $\alpha$  può essere espressa da  $R * T$ , dove R è la costante dei gas ideali e T la temperatura assoluta [58]. Quando la concentrazione è espressa in milligrammi per millilitro, viene utilizzato per  $\alpha$  un valore derivato. Coerentemente con il lavoro precedente  $P_c$ ,  $P_i$ ,  $C_i$  e  $C_c$  sono considerate variabili mentre  $K_f$  e  $\sigma$  sono considerati parametri strutturali. Il flusso microvascolare di proteine in uscita,  $J_{SV}$ , cioè l'afflusso interstiziale di proteine, è caratterizzato utilizzando l'equazione lineare di Taylor-Granger (eq.3) [3,57]. In questa formulazione il flusso di proteine attraverso la membrana microvascolare è determinato secondo gradiente così come i processi diffusivi. La filtrazione del liquido microvascolare  $J_V$ , guida il trasferimento secondo gradiente delle proteine ed è modificata da  $C_c$  e  $\sigma$ . Il gradiente di concentrazione delle proteine attraverso la membrana microvascolare  $(C_c - C_i)$  guida la diffusione delle proteine ed è modificato dal prodotto della permeabilità microvascolare delle proteine e la superficie  $PS$ .

$$J_{sv} = J_v(1 - \sigma)C_c + (C_c - C_i)PS \quad (3)$$

Anche se questa formulazione si basa su un'approssimazione proposta da Kedem e Katchalsky [38] che tratta la diffusione e la convezione come processi indipendenti. Rispetto ad altre formulazioni suggerite, questa di Taylor-Granger [26] approssima meglio la formulazione non lineare, ben accettata, di Patlak-Hoffman [50].

## 1.2 Deflusso interstiziale di liquido e proteine

La pressione del liquido interstiziale determina il flusso di liquido e di proteine fuori dall'interstizio. Il sistema linfatico si occupa del loro ritorno nella circolazione sistemica. Caratterizzare il comportamento di un singolo vaso linfatico è reso

complicato dall'interazione del suo gradiente di pressione assiale, pressione trasmurale e dalla tensione del tessuto endoteliale. Caratterizzare la funzione di un intero sistema linfatico è, tuttavia, relativamente semplice, poiché la relazione pressione-flusso del sistema linfatico può essere lineare per una vasta gamma di valori di pressioni. Il fattore che determina un aumento del flusso linfatico è l'incremento della pressione del flusso interstiziale, che comporta l'aumento dei gradienti di pressione assiale e pressione trasmurale. In una serie di articoli, Drake e Laine hanno caratterizzato con successo la relazione pressione-flusso linfatica con due parametri derivati empiricamente: la resistenza linfatica efficace  $R_L$ , e la pressione della pompa linfatica  $P_P$ . Un recente studio ha collegato i valori di  $R_L$  e  $P_P$  alle proprietà meccaniche dei vasi linfatici, tra cui la contrattilità e la frequenza di contrazione. Anche se i ricercatori hanno utilizzato la formulazione di Drake e Laine per predire l'interazione di una parte del sistema linfatico con un'altra, questa semplice descrizione non è ancora stata utilizzata per affrontare l'interazione linfatica-microvascolare. Infatti, un numero significativo di studi trascura l'effetto della funzione linfatica sull'equilibrio del liquido interstiziale. L'equazione di Drake-Laine (eq.4) [13] caratterizza la funzione linfatica mettendo in relazione la portata linfatica  $J_L$  ad una pressione linfatica di "driving". Questa equazione è basata sul presupposto comune che non esiste un gradiente di concentrazione di proteine attraverso la membrana dei vasi linfatici e il flusso linfatico è guidato esclusivamente dal gradiente di pressione idrostatica dei vasi linfatici [3]. Dal momento che la pressione linfatica di uscita  $P_{OUT}$ , è generalmente maggiore della pressione del liquido interstiziale, la differenza di  $P_i$  e  $P_{OUT}$  tende a rallentare il flusso linfatico. Il valore  $P_i + P_{OUT}$  rappresenta la pressione linfatica di "driving", composta dalla somma della pressione idrostatica interstiziale e la pressione linfatica di pompaggio  $P_P$ . La resistenza linfatica efficace  $R_L$  è rappresentata dalla pendenza della relazione tra la pressione linfatica effettiva ( $P_i + P_P - P_{out}$ ) e il flusso linfatico risultante.

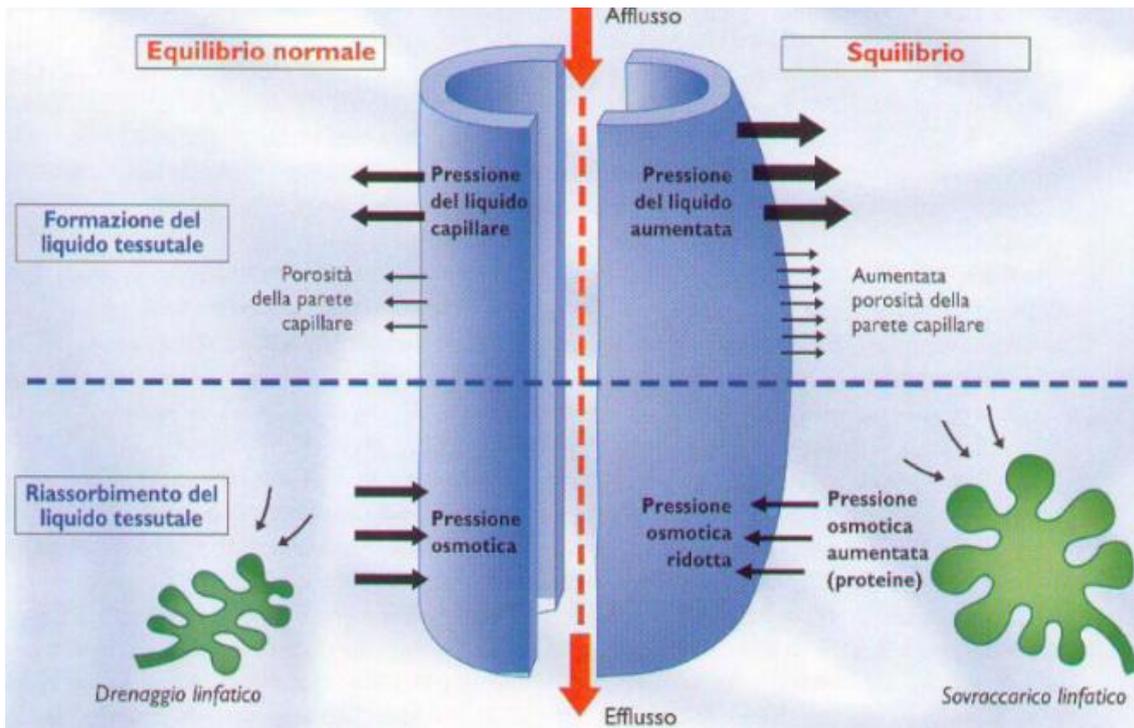
$$J_L = \frac{P_i + P_P - P_{OUT}}{R_L} \quad (4)$$

In questa formulazione  $P_P$  e  $R_L$  sono parametri derivati empiricamente utilizzati per descrivere la relazione pressione-flusso linfatico e non corrispondono necessariamente alla pressione sviluppata dalla contrazione dei vasi linfatici o dalla resistenza al flusso linfatico. Recentemente,  $P_P$  e  $R_L$  sono stati messi in relazione con la contrattilità linfatica e la frequenza delle contrazioni [51]. Dal momento che il flusso trans-sieroso è in definitiva raccolto dai vasi linfatici e rimesso nella circolazione sistemica, è incluso nel modello di Drake-Laine [13]. Senza un gradiente di concentrazione di proteine attraverso la membrana linfatica terminale, la concentrazione di proteine nella linfa sarebbe pari alla concentrazione proteica interstiziale. Inoltre l'intensità del deflusso interstiziale di proteine è determinato solo da un processo convenzionale. Utilizzando l'equazione di Drake-Laine (eq.4) per caratterizzare il tasso di drenaggio linfatico del flusso  $J_L$  secondo la convenzione guida, il tasso di drenaggio linfatico delle proteine interstiziale  $J_{SL}$  può essere descritto come:

$$J_{SL} = C_i * J_L = C_i * \frac{P_i + P_P - P_{OUT}}{R_L} \quad (5)$$

### 1.3 Conservazione della massa

Un edema viene convenzionalmente definito come uno squilibrio di afflusso e deflusso interstiziale, ed è quindi un segno che il normale scambio tra sistema circolatorio e linfatico è alterato. L'edema può di solito derivare da un inadeguato drenaggio della linfa o da una filtrazione capillare notevolmente superiore al riassorbimento.



I fattori che alterano il normale bilancio tra la filtrazione e il riassorbimento capillare sono:

- un aumento della pressione idraulica capillare;
- una riduzione della concentrazione di proteine plasmatiche;
- un aumento delle proteine interstiziali.

Il processo di regolazione del volume del liquido interstiziale è basato sul principio di conservazione della massa. La differenza tra la filtrazione e il riassorbimento interstiziale determina la variazione di volume del liquido interstiziale. Cioè quando la filtrazione è maggiore del riassorbimento, il volume del liquido interstiziale aumenta. Al contrario, quando il flusso di liquido in uscita è maggiore di quello in entrata, il volume interstiziale del fluido diminuisce. Il principio di conservazione della massa da solo non basta. La sola misurazione del volume del liquido interstiziale non rivela se la filtrazione microvascolare è aumentata o se la funzione linfatica è diminuita. Infatti, una volta che l'edema si stabilizza, l'afflusso e il deflusso sono uguali e non sono disponibili informazioni per determinare se la

funzione linfatica o microvascolare è stata compromessa. Inoltre, la quantità di filtrazione del flusso microvascolare e del flusso linfatico in regime stazionario non è direttamente correlata al volume del fluido interstiziale; l'edema può essere associato ad entrambi i flussi sia che sono elevati sia che sono bassi. Sulla base del principio di conservazione della massa, la variazione del volume del liquido interstiziale  $V$ , è determinato dalla differenza tra il flusso interstiziale  $J_{SV}$  e il tasso di deflusso di proteine  $J_{SL}$ .

$$\frac{dV}{dt} = J_V - J_L \quad (6a)$$

$$\frac{dQ}{dt} = J_{SV} - J_{SL} \quad (6b)$$

In regime stazionario, il volume del liquido interstiziale e la concentrazione proteica cessano di cambiare e quindi  $dQ/dt$  e  $dV/dt$  sono uguali a zero. Pertanto l'afflusso è equilibrato al deflusso,  $J_V = J_L$  e  $J_{SV} = J_{SL}$ .

Infine, poiché sia la conservazione della massa sia l'equilibrio delle forze sono necessarie a caratterizzare i sistemi meccanici, la caratterizzazione di un edema come mancata corrispondenza di afflusso e deflusso è teoricamente incompleta. Dunque, le equazioni di conservazione della massa sono necessarie ma non sufficienti per caratterizzare l'equilibrio dei fluidi interstiziali.

#### **1.4 Accumulo interstiziale**

La capacità dell'interstizio di contenere il volume del fluido ( $V$ ) è una proprietà meccanica fondamentale caratterizzata dalla "compliance interstiziale", e serve quindi a determinare la pressione del fluido. Matematicamente consiste nella pendenza della relazione pressione-volume del liquido interstiziale,  $\Delta V/\Delta P_i$ . Questo rapporto dipende dal livello di idratazione dei tessuti e può essere altamente non

lineare [29,52]. Tuttavia, è stato approssimato per essere “lineare a tratti”, tecnica comunemente usata per trattare l’effetto di idratazione sulla complianza interstiziale. Generalmente, in condizioni normali, in un range negativo di pressione (sub atmosferica), la pressione del liquido è sensibile ai cambiamenti di volume del liquido interstiziale e il rapporto tra il volume e pressione è rappresentato da una relazione lineare. Con iperidratazione, la pressione interstiziale può diventare positiva e la complianza interstiziale può diventare molto grande. Per descrivere questo comportamento il rapporto volume-pressione del liquido interstiziale in questo intervallo può essere rappresentato da un'altra relazione lineare, con una pendenza superiore, che rappresenta una complianza interstiziale maggiore. All’interno di un intervallo lineare la quantità di accumulo del liquido interstiziale è legato alla complianza e alla variazione di pressione del liquido,  $dP_i/dt$  (eq.7a)

$$\frac{dV}{dt} = \frac{dV}{dP_i} * \frac{dP_i}{dt} \quad (7a)$$

$$C_i = \frac{Q}{V} \quad (7b)$$

L’accumulo interstiziale delle proteine è caratterizzato dal rapporto delle proteine interstiziali totali (Q) e il volume del liquido interstiziale (eq.7b).

Svolge un ruolo fondamentale nel bilancio del fluido: determina l’aumento del volume in relazione all’aumento della sua pressione. Seguono tre concetti correlati. In primo luogo, la complianza interstiziale così straordinariamente elevata per il polmone può prevenire le complicanze derivanti da edema. In questo caso, il volume del liquido interstiziale può aumentare significativamente senza un concomitante aumento della sua pressione, evitando così allargamenti alveolari. In secondo luogo, riducendo l’effettiva complianza interstiziale con manicotti a compressione, si può ridurre l’edema periferico aumentando la pressione del liquido interstiziale. In questo caso la riduzione del liquido interstiziale deriva dalla diminuzione della filtrazione

microvascolare e dal miglioramento del drenaggio linfatico. Infine, aumentando la compliance interstiziale con agenti farmacologici o lesioni focali, si può provocare un edema diminuendo la pressione del liquido interstiziale. In questo caso un valore più basso di pressione attira i liquidi nell'interstizio dallo spazio microvascolare. Inerente a tutti e tre i concetti, un cambiamento nella compliance interstiziale si ritiene modifichi l'equilibrio della pressione del liquido.

## **1.5 Limitazioni dei tradizionali modelli matematici di bilancio idrico**

I processi individuali coinvolti nella regolazione del volume del liquido interstiziale (afflusso, deflusso e accumulo) sono relativamente semplici e possono essere espressi in termini di generali formule algebriche. Integrarli per predire la pressione e il volume del liquido interstiziale è stato però problematico. L'interazione è complicata dalla presenza di un feedback negativo; un aumento del volume del liquido interstiziale limita la filtrazione microvascolare e migliora il drenaggio linfatico. Inoltre, l'effetto della funzione linfatica non è stato esplicitamente introdotto in modelli di equilibrio dei fluidi, limitando la generalità dei risultati. Inoltre, l'accumulo del volume e delle proteine del liquido interstiziale introduce integrali che richiedono soluzione numerica. Nel loro insieme, vi è una mancanza di una formula algebrica di primo ordine, che metta in relazione il volume interstiziale a parametri di criticità comunemente utilizzati per caratterizzare il movimento del fluido interstiziale. Pertanto, lo scopo del presente studio è di elaborare un approccio algebrico generale e semplice che predice la pressione del liquido interstiziale, il volume e la concentrazione di proteine risultanti dall'interazione della funzione linfatica, microvascolare e interstiziale.

## Capitolo 2

### Risoluzione del punto di equilibrio

I singoli sottosistemi che governano il volume e le proteine del liquido interstiziale sono relativamente semplici, tuttavia, la loro interazione può essere complessa, dato che c'è un feedback intrinseco al sistema. Le equazioni (2) e (7) sono state risolte in due modi. In primo luogo si è ipotizzato che il sistema sia in stato stazionario; una condizione di equilibrio dinamico, cioè quando un sistema tende a mantenere il proprio comportamento di flusso costante col trascorrere del tempo ( $J_V = J_L$  e  $J_{SV} = J_{SL}$ ) dove  $P_i$  e  $C_i$  sono stati trovati analiticamente e contemporaneamente risolvendo le equazioni in termini di parametri strutturali ( $K_f, R_L, P_P, \sigma, \alpha$ ) utilizzando i normali metodi algebrici. In secondo luogo è stato presupposto che il sistema non sia in condizioni stazionarie; in questo caso, il sistema di equazioni deve essere risolto numericamente e tutti i valori dei parametri dovranno essere definiti in modo esplicito. I valori dei parametri sono stati raccolti da varie sperimentazioni come ad esempio i valori ricavati dal polmone del cane riportati nella tabella 1. Per illustrare il ruolo della compliance interstiziale, è stata simulata la risposta ad una variazione di pressione capillare ( $P_C$ ) per valori iniziali alti e bassi di compliance interstiziale. Le equazioni (2) e (7) sono state risolte contemporaneamente utilizzando un metodo standard di Runge-Kutta implementato in Matlab R2007a e le conseguenti notifiche transitorie di pressione e volume del liquido interstiziale sono state tracciate in funzione del tempo.

## 2.1 Rappresentazione grafica ed equazioni algebriche del punto di equilibrio

I valori di stato stazionario di  $P_i$  e  $C_i$  possono essere rappresentati graficamente [28,30]. Per costruire il grafico dell'equilibrio del fluido interstiziale, tracciamo prima di tutto il rapporto tra  $P_i$  e  $J_V$  (eq. 2). Assumendo che la concentrazione interstiziale di proteine è in equilibrio, questa relazione è lineare, con una pendenza di  $-K_f$ . L'intercetta x rappresenta la pressione guida effettiva totale microvascolare che costringe il fluido nell'interstizio,  $P_C - \alpha\sigma(C_C - C_i)$ , ed è pari al valore di  $P_i$  in cui  $J_V = 0$ . È tracciato poi il rapporto di  $P_i$  e  $J_L$  (eq. 4), il quale è lineare ed ha una pendenza di  $1/R_L$ . L'intercetta x rappresenta la pressione totale efficace che ostacola il flusso nell'interstizio,  $(P_{out} - P_P)$ , ed è pari al valore di  $P_i$  in cui  $J_L = 0$ . L'intersezione rappresenta graficamente il punto di equilibrio in cui l'afflusso interstiziale è pari al deflusso. L'intersezione è equivalente a impostare  $J_V = J_L$  e risolvere le equazioni (2) e (4) contemporaneamente. Un processo simile può essere utilizzato per costruire un grafico che illustri il punto di equilibrio del flusso interstiziale di proteine dalle equazioni (3) e (5). La rappresentazione grafica di stato stazionario fornisce un mezzo per comprendere i contributi individuali per l'equilibrio del flusso interstiziale, dove le intercette rappresentano le pressioni di "driving" e le pendenze rappresentano le resistenze efficaci al flusso.

$P_i$  pressione interstiziale

$P_{out} - P_P$  pressione totale efficace che ostacola il flusso in uscita dall'interstizio

$J_L$  flusso linfatico

$J_V$  flusso transmicrovascolare

$1/K_f$  resistenza di afflusso nell'interstizio

$R_L$  resistenza linfatica efficace

$P_C - \alpha\sigma(C_C - C_i)$  pressione totale efficace che costringe il liquido in entrata nell'interstizio

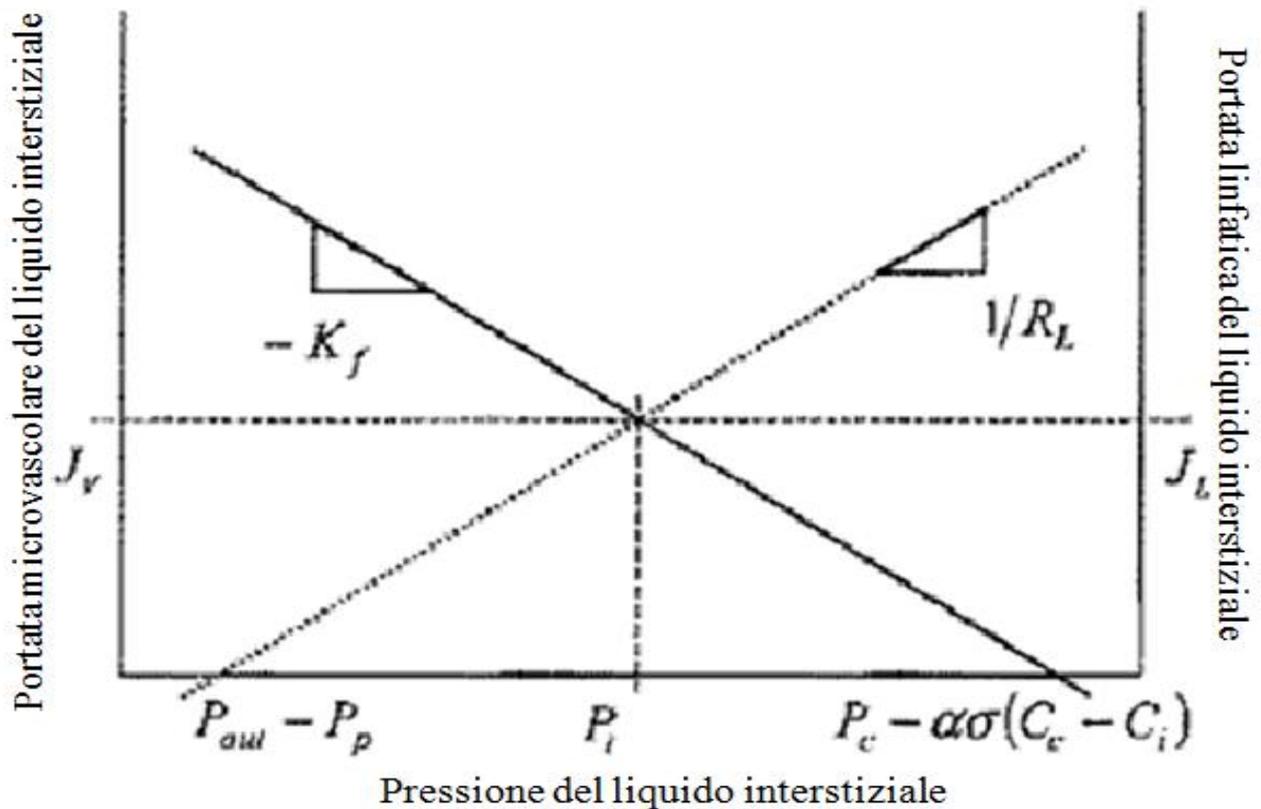


Fig.1 Rappresentazione grafica del concetto di punto di equilibrio applicata al flusso del fluido interstiziale. La linea continua rappresenta la relazione di Starling-Landis (eq.2), che mostra, come con un aumento della pressione interstiziale ( $P_i$ ), il flusso transmicrovascolare ( $J_v$ ) decresce. La linea puntinata rappresenta la relazione di Drake-Laine (eq.4) [13], che mostra come con un aumento di  $P_i$ , fa aumentare il flusso linfatico ( $J_L$ ) nell'interstizio. La loro intersezione rappresenta il punto di equilibrio, dove il flusso in entrata nell'interstizio è uguale a quello in uscita (cioè  $J_v = J_L$ ). Le linee tratteggiate rappresentano i valori di  $P_i$ ,  $J_L$  e  $J_v$  allo stato stazionario esplicitati dall'equazione (8a). Le intercette e le pendenze sono legate ad una pressione guida efficace del fluido e alle resistenze del fluido al flusso.  $1/K_f$  è la resistenza effettiva al flusso nell'interstizio e  $R_L$  è la resistenza linfatica efficace.  $P_c - \alpha\sigma(C_c - C_i)$  rappresenta la pressione totale efficace che spinge il fluido nell'interstizio, dove  $P_c$  è la pressione capillare idrostatica e  $C_c - C_i$  è la differenza tra la concentrazione di proteine capillare e interstiziale.  $P_{out} - P_p$  rappresenta la pressione totale che ostacola il flusso in uscita dall'interstizio, dove  $P_{out}$  è la pressione in uscita del sistema linfatico e  $P_p$  è la pressione linfatica efficace di pompaggio.

Quando viene raggiunto lo stato stazionario, la filtrazione è equilibrata al riassorbimento, portando a livello costante il volume del liquido interstiziale e il

contenuto di proteine. Le soluzioni di  $P_i$  e  $C_i$  sono state ottenute risolvendo le relazioni  $J_V = J_L$  e  $J_{SV} = J_{SL}$  rispettivamente [19,34,37,41,43,59]. L'equazione (8) caratterizza la pressione del liquido interstiziale e la concentrazione di proteine in funzione di parametri strutturali ( $K_f, R_L, P_P, \sigma, \alpha$ ) e le variabili di ingresso e di uscita ( $P_C, C_C, P_{out}$ ). Le seguenti equazioni forniscono soluzioni corrispondenti alle interazioni illustrate in figura 1.

$$P_i = \frac{K_f R_L}{(1+K_f R_L)} [P_C - \alpha \sigma (C_C - C_i)] + \frac{1}{(1+K_f R_L)} (P_{out} - P_P) \quad (8a)$$

$$C_i = \frac{1}{\frac{P_i + P_P - P_{out}}{R_L} - [\alpha \sigma (1 - \sigma) K_f C_C - PS]} [(1 - \sigma) K_f (P_C - P_i - \alpha \sigma C_C) + PS] C_C \quad (8b)$$

In particolare, la compliance interstiziale non compare mai nell'equazione (8a), indicando che essa non ha effetto sulla pressione del liquido interstiziale. Se misuriamo  $C_i$ , l'equazione restituisce immediatamente i valori di  $P_i$ , al contrario, se misuriamo  $P_i$ , otteniamo i valori di  $C_i$ . Sostituendo le due equazioni nella (4) e nella (5) si ricava l'espressione del flusso linfatico di liquido e proteine all'equilibrio.

$$J_V = J_L = \frac{K_f}{(1+K_f R_L)} [P_C - \alpha \sigma (C_C - C_i) + (P_P - P_{out})] \quad (9a)$$

$$J_{SV} = J_{SL} = \frac{(P_i + P_P - P_{out}) [(1 - \sigma) K_f (P_C - P_i - \alpha \sigma C_C) + PS] C_C}{P_i + P_P - P_{out} - [\alpha \sigma (1 - \sigma) K_f C_C - PS] R_L} \quad (9b)$$

## 2.2 Validazione del modello stazionario

Le formule risultanti, che rappresentano lo stato stazionario sono state utilizzate per predire i valori stazionari di  $P_i$  e  $C_i$  in diversi organi. Le stime risultanti sono state poi confrontate con i valori derivati sperimentalmente. I valori dei parametri ( $K_f, R_L, P_p, \sigma, \alpha$ ) sono stati raccolti da varie pubblicazioni che utilizzano simili modelli e condizioni sperimentali.

Tabella 1. Confronto tra i valori stimati della pressione del fluido interstiziale ( $P_i$ ) e la concentrazione interstiziale di proteine ( $C_i$ ) calcolati tramite l'eq. 8 e le previsioni riportate dei valori.

Animal Model	Intervention	Values of Other Parameters	Estimated		Measured	
			$P_i$	$C_i$	$P_i$	$C_i$
Dog lung	Control	$R_L = 76 \text{ mmHg} \cdot \text{min/ml} \cdot 100 \text{ g}$ (11), $K_f = 0.07 \text{ ml/min} \cdot \text{mmHg} \cdot 100 \text{ g}$ (16,30), $P_c = 7 \text{ mmHg}$ (22), $C_c = 58 \text{ mg/ml}$ (33), $\sigma = 0.62$ (48), $PS = 0.07 \text{ ml/min} \cdot 100 \text{ g}$ (48), $P_p = 20 \text{ mmHg}$ , $P_{out} = 2 \text{ mmHg}$	-2.2	31	-2.7 (42)	35 (33)
Dog skeletal muscle	Baseline	$R_L = 200 \text{ mmHg} \cdot \text{min/ml} \cdot 100 \text{ g}$ (38), $K_f = 0.007 \text{ ml/min} \cdot \text{mmHg} \cdot 100 \text{ g}$ (4), $P_c = 24$ (20), $C_c = 54 \text{ mg/ml}$ (58), $\sigma = 0.72$ (48), $PS = 0.03 \text{ ml/min} \cdot 100 \text{ g}$ (48), $P_p = 25 \text{ mmHg}$ , $P_{out} = 2 \text{ mmHg}$	-0.4	23.3	-0.1 (58)	22.4 (58)
Dog liver	Control	$R_L = 74 \text{ mmHg} \cdot \text{min/ml} \cdot 100 \text{ g}$ (38), $K_f = 0.3 \text{ ml/min} \cdot \text{mmHg} \cdot 100 \text{ g}$ (26), $P_c = 7 \text{ mmHg}$ (40), $C_c = 60 \text{ mg/ml}$ (40), $\sigma = 0.02$ (48), $PS = 1.6 \text{ ml/min} \cdot 100 \text{ g}$ (48), $P_p = 20 \text{ mmHg}$ , $P_{out} = 2 \text{ mmHg}$	5.9	59.8	6 (40)	56.7 (40)
Dog small intestine	Control	$R_L = 34 \text{ mmHg} \cdot \text{min/ml} \cdot 100 \text{ g}$ (38), $K_f = 0.37 \text{ ml/min} \cdot \text{mmHg} \cdot 100 \text{ g}$ (35), $P_c = 10$ (35), $C_c = 60 \text{ mg/ml}$ (40), $\sigma = 0.7$ (48), $PS = 0.09 \text{ ml/min} \cdot 100 \text{ g}$ (25), $P_p = 20 \text{ mmHg}$ , $P_{out} = 2 \text{ mmHg}$	-0.6	24.4	0 (36)	
Sheep lung	Baseline	$R_L = 100 \text{ mmHg} \cdot \text{min/ml} \cdot 100 \text{ g}$ (39), $K_f = 0.014 \text{ ml/min} \cdot \text{mmHg} \cdot 100 \text{ g}$ (18), $P_c = 14.34 \text{ mmHg}$ (18), $C_c = 74 \text{ mg/ml}$ (18), $\sigma = 0.48$ (48), $PS = 0.02 \text{ ml/min} \cdot 100 \text{ g}$ (48), $P_p = 20 \text{ mmHg}$ , $P_{out} = 2 \text{ mmHg}$	-2.4	42.5		44.7 (18)

La tabella 1 mostra il confronto tra la pressione del liquido interstiziale e stime di concentrazione di proteine con le misure sperimentali. I valori attesi della pressione del fluido interstiziale e della concentrazione di proteine allo stato stazionario sono stati valutati positivamente nel confronto con i valori misurati in tutti i modelli animali. La media degli errori attesi per le grandezze sono rispettivamente  $0.3 \pm 0.3 \text{ mmHg}$  e  $2.0 \pm 1.6 \text{ mg/ml}$ . Per determinare la sensibilità dei valori previsti per i parametri, l'effetto della variazione del 10% in ogni parametro è stato determinato dalla stima di  $J_L$  e  $P_i$  per il caso esemplare del polmone di cane. Mentre un parametro

è stato variato del 10%, i restanti parametri sono stati assunti costanti e uguali a quelli elencati in tabella 1.

Tabella 2. Effetto della variazione dei parametri di stima di  $J_L$  e  $P_i$  nel polmone del cane.

Parameter	Units	Change in $P_i$ mmHg	Change in $J_L$ ml/min·100 g
Microvascular pressure ( $P_c$ )	mmHg	0.55	0.0071
Plasma protein concentration ( $C_c$ )	mg/ml	-0.48	-0.0062
Microvascular filtration coefficient ( $K_f$ )	ml/min·mmHg·100 g	0.22	0.0028
Microvascular reflection coefficient ( $\sigma$ )		-0.99	-0.0130
Surface area-protein permeability product ( $PS$ )	ml/min·100 g	0.12	0.0015
Effective lymphatic resistance ( $R_L$ )	mmHg·min/ml·100 g	0.33	-0.0150
Lymphatic pumping pressure ( $P_p$ )	mmHg	-0.44	0.0205
Lymphatic outlet pressure ( $P_{out}$ )	mmHg	0.04	-0.0021

La sensibilità di  $P_i$  e  $J_L$  ad una variazione strutturale, nonché dei parametri di afflusso e deflusso. Viene valutato nel polmone del cane usando i valori dei parametri elencati nella Tabella 1. Mentre il parametro in questione è stato aumentato del 10%, gli altri parametri sono stati mantenuti costanti. Variazioni di  $J_L$  e  $P_i$  sono stati stimati utilizzando le eq. 8a e 9a.

### 2.3 Ruolo della compliance interstiziale nella regolazione della pressione e del volume del liquido interstiziale

La compliance  $C$ , è la grandezza che esprime la capacità che hanno i vasi, o qualsiasi materiale elastico, di dilatarsi sotto l'effetto di una pressione crescente, per poi restringersi restituendo il volume accumulato sotto l'effetto di una pressione decrescente. La compliance  $C$  di un vaso è funzione dell'elasticità delle sue pareti e costituisce una misura dei rapporti tra le variazioni di pressione e le variazioni di volume. È l'equivalente fluidodinamico della capacità elettrica.

Viene definita come segue:

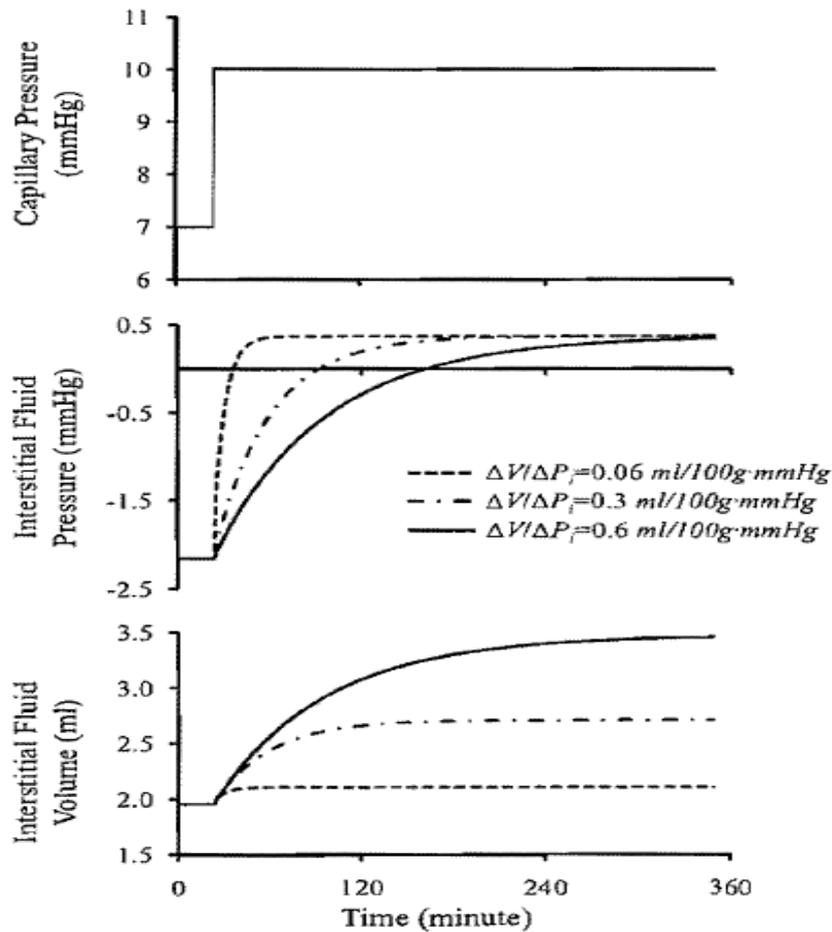
$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P}$$

in cui:

- $\Delta V$  è la variazione di volume;
- $\Delta P$  è la variazione della differenza tra la pressione interna e la pressione esterna

Per illustrare le capacità delle equazioni del modello di descrivere il comportamento transitorio riportato in letteratura, i dati sono stati digitalizzati da Lund et al. [44]. In sintesi i dati sono stati ottenuti da misurazioni di pressione del fluido interstiziale in tessuto ustionato. Per simulare questo esperimento, le equazioni (2) e (7) sono state risolte numericamente ipotizzando che la compliance interstiziale aumenti in modo lineare per 15 minuti fino a un plateau, usando gli stessi metodi sopra descritti per un aumento graduale di  $P_C$ . Sono stati scelti una serie di parametri per riprodurre la pressione del liquido interstiziale in stato costante, prima dell'infortunio, e il picco di pressione negativa del liquido interstiziale, dopo l'infortunio. La conseguente pressione del liquido interstiziale è stata tracciata in funzione del tempo.

Figura 2



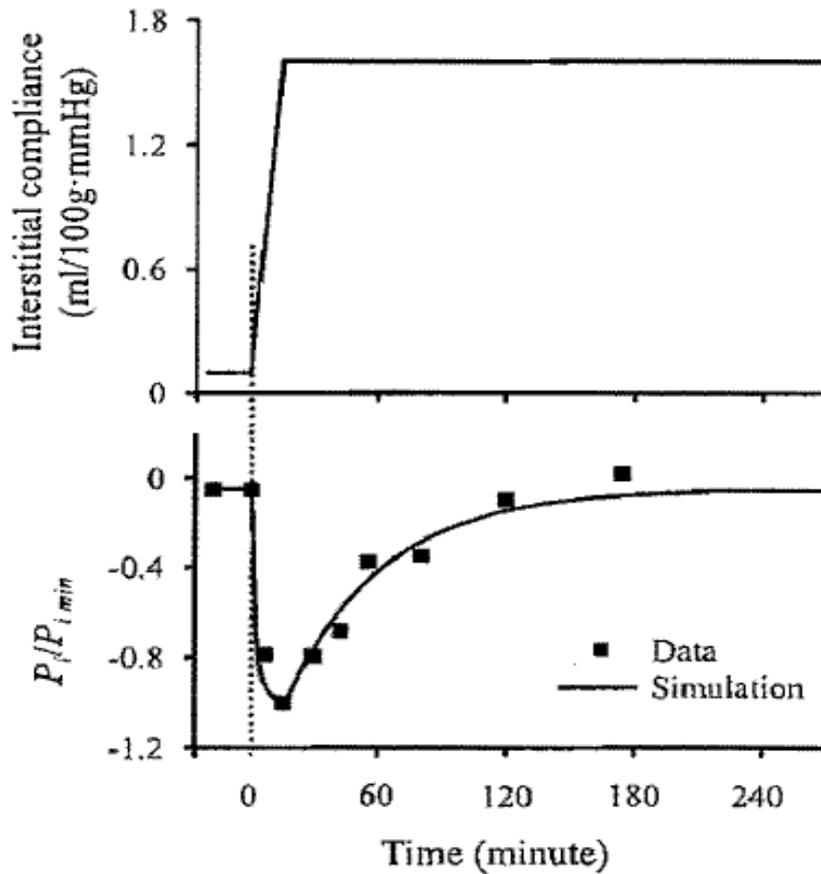
Variazioni di volume del liquido interstiziale e della pressione in risposta ad un cambiamento della pressione capillare. Sono illustrati i risultati ricavati numericamente dalle eq. 2-7, assumendo i valori dei parametri in Tabella 1. Valori di compliance interstiziale, ( $\Delta V/\Delta P$ ), influenzano la velocità alla quale il sistema raggiunge lo stato stazionario, così come lo stato stazionario del volume del fluido interstiziale. Un aumento di 10 volte del valore della compliance interstiziale determina un aumento di 6 volte del tempo necessario per raggiungere lo stato stazionario e un aumento di 1.5 del volume allo stato stazionario. La compliance interstiziale non ha alcun impatto sulla pressione del liquido interstiziale allo stato stazionario.

La figura 2 illustra i cambiamenti nella pressione del liquido interstiziale e nel volume del fluido come una funzione della compliance interstiziale determinata da un cambiamento radicale della pressione capillare.

I grafici presentano tre aspetti critici:

- Il primo è che la compliance interstiziale ha un maggior effetto sul volume del fluido interstiziale a regime stazionario. Un aumento di 10 volte nella compliance interstiziale da 0.06 a 0.6 ml/100 g\*mmHg del liquido aumenta il volume di circa 1.5 volte.
- In secondo luogo, il valore della compliance interstiziale determina quanto velocemente il sistema ritorna allo stato stazionario dopo una perturbazione. Un aumento del suo valore dallo 0.006 a 0.6 ml/100 g\*mmHg prolunga il tempo necessario per raggiungere lo stato stazionario dai 50 ai 300 minuti.
- In terzo luogo, la pressione del liquido interstiziale allo stato stazionario non è influenzata dalla compliance interstiziale.

Figura 3



I dati originariamente riportati in Lund et al. [44] sono stati derivati da una lesione 40% in ustione della pelle, che ha causato un aumento rapido della compliance interstiziale. La pressione risultante del fluido interstiziale ( $P_i$ ) scende rapidamente, e viene normalizzata dal picco di valore negativo ( $P_{i, \min} = -31$  mmHg). La curva rappresenta la simulazione degli effetti del rapido aumento della compliance interstiziale sulla pressione del fluido interstiziale trovata risolvendo numericamente le equazioni (2) e (7). L'insieme dei parametri del modello è stato scelto in modo tale che l'eq. (8) riproducesse il valore della pressione interstiziale del fluido allo stato stazionario prima delle ustioni (circa -1,6 mmHg). Il valore della compliance interstiziale è stato scelto per riprodurre il valore riportato di  $P_{i, \min}$ . I parametri del modello risultanti erano  $P_c = 16$  mmHg,  $C_c = 58$  mg/ml,  $\sigma = 0,62$ ,  $P_p = 20$  mmHg,  $P_{out} = 2$  mmHg,  $K_f = 0,02$  ml/100g\*mmHg\*min, e  $RL = 66$  mmHg\*min/ml\*g. Un aumento della compliance interstiziale provoca una rapida caduta della pressione del fluido interstiziale e un conseguente recupero dei valori di base a seguito di un corso di tempo esponenziale (costante di tempo = 45 min).

La figura 3 mostra il ruolo della compliance interstiziale durante il transitorio e allo stato stazionario sulla pressione del liquido interstiziale. Un aumento della compliance avviene con ustioni. La pressione del fluido interstiziale cala improvvisamente e recupera il valore iniziale esponenzialmente.

I risultati del modello sono qualitativamente simili ai dati derivati sperimentalmente da un infortunio con ustioni del 40%, in cui la pressione del liquido interstiziale scende bruscamente e recupera in modo esponenziale con una costante di tempo di circa 45 minuti, tornando ai valori iniziali [44].

#### **2.4 Riconcettualizzazione dell'equilibrio del liquido interstiziale con resistenza di afflusso e deflusso**

Dal presente lavoro sono derivate una serie di semplici formule algebriche che caratterizzano la pressione del liquido interstiziale e la regolazione delle proteine integrando semplici equazioni (2-7) usando i classici concetti di linearità e tempo invarianza [11,20]. Un singolare vantaggio di esprimere la pressione del liquido interstiziale con una funzione algebrica è il fatto di potersi ricondurre ad un nuovo modo di comprendere l'equilibrio del liquido interstiziale.

Figura 4A

Transient

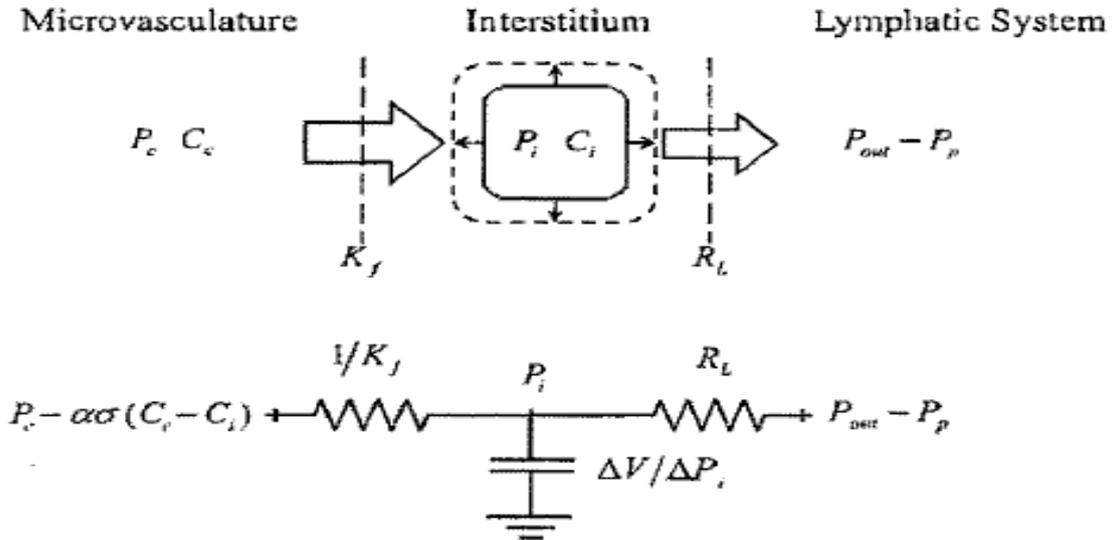
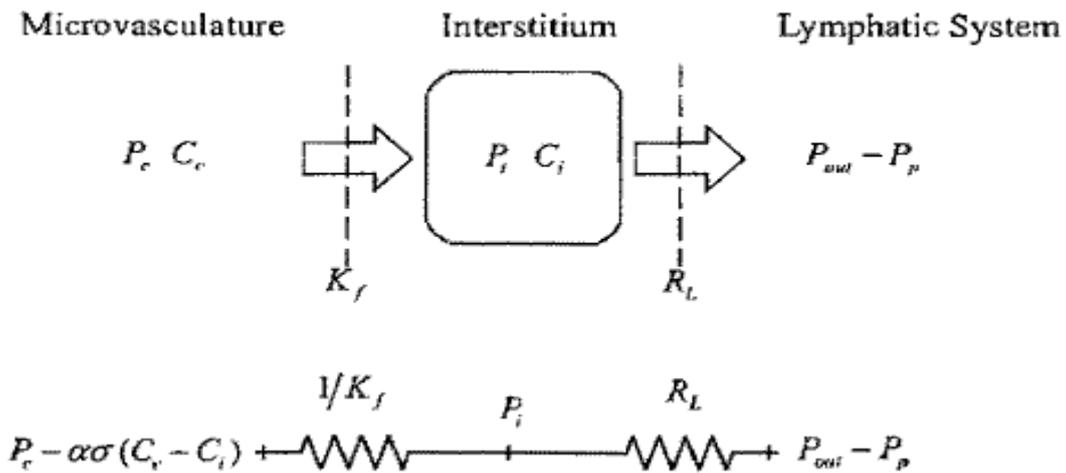


Figura 4B

Steady-state



Rappresentazione della regolazione della pressione del fluido interstiziale ( $P_i$ ) in termini sia di compartimenti del fluido sia di analogia elettrica sotto transitorio (A) e in condizioni di stato stazionario (B). Con l'analogia elettrica, la resistenza di ingresso è equivalente alla inverso del coefficiente di filtrazione microvascolare ( $1 / K_f$ ), la resistenza di uscita è equivalente alla resistenza linfatica effettiva ( $R_L$ ) e la capacità è equivalente alla complianza interstiziale ( $\Delta V /$

$\Delta P$ ). La tensione di ingresso effettiva è equivalente a  $[P_c - \alpha\sigma(C_c - C_i)]$  che dipende dalla pressione capillare ( $P_c$ ), il coefficiente di riflessione ( $\sigma$ ), e la differenza nelle concentrazioni proteiche capillari e interstiziale ( $C_c - C_i$ ). La tensione di uscita effettiva è equivalente a  $(P_{out} - P_p)$ , che dipende dalla pressione di uscita linfatico ( $P_{out}$ ) e la pressione effettiva della pompa linfatica ( $P_p$ ). In condizioni transitorie, quando l'afflusso interstiziale è maggiore del deflusso, aumenta il volume del fluido. In questo caso, la compliance interstiziale colpisce cambiamenti transitori di  $P_i$ . Allo stato stazionario l'afflusso è uguale al deflusso, e la compliance interstiziale cessa di influenzare  $P_i$ . In questo caso, il rapporto tra  $1/K_f$  ed  $R_L$  determina se  $P_i$  è vicina alla pressione microvascolare guida  $[P_c - \alpha\sigma(C_c - C_i)]$  o alla pressione linfatica effettiva di pompaggio ( $P_{out} - P_p$ ).

La figura 4 mostra la pressione del liquido interstiziale ( $P_i$ ) in termini di transitori di fluido in scomparti (fig.4A) e in condizioni di stato stazionario (fig.4B).

In condizioni transitorie, un afflusso interstiziale maggiore rispetto al deflusso conduce ad un aumento del liquido interstiziale. A regime, tuttavia, il volume interstiziale si mantiene costante, quindi il deflusso è uguale all'afflusso.

Il lavoro presente ha riformulato le equazioni che descrivono la filtrazione microvascolare come una relazione relativa ad una pressione microvascolare guida  $[(P_c - P_i) - \alpha\sigma(C_c - C_i)]$  e a un flusso in ingresso ( $J_V$ ). Questo rapporto si traduce in una resistenza efficace alla filtrazione microvascolare pari a  $1/K_f$ . Allo stesso modo, Drake caratterizzò il drenaggio linfatico come un rapporto relativo ad una pressione linfatica guida ( $P_i + P_p - P_{OUT}$ ) e ad un flusso in uscita ( $J_L$ ) con una resistenza linfatica efficace conseguente ( $R_L$ ). La compliance interstiziale in relazione alla pressione e al volume del liquido interstiziale determina la capacità interstiziale (eq.7b). Quando combinati, questi tre elementi, suggeriscono un'analogia con un circuito elettrico costituito da due resistenze in serie ed un condensatore in parallelo (fig.4A). Nel quale la pressione prende il posto della tensione e il flusso quello della corrente elettrica. La risultante  $R_L(\Delta V/(\Delta P_i))$  costante di tempo, fornisce una frequenza di taglio che è molto più bassa ( $\ll 1\text{Hz}$ ) rispetto alle oscillazioni sia della pressione capillare che linfatica, e ciò spiega in parte il motivo per il quale le pressioni interstiziali mancano tipicamente di pulsazione. In condizioni

di stato stazionario, l'analogia con il circuito elettrico degenera in un circuito costituito solo da due resistenze in serie perché  $(\Delta V/(\Delta P_i))$  tende a zero (fig.4B).

Sulla base di questa analogia elettrica nascono tre considerazioni:

- In primo luogo, il rapporto tra  $R_L$  e  $1/K_f$  determina la pressione del liquido interstiziale. Infatti i valori relativi di  $R_L$  e  $1/K_f$  determinano se  $P_i$  si avvicina alla pressione microvascolare guida ( $R_L > 1/K_f$ ) o alla pressione di pompaggio linfatico ( $R_L < 1/K_f$ ) in condizioni stazionarie (fig.4B);
- In secondo luogo, la somma di  $R_L$  e  $1/K_f$  determina la resistenza totale e quindi la portata linfatica. Diventa, pertanto, chiaro che la pressione del liquido interstiziale può essere regolata indipendentemente dal flusso microvascolare e linfatico;
- Infine, vi è una naturale analogia con la descrizione classica della regolazione della pressione capillare; in particolare essa è influenzata dal rapporto delle resistenze di afflusso (resistenza arteriolare,  $R_a$ ) e deflusso (resistenza venulare,  $R_v$ ) ma non dalla compliance (capillari).

## **2.5 La pressione del fluido interstiziale in stato stazionario non è influenzata dalla compliance interstiziale**

Le convinzioni che la compliance interstiziale influenzi la pressione del liquido interstiziale possono essere ricondotte al lavoro originale di Guyton. La compliance interstiziale, per definizione, riguarda una variazione di volume del liquido interstiziale rispetto ad una variazione di pressione del liquido. Di conseguenza, i cambiamenti transitori della pressione e del volume sono sensibili alla compliance interstiziale (fig.2). Tuttavia, il presente lavoro mostra che il valore assoluto della pressione del liquido interstiziale allo stato stazionario è solo una funzione della resistenza di afflusso e deflusso del liquido interstiziale ( $R_L$  e  $1/K_f$ ) e della pressione

guida  $\{[P_c - \alpha\sigma(C_c - C_i)] \text{ e } (P_{out} - P_p)\}$  (fig.4B). Una volta che la pressione del liquido interstiziale è determinata dal rapporto delle resistenze di afflusso e deflusso, la capacità di accumulo interstiziale, caratterizzata dalla relazione volume-pressione del liquido, determina il volume corrispondente. Anche se la complianza interstiziale non influenza la pressione del liquido dello stato stazionario, determina comunque il tempo necessario per raggiungere lo stato stazionario e il volume del fluido interstiziale (fig.2). Nel caso di edema polmonare, per esempio, una complianza interstiziale relativamente alta, può prolungare il tempo prima che la pressione interstiziale alveolare aumenti e provochi inondazioni. Anche se una complianza più elevata aumenta il guadagno edematico del polmone può fornire al sistema abbastanza tempo per risolvere la causa primaria dell'aumento del flusso microvascolare.

## 2.6 Validità delle ipotesi

Per giungere a soluzioni algebriche semplici (eq.8) sono state necessarie una serie di ipotesi. La prima parte include assunzioni che vengono comunemente fatte durante la modellazione microvascolare. Esso non tiene conto dell'effettiva anatomia del sistema linfatico e microvascolare; non tiene conto del fatto che il sistema circolatorio è a parametri distribuiti, per cui i valori di pressione non sono uguali in tutto il corpo. Concentrandosi sull'equilibrio del fluido dell'intero organo, il presupposto comune è che lo spazio interstiziale all'interno di un organo si comporti come un vano ben miscelato; non c'è gradiente di concentrazione di proteine attraverso lo spazio interstiziale [57]. Questo presupposto può comportare una sovrastima del flusso di liquidi e proteine attraverso le membrane microvascolari quando la filtrazione microvascolare è bassa. Tra le equazioni che descrivono l'afflusso interstiziale delle proteine, è stata scelta quella di Taylor-Granger (eq.3) [26], per la sua relativa semplicità e validità sperimentale. Questa equazione tende a

sovrastimare l'afflusso interstiziale di proteine quando si ha una bassa filtrazione microvascolare, ma si avvicina alla formulazione di Patlak-Hoffman [50] con un aumento del tasso di filtrazione. Anche se tutte le variabili caratterizzano la funzione microvascolare interstiziale e linfatica non hanno una funzione lineare, per chiarezza concettuale sono state rappresentate con equazioni lineari. La linearizzazione incorre ad un errore minimo se le variabili variano all'interno di un intervallo di valori di piccole dimensioni o se le relazioni sono considerate come lineari a tratti [6,9,32]. La relazione volume-pressione del liquido interstiziale è particolarmente non lineare, in quanto il rapporto aumenta notevolmente a livelli di idratazione superiore [29]. Questa particolare non linearità ha un impatto minimo sulle equazioni (8a) e (8b), mentre la compliance interstiziale non ha alcun effetto sulla pressione del liquido interstiziale allo stato stazionario. Può influenzare i cambiamenti transitori previsti nelle pressioni del liquido interstiziale, illustrati in fig.3, poiché esiste un ampio range di valori di pressione. Un altro assunto fondamentale di linearità è caratterizzato dalla descrizione della funzione linfatica stanziata da Drake [13]. Due parametri critici [3],  $R_L$  e  $R_p$ , sono stati derivati empiricamente e rappresentano la pendenza e l'intercetta della relazione linfatica deflusso-pressione. Com'è stato argomentato in precedenza,  $R_L$  e  $R_p$ , non rappresentano la resistenza fisica al flusso linfatico o la pressione sviluppata dalle contrazioni linfatiche. Recentemente è stato rilevato che  $R_L$  e  $R_p$  sono correlate sia alla contrattilità dei vasi linfatici e sia alla frequenza delle contrazioni. Inoltre è possibile che i tre parametri di resistenza linfatica efficace, coefficiente di filtrazione microvascolare e la compliance interstiziale, interagiscono tra loro con conseguente comportamento non lineare. Per esempio, cambiamenti nella compliance interstiziale, possono influenzare  $R_L$  alterando la connessione linfatica interstiziale. Tuttavia, per la corrente analisi lineare, si presume che questi tre parametri siano indipendenti l'uno dall'altro. Inoltre, i parametri che caratterizzano la filtrazione microvascolare sono solitamente indicati in unità per peso. Poiché i parametri linfatici caratterizzano il comportamento di interi organi, devono essere normalizzati a comunicare il loro complesso corrispondente. Forse, la migliore

indicazione del fatto che le ipotesi prese in considerazione nel presente lavoro sono ragionevoli è il confronto tra i risultati del modello e i dati riportati sperimentalmente.

## Capitolo 3

### Applicazione del modello a casi particolari

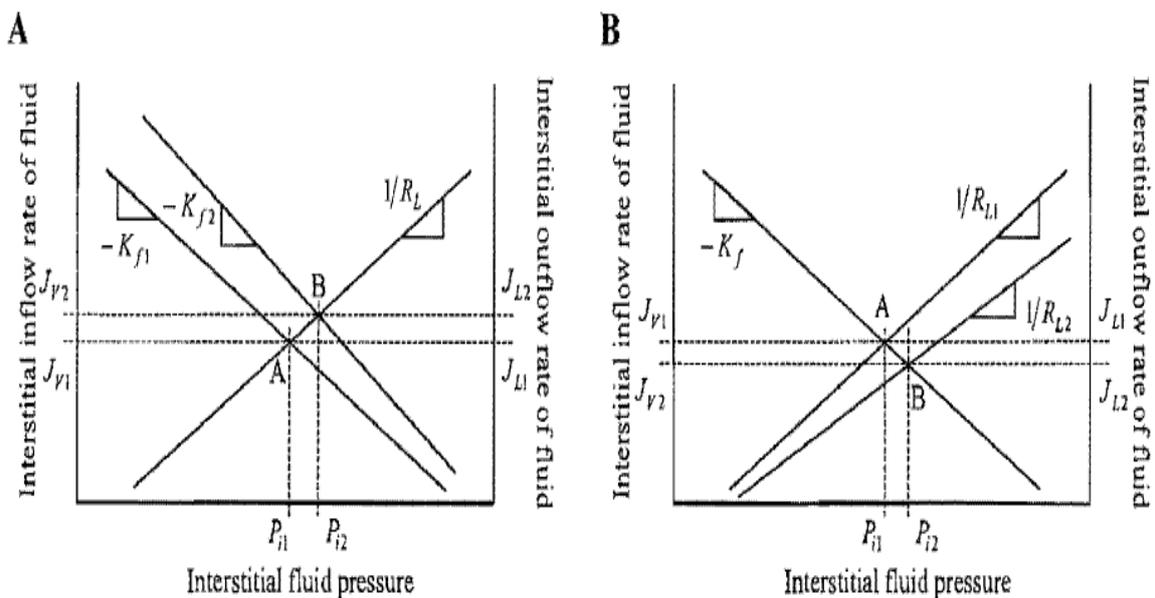
I dati riportati dal modello sono stati confrontati con i dati sperimentali derivanti sia da condizioni di stato stazionario sia di stato transitorio. Per illustrare la capacità delle equazioni algebriche (eqs.8) di prevedere la pressione del liquido interstiziale e la concentrazione di proteine, sono stati presi in considerazione i valori specifici dei parametri della tabella 1. Questo perché i valori dei parametri riportati dalla letteratura, derivanti da diversi modelli animali, sistemi di organi e interventi sperimentali, avevano gamme di valori relativamente grandi. Il fatto che i valori predetti della pressione del liquido interstiziale allo stato stazionario sono risultati paragonabili ai valori misurati in tabella, fornisce la più grande argomentazione per la validità delle ipotesi utilizzate nel presente lavoro. Inoltre, anche le soluzioni per lo stato transitorio, cambiando i valori della compliance interstiziale, risultano somiglianti ai valori riportati per ustioni. In particolare, le pressioni del fluido interstiziale sono scese bruscamente, aumentate esponenzialmente, con una costante di tempo di circa 45 minuti, e ritornate ai valori base. Piccole deviazioni persistenti dai valori iniziali, potrebbero essere il risultato di alterazioni dovute alla permeabilità microvascolare [2,47,53]. Possiamo prevedere che un piccolo aumento del coefficiente di filtrazione microvascolare, del 25%, o un aumento del 50% della resistenza linfatica efficace dopo ustione, si tradurrà in questa piccola deviazione della pressione del liquido interstiziale dello stato stazionario.

### 3.1 Grafica del punto di equilibrio per sottolineare i problemi complessi

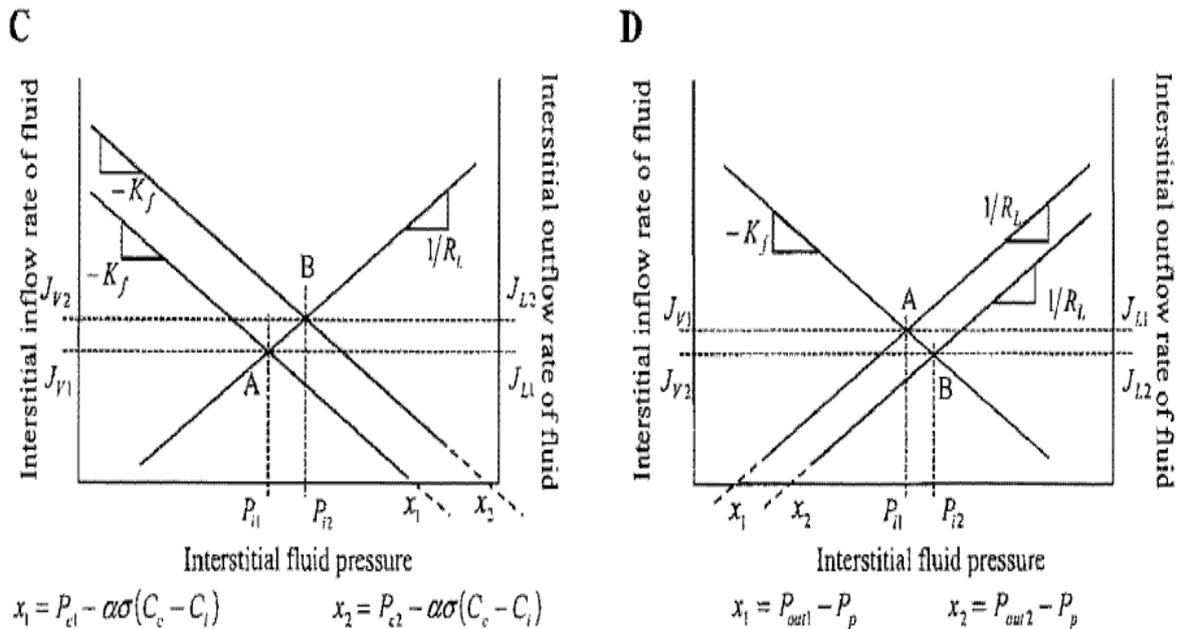
Le soluzioni algebriche sviluppate nel presente lavoro sono manifestazioni di una caratterizzazione del punto di equilibrio della regolazione delle proteine e del volume del liquido interstiziale. Come Guyton [29] ha usato un approccio con punto di equilibrio per caratterizzare l'interazione ritorno venoso-portata cardiaca [28,30], allo stesso modo è stata caratterizzata l'interazione microvascolare e linfatica come equilibrio tra l'afflusso e deflusso di liquido e proteine. Pur essendo, gli approcci numerici per risolvere le equazioni del flusso del fluido interstiziale, così potenti, la grafica del punto di equilibrio derivante dalle equazioni (2) e (4) è abbastanza semplice per risolvere comportamenti derivanti da cambiamenti di impedenza e intercetta.

Dai grafici seguenti si osserva l'effetto dovuto alla modifica di vari parametri e variabili sulla pressione del fluido interstiziale ( $P_i$ ), la filtrazione microvascolare del fluido ( $J_V$ ) e il deflusso linfatico ( $J_L$ ), tramite un cambiamento del punto di equilibrio da A a B. I pedici stanno ad indicare il cambiamento dallo stato 1 allo stato 2.

Figura 5



La figura 5A mostra che un aumento del coefficiente di filtrazione microvascolare da  $K_{f1}$  a  $K_{f2}$  sposta il punto di equilibrio da A a B, aumentando la pressione del liquido interstiziale da  $P_{i1}$  a  $P_{i2}$ . La figura 5B mostra che un aumento della resistenza linfatica da  $R_{L1}$  a  $R_{L2}$ , sposta il punto di equilibrio ottenendo una maggiore pressione del liquido interstiziale da  $P_{i1}$  a  $P_{i2}$ . Per esempio, nel caso del polmone del cane, un aumento del 10% di  $R_L$  fa aumentare  $P_i$  di 0,33 mmHg.

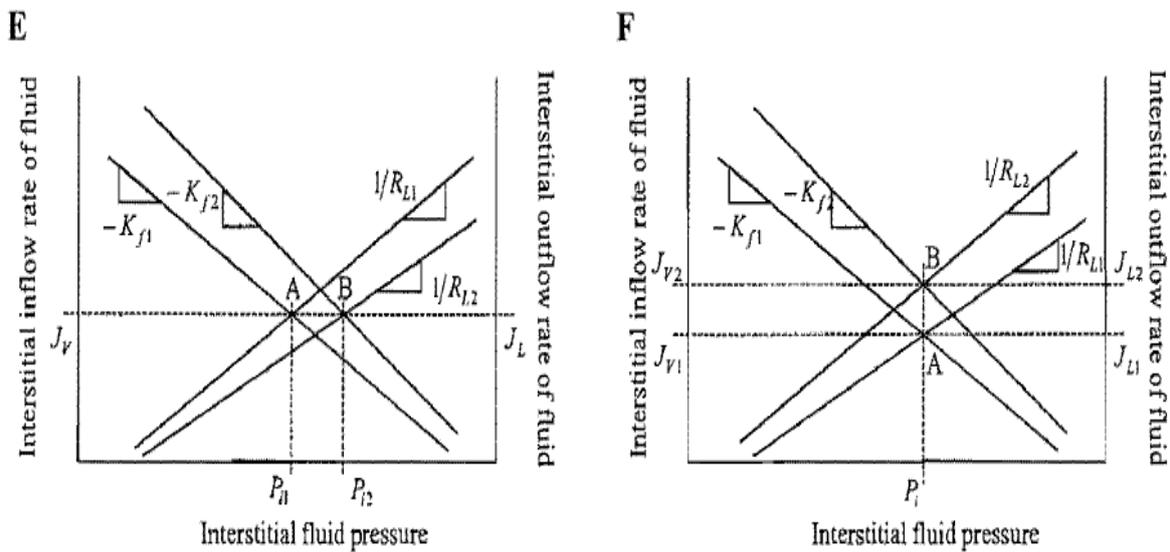


La figura 5C come un aumento della pressione capillare da  $P_{c1}$  a  $P_{c2}$  sposta l'intercetta x da  $x_1$  a  $x_2$  e il punto di equilibrio da A a B. Questo si traduce in una maggiore pressione microvascolare guida, cioè in un aumento della pressione del fluido interstiziale da  $P_{i1}$  a  $P_{i2}$  e del fluido linfatico. Come si può verificare sul polmone del cane, un aumentando della pressione capillare  $P_c$  del 10%, provoca un aumento di  $P_i$  di 0,55 mmHg. La figura 5D mostra che un aumento della pressione linfatica di uscita da  $P_{out1}$  a  $P_{out2}$  sposta l'intercetta x da  $x_1$  a  $x_2$ , e il punto di equilibrio da A a B e si traduce in un aumento della pressione del fluido interstiziale da  $P_{i1}$  a  $P_{i2}$ .

Questo approccio grafico rivela un altro importante comportamento che risulta dall'interazione di più parametri. Ad esempio, anche se il contemporaneo aumento di  $K_f$  e  $R_L$  sposta il punto di equilibrio da A a B e provoca un aumento della pressione

del liquido interstiziale da  $P_{i1}$  a  $P_{i2}$  e conseguentemente una variazione di volume, la filtrazione microvascolare  $J_V$  e linfatica  $J_L$  restano inalterate.

Nel caso del polmone del cane, l'aumento del 10% di  $K_f$  e del 2% di  $R_L$ , aumentano  $P_i$  dello 0,28 mmHg ma lasciano  $J_L$  invariata.



La pratica comune di utilizzare il flusso linfatico per stimare  $K_f$  [15] può quindi fallire, semplicemente perché i dati non contengono informazioni sufficienti per fare una tale determinazione. Al contrario, un aumento di  $K_f$ , se accompagnato da una diminuzione di  $R_L$ , provoca un aumento di  $J_V$  e  $J_L$  ma mantiene costante la pressione del fluido interstiziale. In effetti, il volume del liquido interstiziale rimarrebbe invariato se la compliance interstiziale rimanesse costante. Nel caso del polmone del cane, l'aumento del 10% di  $K_f$  e la diminuzione del 6% di  $R_L$ , determina un aumento di  $J_L$  di 0,013 ml/min\*100g lasciando costante  $P_i$ .

L'uso di approcci gravimetrici per dedurre cambiamenti in  $K_f$  dalle pressioni e volumi del liquido interstiziale allo stato di equilibrio sarebbe quindi fallito perché i dati non contengono abbastanza informazioni per fare una tale determinazione.

# Conclusioni

Il presente lavoro fornisce una caratterizzazione predittiva dell'equilibrio del liquido interstiziale, risultante dall'interazione della funzione microvascolare, interstiziale e linfatica. Questo approccio ha fatto passi avanti rispetto ai modelli di bilancio idrico in quanto:

1. Non trascura la funzione linfatica e il suo effetto sulla pressione del liquido interstiziale;
2. Non si assume costante la pressione del fluido interstiziale o la concentrazione di proteine;
3. Caratterizza il bilancio idrico in termini di resistenze per il trasporto del fluido;
4. Fornisce una soluzione algebrica generale in termini di parametri microvascolari e linfatici;
5. Fornisce uno strumento relativamente semplice di analisi in grado di rendere la fisica più accessibile ai fisiologi e i concetti di equilibrio del liquido interstiziale accessibili agli studenti che già hanno familiarità con il concetto di punto di equilibrio.

L'approccio risultante rivela che:

1. La pressione del liquido interstiziale allo stato stazionario dipende da una semplice moltiplicazione tra resistenza linfatica efficace e il coefficiente di filtrazione microvascolare;
2. La compliance interstiziale non ha effetto sulla pressione del liquido interstiziale allo stato stazionario;
3. La pressione interstiziale è più sensibile alle variazioni di pressione capillare rispetto alla pressione linfatica di uscita;

4. La pressione interstiziale è altrettanto sensibile, se non di più, alle variazioni di resistenza linfatica efficace rispetto al coefficiente di filtrazione microvascolare;
5. La prassi di usare il flusso linfatico per stimare il coefficiente di filtrazione microvascolare può non essere adeguata, perché i dati non contengono informazioni sufficienti per trarre le relative conclusioni.

Il presente lavoro presenta limiti che dovranno essere affrontati nel futuro lavoro. In primo luogo, tutti i parametri utilizzati per convalidare l'attuale modello non hanno avuto origine dallo stesso studio, ciò limita la capacità di identificare i limiti stessi del modello. In secondo luogo, la durata della formazione di edema è clinicamente rilevante e la ricerca del punto di equilibrio caratterizza solo la condizione di stato stazionario. In terzo luogo, la pratica comune di utilizzare una misurata concentrazione di proteine linfatiche per stimare la concentrazione interstiziale di proteine può portare il modello a sovrastimare il valore predetto di pressione del fluido interstiziale. Quarto, il modello non è ancora stato testato per esaminare come diverse specie presentano diverse strategie di adattamento per raggiungere un equilibrio ottimale dei fluidi. Infine, il modello matematico dell'approccio attuale non è ancora stato applicato nel rivalutare le conclusioni trattate da numerosi studi precedenti che utilizzano modelli matematici di bilancio idrico per interpretare i loro risultati sperimentali che sono meno completi e sono basati su ipotesi molto più problematiche.

# Appendice

## A.1 Forme non lineari dell'equazione del deflusso interstiziale di proteine

Sulla base dei processi irreversibili della termodinamica, Kedem e Katchalsky [38], caratterizzarono il trasporto di soluti attraverso omoporoze, membrane setacciatura (eq.A1). In questa formulazione i processi convettivi e diffusivi responsabili della fuoriuscita di proteine, sono considerati indipendenti l'uno dall'altro. D'altra parte, la formulazione di Patlak-Hoffman (eq.A2) considera simultanea la convezione e la diffusione di proteine attraverso la stessa via. Infatti, la loro formulazione generalizza quella hertziana per le membrane setacciatura, riconosciuta come il gold standard per membrane di non setacciatura. La formulazione di Manning (eq.A3) [45], è un'approssimazione lineare della formulazione di Patlak-Hoffman, assumendo  $J_V$  piccole. La formulazione di Taylor-Granger (eq.3) è l'approssimazione lineare empirica della formulazione di Katchalsky-Kedem. Fatta eccezione per quest'ultima, le due formulazioni ben accettate (eq.A2-A3), insieme a quella di Taylor-Granger [57], suggeriscono che  $C_L/C_i$  si avvicina a  $(1 - \sigma)$  con l'aumento di  $J_V$ , cioè la concentrazione linfatica di proteine  $C_L$  si avvicina ad un valore costante quando  $J_V$  è a valori elevati.

$$J_{SV}^{kk} = J_V(1 - \sigma) \frac{C_C - C_i}{\ln(C_C/C_i)} + (C_C + C_i)PS \quad (A1)$$

$$J_{SV}^{PH} = J_V(1 - \sigma) \frac{e^{\frac{J_V(1-\sigma)}{PS}(C_C - C_i)}}{e^{\frac{J_V(1-\sigma)}{PS}} - 1} \quad (A2)$$

$$J_{SV}^M = J_V(1 - \sigma) \frac{C_C + C_i}{2} + (C_C - C_i)PS \quad (A3)$$

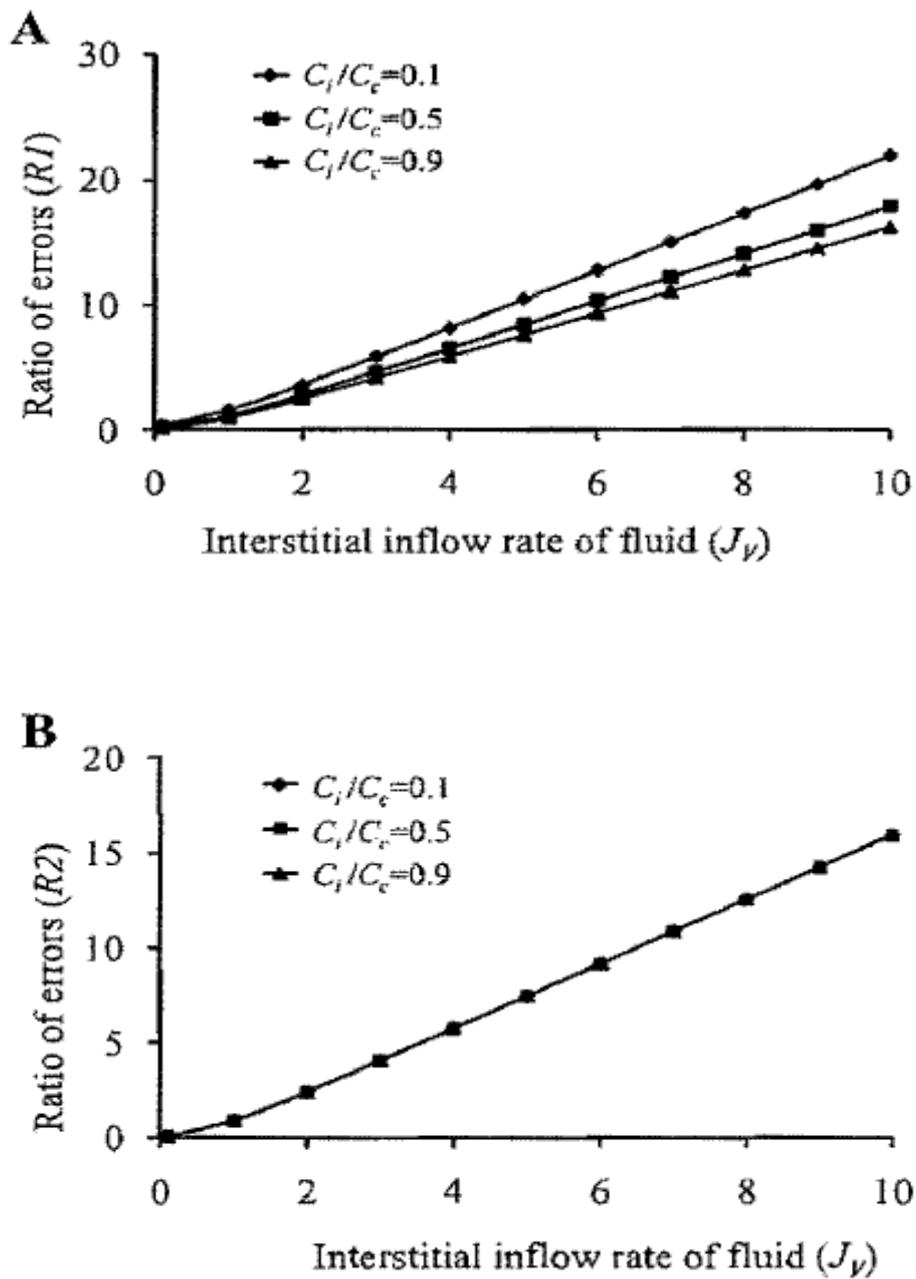
## A.2 Confronto tra soluzioni numeriche del deflusso interstiziale di proteine

Vari studi comparativi hanno riportato l'accuratezza delle diverse caratterizzazioni della fuoriuscita microvascolare di proteine. Uno di questi, quello di Bresler e Groome [8] comparò le formulazioni di Kedem-Katchalsky [38] e di Manning [45] a quella di Patlak-Hoffman [49]. La formulazione di Taylor-Granger [57] non è stata inclusa in tali studi. Nel presente lavoro, un approccio simile e quello di Bresler e Groome, è stato utilizzato per confrontare la precisione della stima di  $J_{VS}$  dalla formulazione di Taylor-Granger (eq.3) con quelle di Kedem-Katchalsky (eq.A1), Patlak-Hoffman (eq.A2) e Manning (eq.A3). Come riportato da Bresler e Groome, la formulazione di Patlak-Hoffman è considerata la "gold standard" a scopi di confronto. Il rapporto degli errori nella stima di  $J_{VS}$  è determinato dalle equazioni A4a A4b. L'eq. A4b confronta la formulazione di Taylor-Granger con quella di Manning.

$$R_1 = \frac{|J_{SV}^{PH} - J_{SV}^{kk}|}{|J_{SV}^{PH} - J_{SV}^{TG}|} \quad R_1 > 1 \quad (\text{A4a})$$

$$R_2 = \frac{|J_{SV}^{PH} - J_{SV}^M|}{|J_{SV}^{PH} - J_{SV}^{TG}|} \quad R_2 > 1 \quad (\text{A4b})$$

Figura 6



Il deflusso interstiziale di proteine ( $J_{SV}$ ), stimato con la formulazione di Taylor-Granger ( $J_{SV}^{TG}$ ) (eq. 3) [45], viene confrontato con il Kedem-Katchalsky formulazione ( $J_{SV}^{kk}$ ) (eq. A1) e la formulazione di Manning ( $J_{SV}^M$ ) (eq. A3) assumendo la Patlak-Hoffman formulazione ( $J_{SV}^{PH}$ ) (Eq. A2) come ideale. A: il rapporto degli errori è in funzione della  $J_V$  e confronta la formulazione di Taylor-Granger con quella di Kedem-Katchalsky, assumendo  $C_i / C_c = 0,1, 0,5$  e  $0,9$  ( $\sigma = 0,6$ ,  $PS = 0,118$ ). B: il rapporto degli errori, in funzione di  $J_V$ , confronta la formulazione di Taylor-Granger con quella di Manning assumendo  $C_i / C_c = 0,1, 0,5$  e  $0,9$  ( $\sigma =$

0.6, PS = 0.118).  $R_1$  diminuisce quando  $C_c$  si avvicina a  $C_i$ . Tuttavia, può essere verificato algebricamente, riducendo Eq. A4b, che  $R_2$  è indipendente da  $C_i$  o  $C_c$  e quindi non viene influenzato dalle variazioni di  $C_i / C_c$ . Il fatto che  $R_1 > 1$  e  $R_2 > 1$  con  $J_V$  crescente suggerisce che la formulazione di Taylor-Granger è la migliore approssimazione della formulazione di Patlak-Hoffman.

Le figure 6A e 6B illustrano rispettivamente  $R_1$  e  $R_2$  in funzione di  $J_V$  con  $C_i/C_c = 0.1, 0.5$  e  $0.9$  ( $\sigma=0.6$  e PS=0.118).  $R_1$  diminuisce quando  $C_i$  si approssima a  $C_c$ . Tuttavia, può essere dimostrato algebricamente riducendo l'eq. A4b, che  $R_2$  è indipendente da  $C_i$  o  $C_c$  e quindi non è influenzata da cambiamenti del rapporto  $C_i/C_c$ . La formulazione di Taylor-Granger è quella che, tra tutte le altre, approssima meglio la formulazione di Patlak-Hoffman con un aumento di  $J_V$ .

## Riferimenti bibliografici

1. **R. M. Dongaonkar, G. A. Laine, R. H. Stewart, and C. M. Quick.** Balance point characterization of interstitial fluid volume regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 297: R6-RI6, 2009.
2. **Arturson G, Mellander S.** Acute changes in capillary filtration and diffusion in experimental burn injury. *Acta Physiol Scand* 62: 457-463, 1964.
3. **Aukland K, Reed RK.** Interstitial-lymphatic mechanisms in the control of extracellular fluid volume. *Physiol Rev* 73: 1-78, 1993.
4. **Benoit JN, Zawieja DC, Goodman AH, Granger HJ.** Characterization of intact mesenteric lymphatic pump and its responsiveness to acute edema genie stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 257: H2059-H2069, 1989.
5. **Bentzer P, Kongstad L, Grande PO.** Capillary filtration coefficient is independent of number of perfused capillaries in cat skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H2697-H2706, 2001.
6. **Bert JL, Gyenge CC, Bowen BD, Reed RK, Lund T.** A model of fluid and solute exchange in the human: validation and implications. *Acta Physiol Scand* 170: 201-209, 2000.
7. **Brennan MJ, Miller LT.** Overview of treatment options and review of the current role and use of compression garments, intermittent pumps, and exercise in the management of lymphedema. *Cancer* 83: 2821-2827. 1998.
8. **Bresler EH, Groome LJ.** On equations for combined convective and diffusive transport of neutral solute across porous membranes. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 241: F469-F476, 1981.
9. **Chapple C, Bowen BD, Reed RK, Xie SL, Bert JL.** A model of human microvascular exchange: parameter estimation based on normals and nephrotics. *Comput Methods Programs Biomed* 41: 33-54, 1993.

10. **Cheville AL, McGarvey CL, Petrek JA, Russo SA, Taylor ME, Thiadens SR.** Lymphedema management. *Semin Radiat Oncol* 13: 290301,2003.
11. **Dongaonkar RM, Quick CM, Stewart RH, Drake RE, Cox CS Jr, Laine GA.** Edemagenic gain and interstitial fluid volume regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R651-R659, 2008.
12. **Drake RE, Adcock DK, Scott RL, Gabel JC.** Effect of outflow pressure upon lymph flow from dog lungs. *Circ Res* 50: 865-869, 1982.
13. **Drake RE, Allen SJ, Katz J, Gabel JC, Laine GA.** Equivalent circuit technique for lymph flow studies. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 251: HI090-HI094, 1986.
14. **Drake RE, Allen SJ, Williams JP, Laine GA, Gabel JC.** Lymph flow from edematous dog lungs. *J Appl Physiol* 62: 2416-2420, 1987.
15. **Drake RE, Laine GA.** Pulmonary microvascular permeability to fluid and macromolecules. *J Appl Physiol* 64: 487-501, 1988.
16. **Dunbar BS, Elk JR, Drake RE, Laine GA.** Intestinal lymphatic flow during portal venous hypertension. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 257: 094-098, 1989.
17. **Ehrbart IC, Granger WM, Hofman WF.** Filtration coefficient obtained by stepwise pressure elevation in isolated dog lung. *J Appl Physiol* 56: 862-867, 1984.
18. **Elk JR, Drake RE, Williams JP, Gabel JC, Laine GA.** Lymphatic function in the liver after hepatic venous pressure elevation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 254: 0748-0752, 1988.
19. **Erdmann AJ III, Vaughan TR Jr, Brigham KL, Woolverton WC, Staub Ne.** Effect of increased vascular pressure on lung fluid balance in unanesthetized sheep. *Ore Res* 37: 271-284, 1975.
20. **Franklin GF, Powell JD, Abbas EN.** *Feedback Control Dynamic Systems.* Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2005.

21. **Fronek K, Zweifach BW.** Microvascular pressure distribution in skeletal muscle and the effect of vasodilation. *Am J Physiol* 228: 791-796, 1975.
22. **Fung YC.** *Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues.* New York: Springer-Verlag, 1993.
23. **Gaar KA Jr, Taylor AE, Owens LJ, Guyton AC.** Pulmonary capillary pressure and filtration coefficient in the isolated perfused lung. *Am J Physiol* 233: 910-914, 1967.
24. **Gashev AA, Davis MJ, Zawieja DC.** Inhibition of the active lymph pump by flow in rat mesenteric lymphatics and thoracic duct. *J Physiol* 540: 1023-1037, 2002.
25. **Gashev AA, Zawieja DC.** Physiology of human lymphatic contractility: a historical perspective. *Lymphology* 34: 124-134, 2001
26. **Granger DN, Taylor AE.** Permeability of intestinal capillaries to endogenous macromolecules. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 238: H457-H464, 1980.
27. **Greenway CV, Lautt WW.** Effects of hepatic venous pressure on transsinusoidal fluid transfer in the liver of the anesthetized cat. *Circ Res* 26: 697-703, 1970.
28. **Guyton AC.** Determination of cardiac output by equating venous return curves with cardiac response curves. *Physiol Rev* 35: 123-129, 1955.
29. **Guyton AC.** Interstitial fluid pressure. II. Pressure-volume curves of interstitial space. *Circ Res* 16: 452-460, 1965.
30. **Guyton AC, Hall JE.** *Textbook of Medical Physiology.* Philadelphia, PA: Saunders, 2000.
31. **Guyton AC, Lindsey AW.** Effect of elevated left atrial pressure and decreased plasma protein concentration on the development of pulmonary edema. *Circ Res* 7: 649-657, 1959.
32. **Gyenge CC, Bowen BO, Reed RK, Bert JL.** Transport of fluid and solutes in the body. I. Formulation of a mathematical model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 277: H1215-H1227, 1999.

33. **Gyenge CC, Bowen BO, Reed RK, Bert JL.** Transport of fluid and solutes in the body. II. Model validation and implications. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 277: H 1 228-H1240, 1999.
34. **Hara N, Nagashlma A, Yoshida T, Furukawa T, Inokuchi K.** Effect of decreased plasma colloid osmotic pressure on development of pulmonary edema in dogs. *Jpn J Surg* II: 203-208, 1981.
35. **Hargens AR, Zweifach BW.** Contractile stimuli in collecting lymph vessels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 233: H57-H65, 1977.
36. **Johnson PC, Hanson KM.** Capillary filtration in the small intestine of the dog. *Circ Res* 19: 766-773, 1966.
37. **Johnson PC, Richardson DR.** The influence of venous pressure on filtration forces in the intestine. *Microvasc Res* 7: 296-306, 1974.
38. **Kedem O, Katchalsky A.** Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes. *Biochim Biophys Acta* 27: 229-246, 1958.
39. **Laine GA, ADen SJ, Katz J, Gabel JC, Drake RE.** Outflow pressure reduces lymph flow rate from various tissues. *Microvasc Res* 33: 135-142, 1987.
40. **Laine GA, Drake RE, Zavisca FG, Gabel JC.** Effect of lymphatic cannula outflow height on lung microvascular permeability estimations. *J App/Physiol* 57: 1412-1416, 1984.
41. **Laine GA, Hall JT, Laine SH, Granger J.** Transsinusoidal fluid dynamics in canine liver during venous hypertension. *Circ Res* 45: 317-323. 1979.
42. **Landis EM.** Micro-injection studies of capillary permeability: II. The relation between capillary pressure and the rate at which fluid passes through the walls of single capillaries. *Am J Physiol* 81: 124-142, 1927.
43. **Levick JR.** Capillary filtration-absorption balance reconsidered in light of dynamic extravascular factors. *Exp Physiol* 76: 825-857, 1991.

44. **Lund T, Wiig H, Reed RK.** Acute post burn edema: role of strongly negative interstitial fluid pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 255: HI069-HI074,1988.
45. **Manning GS, Bresler EH, Wendt RP.** Irreversible thermodynamics and flow across membranes. *Science* 166: 1438, 1969.
46. **McHale NG, Roddle IC.** The effect of transmural pressure on pumping activity in isolated bovine lymphatic vessels. *J Physiol* 261: 255-269, 1976.
47. **McNamee JE.** Histamine decreases selectivity of sheep lung blood- lymph barrier. *J Appl Physiol* 54: 914-918, 1983.
48. **Pappenheimer JR, Soto-Rivera A.** Effective osmotic pressure of the plasma proteins and other quantities associated with the capillary circulation in the hindlimbs of cats and dogs. *Am J Physiol* 152: 471-491. 1948.
49. **Parker JC, Perry MA, Taylor AE.** Permeability of the microvascular barrier. In: *Edema*, edited by Staub NC and Taylor AE, New York: Raven, 1984, p. 143-187.
50. **Patlak CS, Goldstein DA, Hoffrnan JF.** The flow of solute and solvent across a two-membrane system. *J Theor Biol* 5: 426-442. 1963.
51. **Quick CM, Venugopal AM, Dongaonkar RM, Laine GA, Stewart RH.** First-order approximation for the pressure-flow relationship of spontaneously contracting lymphangions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: H2144-H2149.2008.
52. **Reed RK, Wiig H.** Compliance of the interstitial space in rats. 1. Studies on hindlimb skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 113: 297-305. 1981.
53. **Reed RK, Woie K, Rubin K.** Integrins and control of interstitial fluid pressure. *News Physiol Sci* 12: 42-49, 1997.
54. **Starling EH.** On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. *J Physiol* 19: 312-326, 1896.
55. **Staub Ne.** Pulmonary edema. *Physiol Rev* 54: 678-811, 1974.

56. **Stewart RH, Laine GA.** Flow in lymphatic networks: interaction between hepatic and intestinal lymph vessels. *Microcirculation* 8: 221-227,2001.
57. **Taylor AE, Granger DN.** Exchange of macromolecules across the microcirculation. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. Microcirculation*, Bethesda, MD: Am Physiol Soc, 1984, sect. 2 vol. IV, pt. I, chapt. II, p. 467-520.
58. **Wehster HL.** Colloid osmotic pressure: theoretical aspects and background. *Clin Perinatol* 9: 505-521, 1982.
59. **Wiig H, Reed RK.** Volume-pressure relationship (compliance) of interstitium in dog skin and muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 253: H291-H298, 1987.

# Ringraziamenti

Finalmente è arrivato questo momento anche per me!!

Vorrei ringraziare il Professor Gianni Gnudi per avermi dato la possibilità di svolgere questo lavoro e tutti coloro che mi sono stati vicino in questi lunghi e interminabili anni. Un grazie speciale alla mia famiglia: mamma Emanuela, babbo Alberto e fratello Alfredo, che hanno permesso tutto questo, sono la mia forza e mi sono vicino ogni giorno. I miei compagni di corso: Alberto, Paola, Silvia, Gabriele e Francesco, con i quali ho condiviso fatiche, frustrazioni e gioie. Il mio ragazzo Giacomo per avermi sopportato a lungo e sempre coccolato. Le mia amiche d'infanzia Claudia, Sara G., Virginia, Chiara G. e il mio amico Mattia sui quali posso sempre contare. Un grazie particolare a Giulia per avere una pazienza così infinita.

I miei allenatori; Stefano Gambelli, Massimo Pantieri e Luca Nico, “la Babj”, presidente che tutte le squadre invidiano, Giancarlo Sorbini per aver creato il meraviglioso mondo della Snoopy pallavolo e le mie insostituibili compagne di squadra. In particolare Sara A., Federica e Arianna alle quali dedico tutti i miei sorrisi, le amiche perfette con cui condividere una vita. Infine il gruppo Avis, con cui trascorro estati indimenticabili.

Un grazie a tutte le persone che mi fanno sentire viva e riempiono la mia vita di continue emozioni.