

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
SEDE DI CESENA
SECONDA FACOLTÀ DI INGEGNERIA CON SEDE A CESENA
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

TITOLO DELL'ELABORATO

**Valutazione non invasiva della funzione
vascolare periferica**

Elaborato in

Bioingegneria

Relatore

Prof. Gianni Gnudi

Presentata da

Maikol Cavallari

Sessione II

Anno Accademico 2011/2012

INDICE

Introduzione	1
1. Circolo e microcircolo	5
1.1 Fisiologia del sistema cardiocircolatorio	5
1.1.1 Il cuore	7
1.1.2 I vasi	8
1.1.3 Il sangue e il trasporto dell'ossigeno	9
1.2 Struttura del microcircolo	13
1.2.1 Arteriole, metarteriole anastomosi	13
1.3 La funzione vascolare periferica	14
1.3.1 Controllo nervoso e autoregolazione	15
1.3.2 Controllo endoteliale	15
1.3.3 Malattia vascolare periferica	16
2. Tecniche e tecnologie usate	19
2.1 Flussimetria Laser-Doppler	19
2.2 Ossimetria transcutanea	20
2.3 Tecnologie usate: Perimed - Periflux 5000	23
3. Metodica e modello	27
3.1 Il metodo applicato	27
3.2 Il modello monocompartimentale	29

Indice

4. Risultati e discussione	35
4.1 Risultati da strumentazione	35
4.2 Risultati dal modello	36
4.3 Discussione	39
Conclusioni	43
Riferimenti	45
Ringraziamenti	47

INTRODUZIONE

Ogni giorno il progredire della tecnologia e della scienza permette all'uomo di compiere notevoli passi avanti nello studio del proprio corpo. Ad oggi si può affermare che l'area scientifica riguardante la fisiologia e i meccanismi che regolano il sistema circolatorio sia ben esplorata dagli studiosi. La continua evoluzione della tecnologia offre sistemi sempre più avanzati per operare sul cuore e sui grandi vasi, sia a livello di analisi che a livello di terapia. La funzione vascolare periferica, ed in particolare la sua proprietà di adattabilità, rimane però difficile da analizzare. Questa sua complessa dinamica è fondamentale per la gestione di vari processi correlati tra loro. Esempi propri della capacità adattativa della circolazione periferica sono la regolazione del metabolismo tissutale, la resistenza periferica, il controllo della pressione emodinamica arteriosa e l'omeotermia.

Per lo studio della funzione vascolare periferica sono state sviluppate diverse tecnologie di analisi non invasiva, ad esempio: Videocapillaroscopia, Fotopleletismografia e Flussimetria Laser Doppler (LDF). Queste tecniche tuttavia hanno in comune il grande difetto di non dare risultati utili a livello diagnostico, a causa delle diversità nella microcircolazione individuale e della variabilità nello spazio in esame. Per questo in genere, utilizzando queste tecniche singolarmente, è difficile ottenere risultati con un significato fisiologico diretto. Nella pratica clinica l'utilizzo di queste tecniche è limitato a specifici contesti di intervento, come condizioni patologiche (es. diabete) e le relative decisioni cliniche (es. amputazione), o per testare farmaci vasoattivi e antiangiogenici nonché medicazioni per ferite.

Per fare in modo che queste indagini sulla microcircolazione forniscano più informazioni e di miglior qualità vengono

Introduzione

frequentemente utilizzate anche tecniche di sollecitazione sul sistema, per conferire una dinamica alle variabili studiate. Si tratta, infatti, di manovre che portano stress controllati di varia natura (meccanica, termica, chimica ecc.) sulla zona da analizzare. Le più utilizzate sono: la modifica della postura del corpo, l'iperemia reattiva (aumento istantaneo del flusso sanguigno) ottenuta da un'occlusione post-sistolica con conseguente rilascio in una grande arteria, il riscaldamento superficiale a livello locale, oppure la variazione della distribuzione di ossigeno (sempre a livello locale) respirando una miscela di gas satura di O₂. Grazie a queste tecniche si innesca un processo dinamico di adattamento vascolare, che consente di prelevare in maniera continua e real-time variabili diverse durante il test.

Per analizzare i dati acquisiti si utilizzano i classici concetti della cinetica dei farmaci, sfruttando modelli compartimentali e le relative variabili di ingresso e uscita. Tuttavia i dati sul microcircolo ottenuti unicamente da indicatori non invasivi, come la pressione parziale di ossigeno transcutanea (tcpO₂) e la LDF, sono spesso scarsi e incapaci di discriminare tra fisiologico e patologico.

Questa tesi di laurea è incentrata sullo studio eseguito nel 2011 da Luis Monteiro Rodrigues, Pedro Contreiras Pinto (Universidade Lusofona, Lisbona) e da Joachim W. Fluhr (Charité University Clinic, Berlino). [1] In questo studio si è cercato di ottenere uno strumento di facile utilizzo per quantificare in modo rigoroso la funzione vascolare periferica. Per identificare le costanti cinetiche del modello è stata utilizzata una combinazione dei dati provenienti da due analisi non invasive di tcpO₂ e di LDF.

L'elaborato è suddiviso in quattro capitoli, il primo dei quali descrive la fisiologia dell'apparato cardiocircolatorio soffermandosi sul microcircolo, che è l'oggetto dello studio.

Introduzione

Il secondo capitolo espone le tecniche non invasive e la macchina utilizzata per la loro rilevazione, ovvero la PeriFlux 5000 della Perimed (Svezia).

Il terzo capitolo sviluppa la metodica e il modello dello studio. In particolare questo capitolo è composto da un primo paragrafo dove si descrive il metodo applicato, i gruppi nei quali sono stati divisi i volontari e le varie fasi di sperimentazione. Il secondo paragrafo del terzo capitolo è incentrato completamente sul modello monocompartimentale implementato e mostra le equazioni che lo governano.

I risultati sperimentali, provenienti dalle sonde di tcpO_2 e di LDF, e quelli provenienti dal modello, con le relative discussioni, sono contenuti nel quarto capitolo.

L'elaborato si chiude con le conclusioni e l'elenco dei riferimenti.

1. CIRCOLO E MICROCIRCOLO

Questo capitolo intende dare una visione generale del sistema circolatorio e in particolare della circolazione periferica. Lo studio in questione, propone una caratterizzazione del microcircolo e delle sue dinamiche, attraverso un modello monocompartimentale caratterizzato da variabili di microcircolo, ovvero $tcpO_2$ e flusso ematico.

1.1 Fisiologia del sistema cardiocircolatorio

Il sistema cardiocircolatorio è composto da un circuito chiuso di vasi e da una pompa, il cuore, che spinge il sangue all'interno di questo circuito. I vasi sono raggruppati in due sistemi in serie: la circolazione sistemica e la circolazione polmonare.

La funzione principale dell'apparato cardiovascolare è il trasporto di sostanze all'interno dell'organismo. Il circolo sistemico, attraverso le arterie, trasporta il sangue ossigenato e le sostanze nutritive in ogni distretto del corpo, asportando le sostanze di rifiuto attraverso le vene. Il circolo polmonare porta il sangue povero di ossigeno ai polmoni tramite le arterie polmonari, e torna al cuore (sinistro) ricco di ossigeno tramite le vene polmonari (Figura 1.1). In particolare l'ossigeno entra nell'organismo tramite gli alveoli polmonari e per diffusione il sangue cede CO_2 e acquista O_2 , tornando al cuore sinistro ossigenato. Le sostanze nutritive provenienti dalla digestione vengono immesse nel circolo sistemico a livello del tubo digerente e del fegato, mentre l'eliminazione delle sostanze di rifiuto avviene a livello dei reni e dell'ultimo tratto del tubo digerente. [2]

Il sangue, oltre alle sostanze prettamente nutritive come glucosio, acidi grassi, amminoacidi, vitamine e acqua trasporta anche gli ormoni secreti dalle ghiandole endocrine, indispensabili per la regolazione del

Capitolo 1: Circolo e microcircolo

metabolismo cellulare. Infine grazie all'apparato circolatorio i globuli bianchi e gli anticorpi viaggiano in ogni distretto del corpo in maniera rapida, per intercettare agenti estranei e per raggiungere le zone in cui sono presenti infezioni e altre condizioni non fisiologiche per ristabilire la funzione normale. [3]

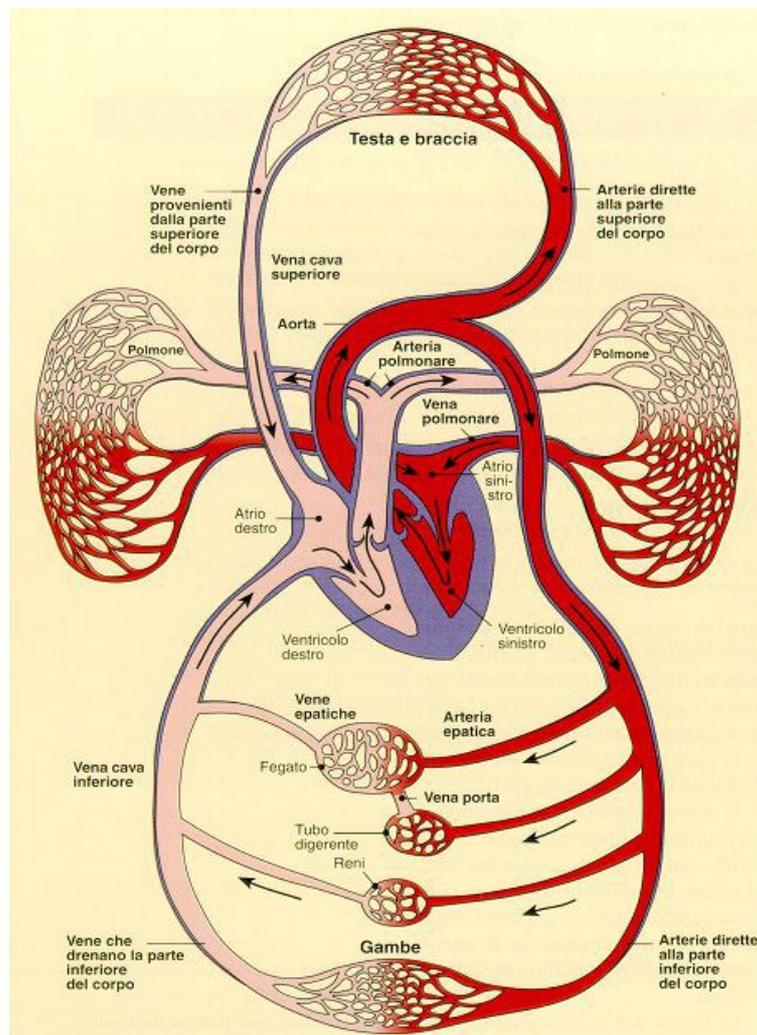


Figura 1.1: Apparato Cardiocircolatorio. [4]

1.1.1 Il cuore

Il cuore è un organo cavo suddiviso da una parete centrale, il setto, in cuore destro e cuore sinistro. Entrambe le parti sono pompe muscolari intermittenti, che accolgono il sangue durante una fase di rilassamento (diastole) e lo espellono con una fase di contrazione (sistole). Le due pompe sono ulteriormente divise in due camere: un atrio e un ventricolo.

Nell'atrio destro in diastole arriva il sangue proveniente dalla vena cava superiore e dalla vena cava inferiore, la prima porta il sangue venoso da arti superiori e capo, la seconda dal resto del corpo. Durante la sistole dell'atrio destro il sangue passa attraverso la valvola tricuspide ed entra nel ventricolo in diastole. Quando il ventricolo si contrae si apre la valvola polmonare e il sangue attraverso l'arteria polmonare arriva ai polmoni per attuare lo scambio gassoso. A questo punto il sangue ricco di ossigeno torna al cuore, ma nella parte sinistra. Attraverso le vene polmonari arriva all'atrio sinistro in diastole, in seguito attraverso la valvola mitrale scende nel ventricolo. Infine il ventricolo sinistro contraendosi apre la valvola aortica spingendo il sangue nella circolazione sistemica (Figura 1.2). [2]

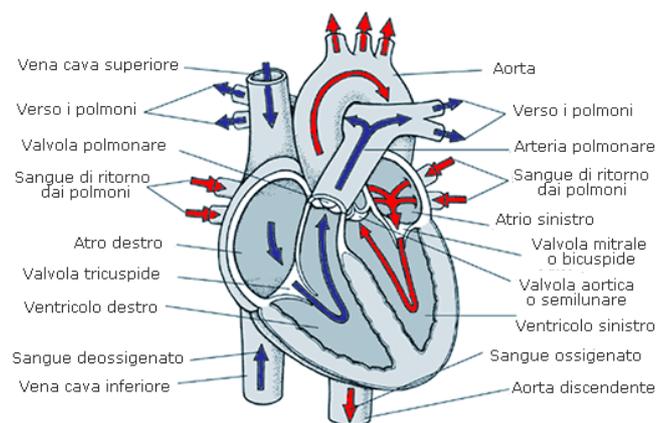


Figura 1.2: Il cuore. Le frecce in rosso corrispondono al flusso di sangue arterioso, quelle in blu al flusso di sangue venoso. [5]

Grazie alle valvole cardiache e a tante altre valvole simili situate lungo le vene, il sangue fluisce nei vasi in un'unica direzione. Nelle arterie, si va dal cuore sinistro alla periferia, e nelle vene dalla periferia al cuore destro. Eccezioni a questa regola sono date dalla vena Porta, che trasporta il sangue che esce dall'apparato gastrointestinale al fegato (Figura 1.1, pag. 5), e la circolazione dei bronchi, dove il sangue venoso proveniente da essi torna direttamente all'atrio sinistro attraverso le vene polmonari, invece che fluire nell'atrio destro attraverso le vene cave. [3]

1.1.2 I vasi

I vasi sanguigni sono i tubi nei quali scorre il sangue. Essi hanno pareti dalla composizione variabile a seconda del tipo di vaso e della sua dimensione. In generale le pareti sono costituite da tessuto connettivo elastico, muscolo liscio, e tessuto connettivo fibroso (Figura 1.3). L'aorta e le arterie principali, rispetto alle vene, possiedono più strati di muscolo liscio e tessuto connettivo elastico. Le vene d'altro canto sono più numerose e presentano un diametro maggiore. Le loro pareti sono più sottili rispetto a quelle delle arterie, e con minor quantità di tessuto elastico, di conseguenza si espandono più facilmente quando sono piene di sangue.

La contrazione e il rilassamento del muscolo liscio vascolare determinano rispettivamente la vasocostrizione e la vasodilatazione. Nelle arteriole, in particolare, questo fenomeno è regolato sia da fattori locali, quali la concentrazione di ossigeno del tessuto, sia da meccanismi di controllo omeostatici. Il tessuto connettivo elastico ha il ruolo di conferire compliance alla rete, smorzando la pulsatilità in favore di un flusso regolare.

Capitolo 1: Circolo e microcircolo

L'insieme del cuore e dei vasi ematici maggiori viene di norma chiamato circolo mentre l'insieme dei microvasi, di dimensioni inferiori a 100 μm , tra cui capillari, arteriole, metarteriole e venule prende il nome di microcircolo. [2]

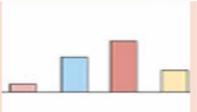
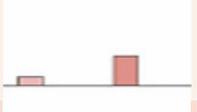
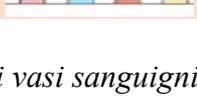
	Diametro medio	Spessore medio della parete	Endoteilo Tessuto elastico Muscolo liscio Tessuto fibroso	
Arterie	4,0 mm	1,0 mm		
Arteriole	30 μm	6,0 μm		
Capillari	8,0 μm	5,0 μm		
Venule	20,0 μm	1,0 μm		
Vene	5,0 mm	0,5 mm		

Figura 1.3. Struttura dei vasi sanguigni. [6]

1.1.3 Il Sangue e il trasporto dell'ossigeno

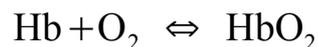
Il sangue è un fluido costituito da una parte cellulare e una plasmatica. La parte cellulare è costituita dai globuli rossi (per più del 99%), da globuli bianchi e da piastrine.

La percentuale che esprime il rapporto tra il volume cellulare e il volume totale del sangue è definito ematocrito. Il suo valore fisiologico è 42 per gli uomini e 38 per le donne, ma può subire variazioni dettate da anemia, attività fisica o altitudine. L'ematocrito condiziona la viscosità del sangue, infatti maggiore è il rapporto tra il volume cellulare e il volume totale, maggiore sarà l'attrito tra strati

adiacenti del sangue. La viscosità del plasma è circa 1,5 volte quella dell'acqua, mentre la viscosità del sangue intero è 3 o 4 volte superiore a quella dell'acqua. Grazie a questo fluido il corpo riesce a portare rapidamente sostanze utili e asportare sostanze di scarto in tutti i distretti del corpo.

Uno degli elementi più importanti per la vita delle cellule è l'ossigeno. La solubilità di questo gas in una soluzione acquosa (come il sangue) è estremamente bassa, dell'ordine dei 3 ml su un litro di sangue arterioso, una quantità assolutamente insufficiente. La maggior parte del trasporto dell'ossigeno infatti avviene grazie al legame tra il gas e l'emoglobina contenuta nei globuli rossi. [3]

Questa molecola è una grande proteina complessa, la cui struttura quaternaria è caratterizzata da quattro catene proteiche globulari, ognuna avvolta attorno ad un gruppo eme che contiene ferro. Ognuno dei quattro gruppi eme è caratterizzato da un atomo centrale di ferro, il quale si lega reversibilmente ad una molecola di ossigeno. Per questo motivo ogni molecola di emoglobina si può legare ad un massimo di quattro molecole di ossigeno. Il legame ossigeno-emoglobina è debole, e segue la legge di azione di massa:



Se la concentrazione di ossigeno aumenta, questa relazione di legame si sposta verso destra e aumenta la quantità di ossigeno legata all'emoglobina. Se la concentrazione di ossigeno diminuisce la relazione si sposta verso sinistra, l'emoglobina rilascia l'ossigeno al plasma e quindi ai tessuti circostanti. A causa della legge di azione di massa, la quantità di ossigeno legato all'emoglobina dipende principalmente dalla $p\text{O}_2$ del plasma che circonda i globuli rossi.

A livello dei polmoni, quando l'aria nuova entra negli alveoli ha pressione parziale di ossigeno elevata (100 mmHg per l'aria

atmosferica normale), mentre nel sangue venoso si ha una pO_2 bassa (circa 40 mmHg). Questa differenza di pressione induce la diffusione dell'ossigeno nel plasma, e quindi negli eritrociti, dove si lega all'emoglobina.

Quando il sangue arterioso raggiunge il microcircolo il processo si inverte. L'ossigeno disciolto nel plasma diffonde fuori dai capillari sistemici verso le cellule dei tessuti e la risultante riduzione di pO_2 plasmatica altera l'equilibrio della relazione di legame ossigeno-emoglobina, spostandosi a sinistra (Figura 1.4). [2]

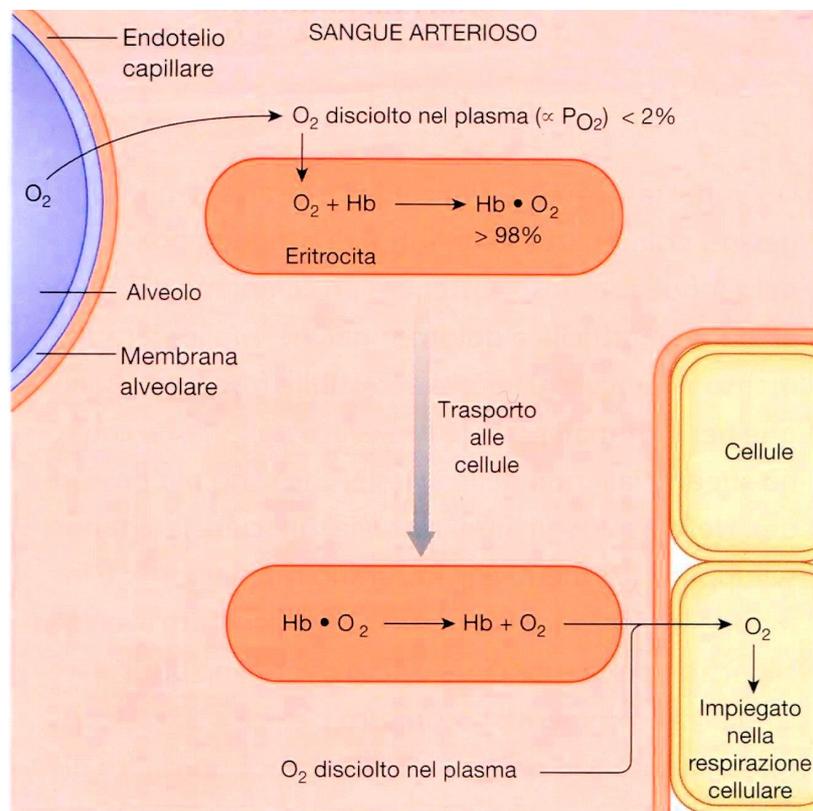


Figura 1.4: Schema del trasporto di ossigeno nel sangue. [17]

La quantità di ossigeno legata all'emoglobina si può esprimere in percentuale rispetto al valore massimo a legami pieni. Questo valore si trova facendo il rapporto tra quantità di O_2 legata e quantità massima

che può essere legata saturando tutti i siti di legame dell'emoglobina, per cento. Se tutti i siti di legame di tutte le molecole di emoglobina sono occupati da molecole di ossigeno, il sangue si dice ossigenato al 100% o saturato dall'ossigeno. La relazione fisica tra pO_2 e quantità di ossigeno legata all'emoglobina è descritta dalla curva di dissociazione dell'ossiemoglobina in Figura 1.5. Come si può vedere nel sangue che lascia i capillari sistemici con pO_2 di 40 mmHg (pressione parziale a riposo nelle cellule in prossimità dei capillari sistemici) l'emoglobina è ancora saturata del 75%. L'ossigeno che resta legato funge da riserva che le cellule possono utilizzare quando il metabolismo aumenta. Se i tessuti metabolicamente attivi utilizzano più ossigeno, la loro pO_2 cellulare diminuisce ed è rilasciato più ossigeno dall'emoglobina a livello delle cellule, seguendo l'andamento della curva di dissociazione. Questo meccanismo rappresenta un esempio della capacità di riserva intrinseca dell'organismo. [2]

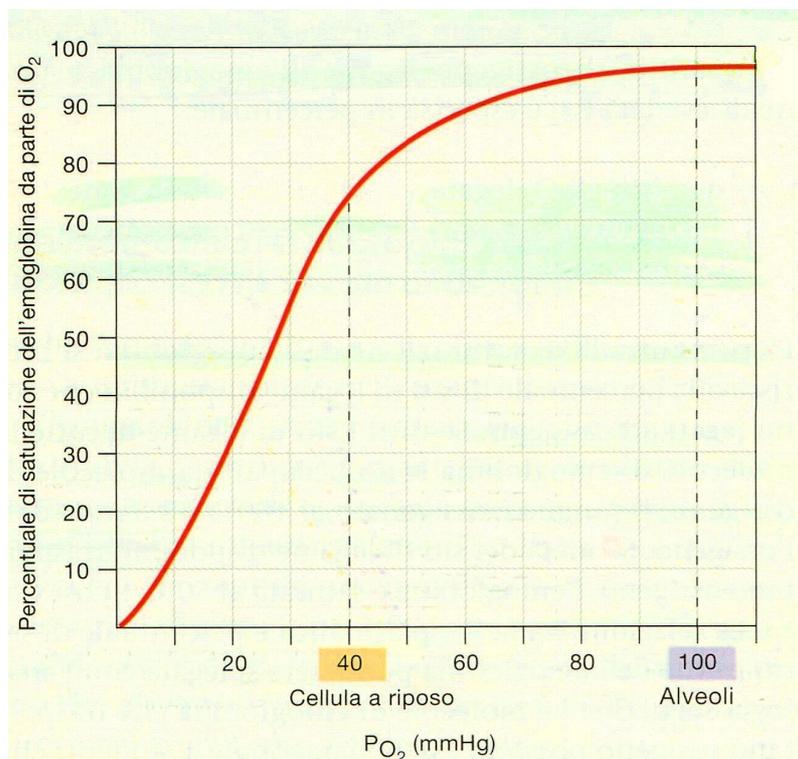


Figura 1.5: Curva di dissociazione dell'ossiemoglobina [18]

1.2 Struttura del microcircolo

Le arterie e le arteriole creano un sistema divergente per il flusso sanguigno fino ad arrivare, con vasi di dimensioni microscopiche, a ogni distretto periferico. La microcircolazione, o microcircolo, è costituita da microvasi (arteriole, metarteriole, capillari, venule), il sangue che li attraversa, e i tessuti metabolicamente dipendenti.

Il microcircolo è in grado di ricevere informazioni di varia natura, e reagire agli stimoli locali in sincronia, come blocco unico. Esso regola il flusso ematico a seconda della funzione periferica locale, attraverso due meccanismi: controllo della vasomotilità (controllo nervoso) e controllo della permeabilità (controllo endoteliale). [7]

1.2.1 Arteriole, metarteriole e anastomosi

A livello delle arteriole si trovano vasi particolari, detti metarteriole. Il sangue circolante in questi vasi può essere diretto verso i vicini letti capillari, oppure può aggirare la rete capillare limitrofa, per confluire direttamente nelle venule. Questo meccanismo è regolato dagli sfinteri precapillari: anelli muscolari lisci che contraendosi sono in grado di chiudere l'accesso ai capillari. In tale configurazione il sangue che proviene dalle arteriole confluisce, attraverso le metarteriole, direttamente alla circolazione venosa senza passare dalla rete capillare.

Vi sono poi strutture deputate propriamente al collegamento tra rete arteriosa e rete venosa senza passare dai capillari, chiamate anastomosi arterovenose o bypass arterovenosi. Questi vasi, dotati di abbondante tessuto muscolare liscio, sono innervati dal sistema nervoso autonomo simpatico e sono essenziali per il controllo della pressione arteriosa. [2]

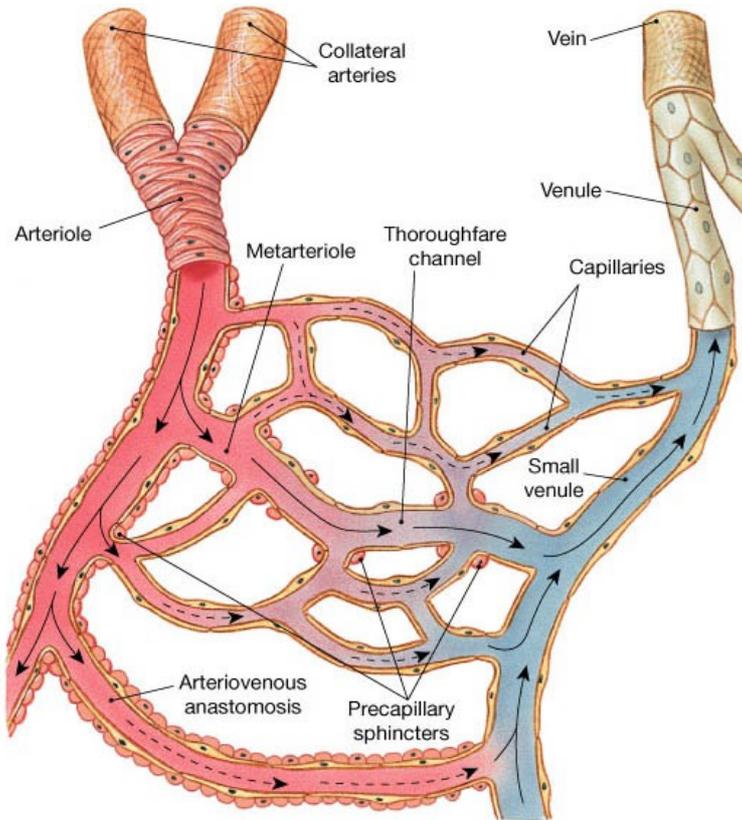


Figura 1.6: Microcircolo [8]

1.3 La funzione vascolare periferica

Il microcircolo è un sistema vascolare prevalentemente resistivo, in grado di autoregolarsi per fare in modo che distretti diversi offrano più o meno resistenza alle arterie a monte, a seconda delle esigenze e dell'attività dei tessuti. Il sistema circolatorio riesce così a modificare molto rapidamente l'afflusso di sangue nei vari distretti, irrorando maggiormente quelli che in un certo momento ne hanno maggior bisogno, a scapito di quelli meno attivi.

La resistenza al flusso ematico è direttamente proporzionale alla lunghezza dei vasi e alla viscosità del liquido, mentre è inversamente proporzionale al raggio elevato alla quarta. Dato che si possono

considerare costanti la lunghezza del circolo sistemico e la viscosità del sangue, rimane il raggio dei vasi la variabile principale per la determinazione del flusso ematico. Il microcircolo, in particolare grazie alle arteriole, è il sito principale di resistenza variabile. La vasocostrizione e la vasodilatazione modificano il raggio delle arteriole. Questa attività, come già anticipato all'inizio del paragrafo, è influenzata da meccanismi di controllo sia nervoso che endoteliale. [7]

1.3.1 Controllo nervoso e autoregolazione

Il controllo nervoso è gestito dal sistema nervoso autonomo, attraverso i riflessi ortosimpatici. Questi segnali nervosi modificano lo stato di contrazione del muscolo liscio vascolare; in tal modo il sistema mantiene la pressione arteriosa media e regola la distribuzione del sangue per soddisfare necessità omeostatiche, come la regolazione della temperatura.

Un altro aspetto molto importante del controllo dello stato di contrazione del muscolo liscio vascolare è l'autoregolazione miogena. In assenza di questo tipo di autoregolazione, a fronte di un aumento di pressione arteriosa, si dovrebbe verificare un incremento di flusso nell'arteriola. Grazie all'autoregolazione miogena, l'aumento di pressione sulle pareti interne induce la contrazione delle fibre muscolari lisce del vaso. Questa vasocostrizione aumenta la resistenza dell'arteriola, riducendo il flusso attraverso essa. [2]

1.3.2 Controllo endoteliale

Il controllo della resistenza arteriolare a livello dell'endotelio è un'altra forma di autoregolazione estremamente importante. Questo controllo locale è alla base dello studio presentato nei prossimi capitoli

di questo elaborato. Il flusso ematico verso i tessuti viene regolato in relazione alle esigenze metaboliche del tessuto stesso. Tale regolazione è mediata da sostanze paracrine (tra cui i gas O₂, CO₂ e NO) rilasciate dall'endotelio vasale o dalle cellule del tessuto irrorato. La concentrazione di queste sostanze a livello locale può cambiare notevolmente in base all'attività metabolica delle cellule. Se aumenta il metabolismo aerobico, diminuisce sensibilmente il livello di ossigeno a favore di un aumento di produzione della CO₂. Una simile modifica delle concentrazioni di queste due sostanze comporta vasodilatazione, determinando un aumento del flusso ematico verso il tessuto in questione. Questo processo in cui si ha un aumento del flusso ematico a causa di un aumento dell'attività metabolica è definito iperemia attiva.

L'ipossia, ovvero un basso livello di ossigeno a livello locale, può verificarsi, in maniera momentanea, in caso di blocco parziale del flusso di sangue diretto al tessuto. In questa situazione, la discesa del livello di O₂ induce l'endotelio a secernere sostanze vasodilatatrici. Quando si toglie il blocco al flusso sanguigno il flusso riprende con una vasodilatazione piuttosto intensa, che porta ad un picco dell'afflusso ematico. Una volta rimosse le sostanze vasodilatatrici il raggio delle arteriole torna alla misura normale e il flusso torna ai livelli fisiologici. Questo processo di aumento del flusso a seguito di un periodo di bassa perfusione è detto iperemia reattiva. [2]

1.3.3 Malattia vascolare periferica

Quando le arterie e arteriole sono soggette a costrizioni patologiche di varia natura i distretti periferici subiscono un insufficiente apporto di sangue e ossigeno. Questa situazione viene generalmente classificata come malattia vascolare periferica, o malattia arteriosa periferica. Solitamente la causa di queste modifiche

ai vasi è data da un fenomeno chiamato arteriosclerosi, che comporta irrigidimento delle pareti e inspessimento del tessuto fibroso a scapito del tessuto elastico.

Un caso particolare di questa patologia è l'aterosclerosi, che porta a un rimpicciolimento del lume dei vasi a causa della deposizione di sostanze di varia natura, in particolare trigliceridi e colesterolo (Figura 1.7). Queste parziali occlusioni causano una riduzione dell'apporto ematico nei tessuti a valle (ischemia), causando quindi ipossia ischemica in tali distretti.

Come si discuterà nei prossimi capitoli, è possibile rilevare queste anomalie della funzione vascolare periferica, indagando su parametri come la pressione parziale dell'ossigeno e il flusso ematico locale. [9]



Figura 1.7: Malattia vascolare periferica. L'aterosclerosi è una delle forme più comuni di malattia vascolare. Essa consiste nel restringimento del lume del vaso, causato dal deposito di placche aterosclerotiche. [19]

2. TECNICHE E TECNOLOGIE USATE

2.1 Flussimetria Laser-Doppler (LDF)

La Flussimetria Laser-Doppler è una tecnica che valuta la perfusione dei tessuti, a livello della microcircolazione, sfruttando il principio fisico dell'effetto Doppler della luce laser. Questo metodo, essendo di semplice implementazione e non invasivo, viene largamente usato in medicina per lo studio della dinamica dei vasi anche di dimensioni ridottissime.

La luce laser (Light Amplificated Single Emission Radiation) a bassa potenza (circa 1 mW) viene indirizzata verso l'area di tessuto di interesse grazie ad una sonda applicata alla cute con supporto biadesivo, senza comprimere. Tale dispositivo è composto da una parte trasmittente che manda al tessuto il fascio di luce e da un fotorilevatore in grado di captare e discriminare in base alla lunghezza d'onda i raggi riflessi. La luce laser quando colpisce strutture statiche viene riflessa senza variazioni di lunghezza d'onda, mentre i raggi che colpiscono i globuli rossi in movimento subiscono una variazione di lunghezza d'onda rispetto ai raggi incidenti, proporzionale alla velocità media degli eritrociti (quindi alla velocità media del flusso ematico).

In particolare si verifica che variazione di frequenza e di intensità dell'effetto sono direttamente proporzionali alla velocità e al numero di globuli rossi. L'apparecchio quindi, combinando questi due parametri, da come valore di uscita la misura del flusso ematico, che è determinato dal prodotto tra il numero dei globuli rossi in movimento (nel volume in esame) e la loro velocità media.

Per quanto riguarda l'applicabilità pratica del metodo, bisogna tenere conto delle condizioni ambientali e posturali del soggetto, che devono seguire un protocollo standard. Per evitare artefatti, ad esempio, si chiede al paziente di sostenersi e mantenere la massima

immobilità della zona in esame. Un'altra operazione necessaria è tenere costantemente monitorato il valore dell'ematocrito, ovvero la percentuale di volume sanguigno occupato dai corpuscoli (99% Eritrociti, 1% altri corpuscoli). Tale controllo permette di evitare che variazioni troppo grandi del valore di ematocrito influenzino i valori reali di perfusione. [10, 11]

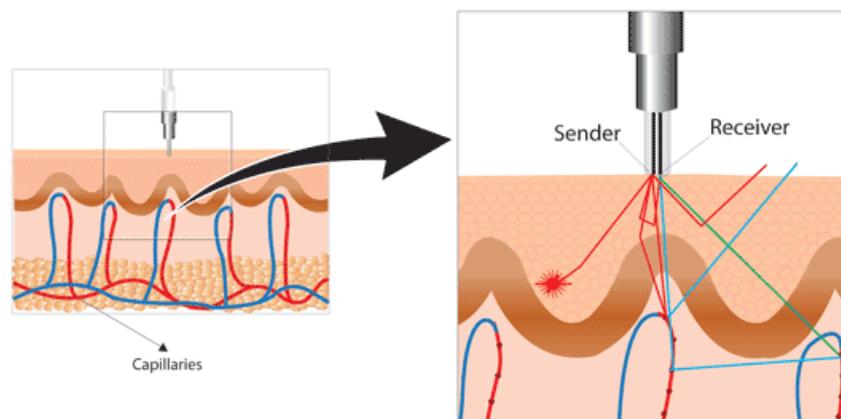


Figura 2.1: LDF. I raggi luminosi riflessi di colore azzurro sono quelli che, dopo aver colpito gli eritrociti, tornano al ricevitore con una diversa lunghezza d'onda. Nel caso di un'ulteriore interazione del raggio riflesso con un diverso eritrocita, esso torna al ricevitore di una lunghezza d'onda diversa ancora (colore verde). [12]

2.2 Ossimetria Transcutanea (tcpO₂)

L'ossimetria transcutanea, come si deduce dal nome stesso, è una misura della quantità di ossigeno nel sangue, effettuata attraverso la cute. Questa valutazione viene effettuata attraverso una metodologia non invasiva che sfrutta la permeabilità dell'ossigeno dai capillari del derma verso i tessuti limitrofi. Grazie a questo flusso infatti si può avere un valore di pressione parziale di ossigeno nei capillari anche se, in condizioni normali, è circa di soli 2,5 mmHg, ben lontano dal reale valore di pO₂ arteriosa (circa 100 mmHg). Il valore rilevato aumenta

considerevolmente, fino a portarsi con buona approssimazione al valore reale, se si scalda fino a 43°C la zona di interesse.

La procedura pratica per la valutazione consiste nel posizionare sulla cute, in corrispondenza della zona di interesse, il sensore di Clark. Questo dispositivo elettrochimico permette di valutare la pressione parziale dell'ossigeno che diffonde attraverso la cute, misurando la corrente elettrica tra gli elettrodi, prodotta dalla reazione di ossidoriduzione.

Il sensore di Clark è composto da due elettrodi: un catodo di Platino ed un anodo di Argento o Cloruro di Argento. Il catodo è posto in un cilindro isolante, sul quale è avvolto l'anodo, il tutto è contenuto in un cilindro con una soluzione di cloruro di potassio (Figura 2.2). Le pareti del cilindro sono tutte isolanti, tranne la faccia messa a contatto con la pelle, costituita da una membrana permeabile all'ossigeno tenuta salda alla cute da un cerchio di nastro isolante simile a quello degli elettrodi ECG. Grazie a un elemento riscaldante che porta la temperatura della cute a 43°C circa, l'area di applicazione è interessata da una maggiore irrorazione sanguigna e una maggiore permeabilità dell'ossigeno. In tal modo il gas diffonde maggiormente nel sensore, facendo in modo che il valore di pO_2 registrato sia, come già detto, simile a quello normale arterioso. L'ossigeno che diffonde nella soluzione elettrolitica arriva al catodo riducendosi, innescando così la reazione, che comporta l'insorgere di una corrente tra gli elettrodi, segnalata dal galvanometro. Questa corrente è direttamente proporzionale alla pressione parziale di ossigeno, la quale è funzione della quantità di ossigeno disciolto nel sangue. Si può pertanto concludere che la $tcpO_2$ sia un buona variabile per valutare la quantità di ossigeno disciolto nel plasma, quindi la sua concentrazione all'interno del fluido. [13, 14, 15]

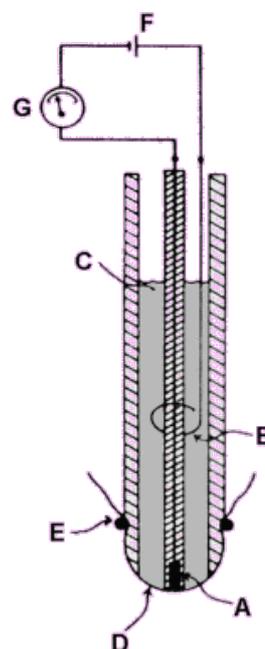


Figura 2.2: Sensore di Clark. Elettrodi di Pt (A) e Ag/AgCl (B) soluzione di KCl (C) membrana permeabile (D) anello di gomma (E) potenziostato (F) galvanometro (G). [15]

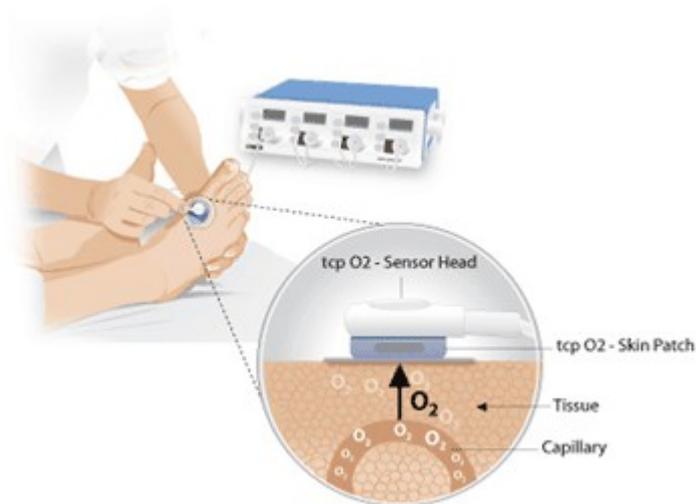


Figura 2.3: Applicazione del sensore di Clarke per la tcpO₂ nel piede del paziente. [13]

2.3 Tecnologie usate:

Perimed – PeriFlux System 5000

Il sistema PF 5000 della Perimed (Svezia) viene utilizzato negli ambulatori specialistici di tutto il mondo per valutazioni precise a livello micro- e macrovascolare.

La struttura è costituita da quattro moduli principali e consente il monitoraggio simultaneo del flusso sanguigno (tramite LDF) e di ossigeno e/o anidride carbonica transcutanea (tcpO₂, tcpCO₂). Assieme al sistema vengono forniti anche i moduli per la stimolazione termica, per il controllo della pressione e una vasta gamma di sonde laser Doppler.

Il sistema PF5000 offre soluzioni complete e altamente personalizzabili per la valutazione della microcircolazione, sfruttando la cooperazione tra la macchina e il proprio software dedicato.

I quattro moduli di cui dispone il sistema PF 5000 sono:

♦ Unità LDPM: PF 5010

L'unità PF 5010 LDPM (Laser Doppler Perfusion Monitoring) viene utilizzata per misurazioni di perfusione sanguigna basata sulla tecnologia Laser Doppler. Grazie a questa unità si può valutare in toto il flusso microvascolare locale, ovvero in capillari, arteriole, venule e shunt. Con l'unità PF 5010 LDPM è possibile infatti seguire da vicino i cambiamenti dinamici della microcircolazione. Il sistema è utile anche per studiare le risposte a stimoli come il riscaldamento, l'occlusione, la somministrazione di farmaci, la postura, la stimolazione elettrica e così via. L'interfaccia tra l'unità ed il paziente è data da una delle apposite sonde Laser Doppler fornite. Le sonde

flessibili sono a fibre ottiche e si applicano sulla superficie della zona in esame oppure si inseriscono nel tessuto. Ogni sonda contiene due fibre ottiche, una trasporta la luce laser sul tessuto e una rileva la luce riflessa con lunghezza d'onda variata dall'effetto Doppler.

♦ **Unità di temperatura: PF 5020**

L'unità PF 5020 è dedicata alla temperatura. Essa viene utilizzata per eseguire stimolazioni termiche locali, e/o misure di temperatura. L'unità PF 5020 è dotata di due connettori, per sonde termostatiche Laser Doppler e sensori di misura della temperatura. Queste particolari sonde termostatiche consentono il riscaldamento preciso del tessuto nel sito di misura. Tale operazione, per esempio, viene utilizzata per studiare la capacità di riserva del tessuto.

♦ **Unità tcpO₂/pCO₂: PF 5040**

L'unità PF 5040 tcpO₂/pCO₂ misura a livello locale l'ossigenazione o la tensione di anidride carbonica. L'ossigeno deriva unicamente dalla perfusione sanguigna del capillare nutritivo locale. Il livello di anidride carbonica invece è influenzato sia dai processi metabolici locali che dalla capacità del flusso sanguigno di eliminare tale gas. Per l'indagine in questione l'unità sfrutta un sensore di Clarke come sonda.

♦ **Unità di pressione: PF 5050**

L'unità di pressione PF 5050 viene utilizzata per controllare linearmente o istantaneamente lo sgonfiamento del bracciale per la misura della pressione. Il PF 5050 è stato sviluppato per semplificare e standardizzare i test come la misurazione della pressione periferica (pressioni nell'alluce e nella caviglia), della pressione di perfusione della cute (SPP) e l'iperemia reattiva

post oclusiva (PORH). Questa unità di pressione può anche essere usata per effettuare il test PVR (Pulse Volume Recording), usato per valutare il flusso ematico a livello periferico.

Nello studio presentato sono stati usati il modulo PF 5040 e il modulo PF 5010. Per ogni volontario la tcpO₂ è stata valutata posizionando il sensore di Clarke del modulo PF 5040 sul dorso del piede (vedi anche Figura 2.3), mentre la sonda LDF del modulo PF 5010 è stata posizionata nell'alluce. [16]



Figura 2.4: Perimed, PeriFlux System 5000. I quattro moduli sono, da sinistra a destra: PF 5010, PF 5020, PF 5040, PF 5050. [16]

3. METODICA E MODELLO

3.1 Il metodo applicato

Nello studio presentato [1] è stato preso un campione di 60 volontari, previo consenso scritto firmato da parte di ognuno di essi. I volontari sono stati selezionati in modo che ognuno di essi soddisfacesse questi parametri:

- ◆ buona salute fisica
- ◆ non fumatore
- ◆ non assuma medicinali topici o sistemici
- ◆ non abbia avuto applicazioni cosmetiche sulle zone di interesse per almeno 48 ore
- ◆ pressione sanguigna nella norma
- ◆ nessuna traccia clinicamente evidente di malattia vascolare

I volontari così selezionati sono stati divisi in 3 gruppi in base all'età e alla condizione di salute:

- **Gruppo I:** (n=30: 15 uomini e 15 donne) volontari sani, di età minore o uguale a 35 anni.
- **Gruppo II:** (n=24: 12 uomini e 12 donne) volontari sani, di età maggiore di 35 anni.
- **Gruppo III:** (n=6: 2 uomini, 4 donne) volontari diabetici (tipo 2), di età compresa tra 62 e 82 anni.

Nonostante gli individui dei due gruppi principali, ovvero I e II, siano sani, i soggetti del gruppo II riportano diversi sintomi legati alla circolazione periferica. Infatti, in assenza di altri segni clinicamente rilevanti, essi accusano la cosiddetta “sindrome delle gambe pesanti”.

Questo è uno dei sintomi più frequenti negli stadi iniziali della malattia vascolare periferica. Il gruppo III invece, è stato aggiunto solo per testare l'applicabilità pratica del modello in condizioni patologiche. Questi sei individui sono affetti da diabete di tipo 2 tenuto sotto controllo con farmaci somministrati per via orale e non risultano affetti da altre patologie più gravi (come insufficienza cardiovascolare o renale).

Ad ogni volontario è stato calcolato l'ABI (Ankle-Brachial pressure Index). Questo indice è dato dal rapporto tra la pressione arteriosa sistolica a livello del malleolo e la pressione arteriosa sistolica al braccio. In particolare si prende il massimo valore tra lato destro e lato sinistro. L'ABI svolge il ruolo di indicatore primario per diagnosticare malattie vascolari periferiche nelle gambe: un valore inferiore a 1 è indicativo di ostruzione vascolare.

A questo punto sui volontari sono state applicate le due sonde già descritte (vedi capitolo 2): quella per valutare la $tcpO_2$ è stata posizionata sul dorso del piede, mentre quella per la LDF è stata applicata nell'alluce.

Per la rilevazione dei dati bisogna seguire una procedura atta a fare in modo che questi siano più accurati possibile, per evitare grandi discostamenti rispetto ai valori reali causati da artefatti e instabilità delle variabili in gioco. Per tale motivo prima di procedere con la rilevazione dei valori di riferimento, i volontari sono stati messi preventivamente nella stanza, per dare loro modo di acclimatarsi alle condizioni di temperatura e umidità controllate.

Onde evitare artefatti da movimento e per favorire la massima stabilizzazione delle variabili, i volontari vengono messi in posizione seduta e comoda per tutta la durata dell'esperimento.

Dopo questa fase di stabilizzazione iniziale, dove come detto sono stati presi i valori di riferimento di LDF e di $tcpO_2$, si è proceduto con la fase di stress. Essa consiste nel respirare, tramite un boccaglio, una miscela di gas satura di ossigeno (Medicinal Oxygen, Air Liquide).

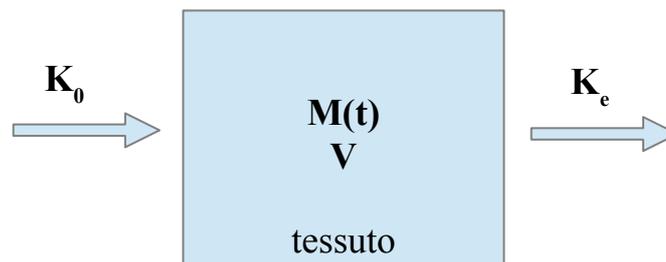
Dopo dieci minuti di stimolazione, ai volontari è stato tolto il boccaglio, per respirare di nuovo in aria atmosferica. [1]

Si sono quindi distinte tre fasi di sperimentazione:

- ♦ **Fase 1:** Basale (10 minuti), respirazione in aria atmosferica;
- ♦ **Fase 2:** Stimolazione (10 minuti), respirazione in miscela saturata di O_2 (con boccaglio adattato, usato solo per questa fase);
- ♦ **Fase 3:** Finale (10 minuti), respirazione in aria atmosferica.

3.2 Il modello monocompartimentale

Il modello implementato per descrivere la dinamica di questa prova è a un compartimento e descrive come varia la quantità di ossigeno a livello dei tessuti in esame. In questo compartimento si ha un'unica variabile di ingresso: la portata di O_2 in entrata, tenuta costante al valore K_0 . Il flusso in uscita è dato dalla diffusione transcutanea dell'ossigeno, rilevata sperimentalmente dalla sonda per la $tcpO_2$. Nel modello questa uscita è regolata dalla costante di eliminazione K_e .



Questo è un classico compartimento usato nella farmacocinetica ed il bilancio di massa dell'ossigeno è descritto dall'equazione differenziale seguente:

$$\frac{dM}{dt} = K_0 - K_e \cdot M \quad (1)$$

Integrando la (1), a partire da condizione iniziale nulla, si ottiene l'andamento della massa nel tempo all'interno del compartimento:

$$M(t) = \frac{K_0}{K_e} (1 - e^{-K_e \cdot t}) \quad (2)$$

Facendo opportune assunzioni l'equazione (2) può esprimere l'andamento della tcpO_2 in ognuna delle fasi di sperimentazione.

La prima considerazione riguarda K_0 , la portata costante di O_2 in ingresso al modello, che viene espressa come il prodotto tra un fattore di flusso e uno di concentrazione di questo gas. Il primo viene dato dalla variabile di perfusione LDF (diversa per ogni fase della procedura) moltiplicata per un fattore di conversione γ per ottenere il vero valore di flusso. Il fattore di concentrazione, invece, è rappresentato da una costante, ovvero $\text{tcpO}_{2(0)}$ ad un tempo zero.

Per tempo zero si assume il tempo nel quale la Fase 1 si è stabilizzata, avendo quindi un valore iniziale stabile di tcpO_2 (in funzione del flusso). A questo tempo quindi inizia la Fase 2, ovvero la respirazione della miscela satura di O_2 .

L'equazione (2) quindi si può scrivere in funzione della variabile di perfusione LDF e del valore di $\text{tcpO}_{2(0)}$ iniziale. Infine dividendo per un parametro di volume V , dato dal volume totale del compartimento, si ottiene l'equazione dell'andamento della tcpO_2 :

$$\text{tcpO}_2(t) = \frac{\gamma \cdot \text{LDF} \cdot \text{tcpO}_{2(0)}}{K_e \cdot V} (1 - e^{-K_e \cdot t}) \quad (3)$$

Per praticità, si raggruppano i termini costanti, comuni a tutte le fasi, in un unico parametro I così definito:

$$I = \frac{\gamma \cdot tcpO_{2(0)}}{K_e \cdot V} \quad (4)$$

Un'altra considerazione riguarda i valori di flusso sanguigno che si sono registrati tramite la sonda LDF, durante le tre fasi di valutazione sperimentale. Il flusso ematico è legato alla quantità di ossigeno nel sangue. La respirazione di una miscela satura di ossigeno porta l'emoglobina a saturarsi ($spO_2 = 100\%$) e porta la pressione parziale dell'ossigeno (data dall'ossigeno disciolto nel plasma sanguigno) ai massimi livelli possibili. Tutto ciò induce vasocostrizione a livello periferico e a livello coronarico facendo in modo che il cuore, a fronte di una ridotta irrorazione, diminuisca la gittata sistolica. I volontari infatti hanno registrato valori sperimentali diversi di LDF a regime, nel corso delle tre fasi (vedi tabella 4.1).

Per questo motivo nel modello si considerano tre periodi di perfusione diversi, a seconda della fase, caratterizzati da altrettante variabili di flusso per la portata di ossigeno:

- ♦ **LDF1**: flusso di stabilizzazione iniziale
- ♦ **LDF2**: flusso durante la respirazione della miscela satura di O_2
- ♦ **LDF3**: flusso durante il ripristino della condizione iniziale (aria atmosferica normale)

Con queste assunzioni la (3) esprime l'andamento della $tcpO_2$ nelle varie fasi dello studio, considerando come intervalli temporali:

- Fase 1: $-T < t \leq 0$
- Fase 2: $0 < t \leq T$
- Fase 3: $t > T$

Capitolo 3: Metodica e modello

Dove si considera $T = 10$ min, il tempo di durata di ogni fase della procedura. Per la Fase 1 l'andamento della $tcpO_2$ è dato dall'equazione:

$$tcpO_2(t) = LDF1 \cdot I \cdot [1 - e^{-K_e(t+T)}] \quad (5)$$

Nel modello si è assunta l'ipotesi che, per questa fase di stabilizzazione iniziale, il transitorio presente nella formula della $tcpO_2$ si esaurisca per t crescente e, verosimilmente, si abbia:

$$\text{se } t+T \gg \frac{3}{K_e} \Rightarrow LDF1 \cdot I \cdot e^{-K_e \cdot (t+T)} \rightarrow 0 \quad (6)$$

Per $t=0$ incomincia la fase di respirazione ad atmosfera satura di ossigeno. In questa fase (Fase 2) quindi l'equazione che regola il compartimento è dettata dalla Fase 1, sommata al contributo aggiuntivo che scaturisce dalla Fase 2:

$$tcpO_2(t) = LDF1 \cdot I \cdot [1 - e^{-K_e(t+T)}] + (LDF2 - LDF1) \cdot I \cdot (1 - e^{-K_e \cdot t}) \quad (7)$$

Dopo qualche passaggio e ricordando la relazione (6) si può scrivere:

$$tcpO_2(t) = LDF1 \cdot I \cdot e^{-K_e \cdot t} + LDF2 \cdot I \cdot (1 - e^{-K_e \cdot t}) \quad (8)$$

Si procede analogamente per descrivere l'andamento durante la Fase 3, che si ricava sommando all'equazione della Fase 2 il contributo aggiuntivo della Fase 3. A questo punto si può considerare completamente esaurito il contributo dovuto alla prima fase. Con queste assunzioni si ottiene:

$$tcpO_2(t) = [LDF2 \cdot I \cdot (1 - e^{-K_e \cdot T})] \cdot e^{-K_e(t-T)} + LDF3 \cdot I \cdot (1 - e^{-K_e(t-T)}) \quad (9)$$

Il parametro analitico più rilevante è sicuramente la variabile K_e che regola la fuoriuscita di ossigeno dal compartimento. Essendo l'autovalore dell'equazione del compartimento pari a $-K_e$, si può risalire alla rispettiva costante di tempo:

$$\tau = \frac{1}{K_e} \quad (10)$$

Dalla costante di tempo si ricava infine il tempo di emivita (o tempo di dimezzamento) dell'ossigeno:

$$t_{1/2e} = \tau \cdot \ln(2) = \frac{\ln(2)}{K_e} \quad (11)$$

Questo parametro è il tempo che serve per dimezzare il valore della $tcpO_2$ (e quindi della concentrazione di O_2) nel distretto periferico.

Gli autori hanno valutato i parametri del modello approssimando le equazioni ai punti sperimentali di $tcpO_2$ attraverso l'algoritmo del semplice. Infine i dati sono stati elaborati con un comune software di foglio elettronico ed è stato assunto un livello di significatività statistica: $P=0,05$. [1]

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

In questo capitolo sono raccolti tutti i risultati. Prima di tutto ci si concentra sui valori scaturiti dalle rilevazioni non invasive sugli individui. In seguito sono presentati i risultati provenienti dall'applicazione del modello monocompartimentale. L'ultima parte del capitolo è la discussione di quanto ottenuto dagli autori [1].

4.1 Risultati da strumentazione

Inizialmente a tutti i volontari è stata misurata la pressione sanguigna ed è stato calcolato l'ABI. Mentre la prima non ha riportato variazioni significative tra i gruppi, l'ABI ha fornito valori interessanti. Nei gruppi I e II non si hanno particolari differenze, mentre nel gruppo III si registra un valore di ABI di 1.0 ± 0.1 , che denota qualche segno di anomalia vascolare. Nella Tabella 4.1 sono riassunti i valori (media e deviazione standard) provenienti dalle misurazioni di LDF e tcpO_2 , tramite PeriFlux 5000. Questi valori sono stati presi, per ogni gruppo di individui, negli ultimi 5 minuti di ogni fase, per consentire alle variabili la migliore stabilizzazione.

Osservando la Tabella 4.1 si nota che la LDF non riesce a differenziare i tre gruppi nelle varie fasi. Questo conferma la tesi esposta nell'introduzione che questo parametro, autonomamente, non riesce a mostrare le diversità, che se pur minime sono presenti, nella funzione vascolare periferica dei vari gruppi. La flussimetria ha comunque il pregio di denotare con chiarezza la vasocostrizione in tutti i gruppi, durante la Fase 2.

Per quanto riguarda la tcpO_2 , si può vedere una discriminazione tra gruppo I e gruppo II nella Fase 1, tra Gruppo I e Gruppo III nella Fase 2, e tra Gruppo I e Gruppo II nella Fase 3. [1]

	GRUPPO	FASE 1	FASE 2	FASE 3
LDF [AU]	I (n=30)	23,74 + 39,49	10,90 + 12,73	18,18 + 41,54
LDF [AU]	II (n=24)	20,87 + 28,75 NS	19,37 + 27,99 NS	10,37 + 13,38 NS
LDF [AU]	III (n=6)	23,32 + 24,21 NS	16,20 + 16,05 NS	24,87 + 26,22 NS
TcpO2 [mmHg]	I (n=30)	74,58 + 14,83	198,48 + 93,15	76,05 + 16,90
TcpO2 [mmHg]	II (n=24)	62,32 + 14,15 (P=0,003)	162,85 + 68,15 NS	63,67 + 18,25 (P=0,014)
TcpO2 [mmHg]	III (n=6)	65,73 + 6,61 NS	114,65 + 22,28 (P=0,042)	64,91 + 8,74 NS

Tabella 4.1: Valori di LDF e tcpO2 durante la procedura sperimentale (media e deviazione standard). NS: il confronto tra questo dato e il rispettivo valore appartenete al Gruppo I in quella fase risulta Non Significativo. P: precisione statistica del confronto del valore con quello del Gruppo I, nella stessa fase ($P < 0.05$). AU: Adimensionale Unit. [1]

4.2 Risultati dal modello

La Figura 4.1 e la Tabella 4.2 mostrano i risultati provenienti dall'applicazione del modello monocompartimentale ai dati sperimentali della Tabella 4.1.

Come si può notare dalla Figura 4.1, i risultati ottenuti con il modello (linee) approssimano ottimamente quelli provenienti dalla procedura sperimentale (punti). Questo consente la stima del tempo di dimezzamento dell'ossigeno $t_{1/2e}$, definito come già detto a partire dalla costante di eliminazione K_e (vedi Tabella 4.2).

La figura 4.2 mostra graficamente i valori di $t_{1/2e}$ che è il parametro quantitativo più importante. Come si nota, $t_{1/2e}$ è circa il doppio nel

Capitolo 4: Risultati e discussione

Gruppo 2 rispetto al Gruppo 1 e continua a crescere nel Gruppo 3, con significative differenze tra ogni gruppo. La buona affidabilità statistica è garantita da un livello significativo: $P < 0.01$. [1]

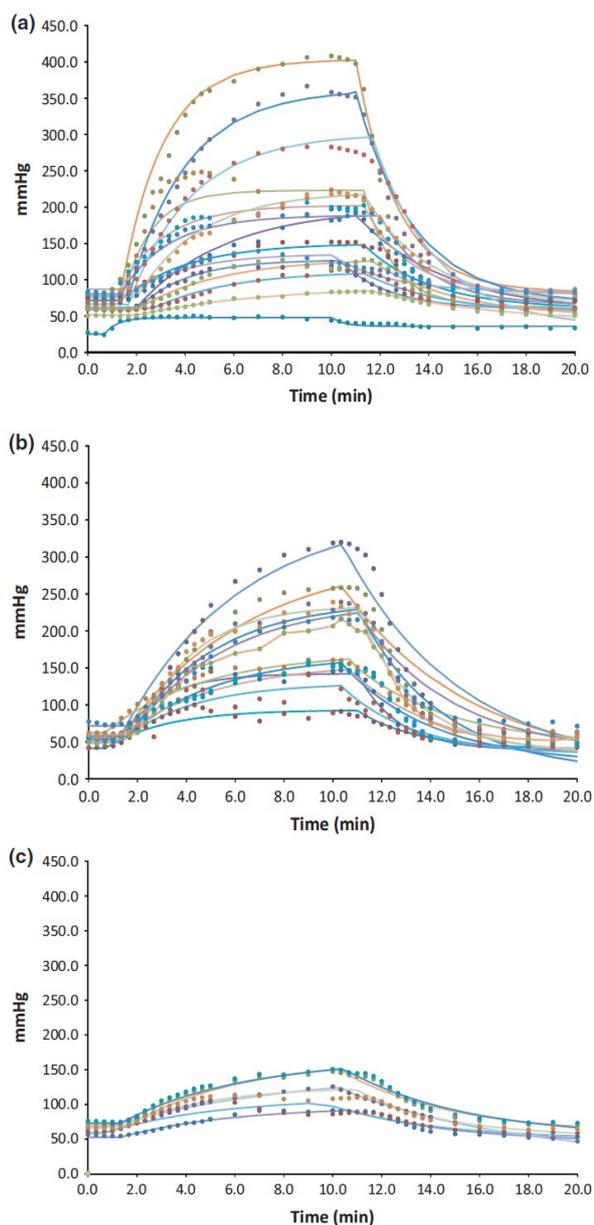


Figura 4.1: Evoluzione della tcpO₂ durante le Fasi 2 e 3. (a) Gruppo I, (b) Gruppo II, (c) Gruppo III. [1]

	GRUPPO 1	GRUPPO 2	GRUPPO 3
LDF1 [AU]	12,9 ± 20,2	17,6 ± 24,8	10,7 ± 12,0
LDF2 [AU]	33,9 ± 55,1	48,0 ± 60,2	20,3 ± 21,9
LDF3 [AU]	11,8 ± 19,6	12,5 ± 19,0	8,42 ± 10,2
I [mmHg·min/l]	32,5 ± 40,0	19,8 ± 25,6	17,8 ± 19,2
K_e [min⁻¹]	0,579 ± 0,328	0,383 ± 0,248	0,213 ± 0,047
t_{1/2e} [min]	1,52 ± 0,741	2,25 ± 0,845	3,41 ± 0,904

Tabella 4.2: Parametri forniti dal modello monocompartimentale della tcpO₂ in ogni gruppo (media ± SD). [1]

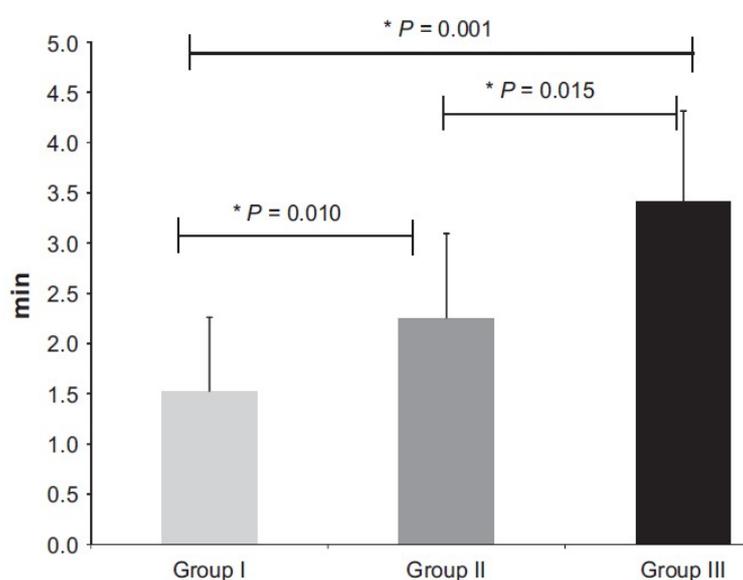


Figura 4.2: Tempo di dimezzamento nei tre gruppi. Sono mostrate anche le significatività statistiche relative ai vari confronti (* P<0.05). [1]

4.3 Discussione

La strategia sviluppata nello studio [1] esposto in questa tesi presenta notevoli vantaggi rispetto ai metodi utilizzati in precedenza per le indagini vascolari. Innanzitutto questo metodo è caratterizzato da un approccio più rigoroso, che sfrutta la combinazione di due variabili del flusso circolatorio. In secondo luogo si tratta di una procedura facile da attuare perché le variabili sperimentali sono acquisite in modo non invasivo. Infine si sfrutta una condizione di stress di inalazione di una miscela satura di ossigeno, una manovra facile da realizzare e senza effetti collaterali.

Respirare in tale condizione di stress permette all'emoglobina di saturare ogni sito di legame. L'ossigeno in eccesso, che rimane disciolto nel plasma, determina la pressione parziale del gas nel sangue, il cui valore fisiologico nelle arterie è di circa 90-100 mmHg. Respirando in atmosfera satura, invece, la $tcpO_2$ misurata nel piede di un individuo normale aumenta dal 238 al 500%. La risposta regolatoria del sistema vascolare periferico a questo eccesso di ossigeno (con conseguente aumento di $tcpO_2$) è la vasocostrizione (vedi Tabella 4.1, Fase 2).

Dai dati sperimentali emerge che la $tcpO_2$ in condizioni basali e di recupero è minore nel gruppo II rispetto al gruppo I. Sapendo che i due gruppi sono sani, con ABI nella norma, si può considerare questa differenza una conseguenza dell'invecchiamento. Infatti l'età è l'unico parametro diverso tra i gruppi I e II, ed è maggiore in quest'ultimo. L'invecchiamento, com'è noto, causa la riduzione progressiva del flusso capillare e un certo grado di danneggiamento vascolare, in particolare negli arti inferiori. Osservando i dati in tabella 4.1 però, i valori della $tcpO_2$ dei due gruppi durante lo stress non sono significativamente discriminabili. Le cause possono essere la somiglianza tra i gruppi e la scarsa capacità discriminativa della $tcpO_2$. Nella fase 2 si può apprezzare una leggera discriminazione tra gruppo

I e gruppo III, ma la differenza di dimensione di questi due gruppi non permette una buona analisi statistica tra essi.

Per quanto riguarda la LDF, come già sottolineato, non si delineano differenze tra i tre gruppi nelle varie fasi, a conferma della sua scarsa capacità discriminativa in queste circostanze. Questi dati sperimentali sono stati poi testati con il modello monocompartimentale.

In accordo con la logica dello studio, la modifica del tempo di dimezzamento della $tcpO_2$ dipende principalmente da variazioni emodinamiche, nonostante siano coinvolti anche aspetti miogenici e metabolici locali. Per questo motivo la variazione di tale parametro, misurata in un distretto periferico, può descrivere quantitativamente la fisiologia del microcircolo e in particolare la sua capacità di adattarsi a condizioni di stress controllato.

In condizioni fisiologiche, un sistema vascolare perfettamente sano fornisce normalmente di ossigeno le cellule periferiche. Ciò significa che, pur respirando una miscela d'aria satura di questo gas, non avverranno grandi cambiamenti nell'approvvigionamento dello stesso da parte dei tessuti. In tali condizioni (gruppo I) togliendo il boccaglio dell'ossigeno e tornando a respirare in aria normale, si riscontra un brusco calo di $tcpO_2$, ovvero la K_e del modello è molto grande, quindi $t_{1/2e}$ è piuttosto piccolo (vedi Figura 4.2 e Figura 4.1a). L'ossigeno in eccesso in questo caso viene rapidamente eliminato dai tessuti.

Se invece si è in presenza di un processo fisiopatologico che compromette la funzione vascolare, come l'invecchiamento, ci si aspetta un minor flusso sanguigno e di conseguenza ipossia tissutale. In tal caso, respirando la miscela satura di ossigeno, le cellule ipossiche hanno la possibilità di catturare l'ossigeno in eccesso arrivato, rallentando la discesa dei valori di $tcpO_2$ dai tessuti periferici una volta che si riprende la respirazione in aria normale, quindi aumentando $t_{1/2e}$ (Figura 4.2). I risultati di Tabella 4.2 e Figura 4.2 confermano che il tempo di dimezzamento è significativamente diverso tra i gruppi I e II. Questo valore infatti raddoppia quasi nel

gruppo II rispetto al I, confermando che l'invecchiamento può causare un certo grado di danneggiamento vascolare, sebbene limitato e senza espressione clinica rilevante.

I valori di $t_{1/2e}$ ottenuti nel gruppo III, con pazienti diabetici di tipo 2, sono ulteriormente aumentati (vedi Tabella 4.2 e Figura 4.2). I risultati di questo gruppo sono interessanti, anche se utilizzati solo come esempio illustrativo dell'applicabilità pratica del modello.

Il diabete sembra causare una progressiva rarefazione dei capillari più periferici, portando ad ischemia e riduzione della capacità locale di autoregolazione. Questo spiega perché l'insufficienza vascolare periferica è più marcata nei pazienti diabetici. In questi individui i distretti periferici sono inclini a ipossia, quindi in caso di maggior disponibilità di ossigeno i tessuti tendono ad assorbirlo. Questo da come conseguenza un aumento del tempo di eliminazione, portandolo a valori molto più alti rispetto a quelli ottenuti nei gruppi I e II. [1]

CONCLUSIONI

Lo studio presentato in questo elaborato descrive un modello monocompartimentale che sfrutta i dati sperimentali di tcpO_2 flusso-dipendente per un'efficace valutazione della funzione vascolare periferica. Esso sembra essere abbastanza sensibile per rilevare anomalie nella circolazione periferica anche se limitate e clinicamente non rilevanti. In particolare si sono voluti studiare due gruppi sani, tra i quali l'unico parametro di discriminazione era l'età: più alta nel gruppo II. Proprio in casi come questo, dove in entrambi i gruppi non ci sono problemi vascolari a livello clinico, il metodo si dimostra comunque altamente discriminante. Un ulteriore vantaggio consiste nella semplicità di utilizzo che caratterizza la procedura proposta. Le variabili sperimentali infatti sono prese in vivo con tecniche non invasive, in tempi relativamente brevi e usando una manovra di stress semplice e non pericolosa per il paziente. Infine il modello è implementabile facilmente con comuni software di calcolo, e fornisce subito il tempo di dimezzamento dell'ossigeno.

Questo parametro, detto anche emivita di eliminazione, è il primo indicatore quantitativo che unisce aspetti miogenici, emodinamici e metabolici, della fisiologia microcircolatoria; può essere assunto come potente strumento a livello clinico per valutare la funzione vascolare nell'uomo e contribuire all'indagine sulle malattie del sistema vascolare periferico. [1]

Personalmente ritengo il lavoro eseguito dagli autori molto interessante e ricco di spunti per sviluppi e studi futuri in merito. In primo luogo può essere significativo valutare un campione più numeroso di individui diabetici per avere dati più precisi a livello statistico per il gruppo III. In tal modo si riuscirebbe ad avere un'effettiva differenza, valida a livello statistico, tra i parametri in

Conclusioni

uscita dal modello riferiti ai gruppi I e III. Per ottimizzare la valutazione, potrebbe rivelarsi molto interessante creare un software, facilmente utilizzabile dai medici, che possa implementare il modello in real-time sui valori provenienti da sonde tcpO₂ e LDF sul paziente. In tal modo il tempo di dimezzamento dell'ossigeno può costituire un buon indicatore di patologia vascolare periferica.

L'utilizzo di questo parametro per una prima analisi non invasiva, qualora il paziente accusi sintomi riguardanti la malattia vascolare periferica, può rappresentare una svolta importante nel campo della diagnostica. Come già detto infatti, nella maggioranza dei casi, gli stadi iniziali della malattia vascolare periferica non sono rilevabili clinicamente, se non con test specifici ed invasivi. Eseguendo tale analisi non invasiva, invece, è possibile valutare se il paziente è affetto da disfunzione vascolare. In tal caso il medico potrà eventualmente prescrivere una visita specialistica (es. metodi angiografici) per avere una caratterizzazione completa della patologia.

RIFERIMENTI

- 1 2011 John Wiley & Sons A/S, *Experimental Dermatology*, 21, 38-42
- 2 D.U. Silverthorn, *Fisiologia – Un approccio integrato*, Casa Editrice Ambrosiana
- 3 G. Gnudi, *Dispense di Bioingegneria, Ingegneria Biomedica – Seconda Facoltà di Ingegneria di Cesena, a.a. 2010/2011*
- 4 http://besport.org/sportmedicina/cardiopatie_e_sport.htm
- 5 <http://www.my-personaltrainer.it/cuore.htm>
- 6 <http://www.sport100.it/sport/sport-e/anatomia/vasi-sanguigni/caratteristiche.html>
- 7 <http://www.slideserve.com/phila/fisiopatologia-del-macro-e-microcircolo>
- 8 <http://virtual.yosemite.cc.ca.us/rdroual/Lecture%20Notes/Unit%204/cardiovascular-blood%20vessels%20with%20figures.htm>
- 9 <http://www.shc.org/Medical+Services/Heart+and+Vascular/Vascular+Services/What+is+Peripheral+Vascular+Disease>
- 10 <http://www.simsi.org/pdf/09longonildfotitraumatologici.pdf>
- 11 <http://www.perimed-instruments.com/support/theory/laser-doppler>
- 12 <http://www.perimed-instruments.com/support/theory/laser-doppler>
- 13 <http://www.perimed-instruments.com/support/theory/tcp02>
- 14 http://www.biomedica.unica.it/MaterialeDidattico/materiale_biosensori/2012/4_Sensori_Chimici_2.pdf
- 15 http://it.wikipedia.org/wiki/Sensore_di_Clark

Riferimenti

- 16** *<http://www.perimed-instruments.com/instruments/laser-doppler-monitors/periflux-system-5000>*
- 17** *D.U. Silverthorn, Fisiologia – Un approccio integrato, Casa Editrice Ambrosiana. Figura 18-6, pagina 656*
- 18** *D.U. Silverthorn, Fisiologia – Un approccio integrato, Casa Editrice Ambrosiana. Figura 18-9, pagina 660*
- 19** *<http://www.malattievascolari.com/img/gal-arterie/pad.jpg>*

RINGRAZIAMENTI

Desidero spendere qualche riga per ringraziare le tante persone che mi sono state vicino in questi anni di studio e che spero mi saranno ancora vicino nelle imminenti sfide future.

Un vero grazie va ad amici, compagni di studio, compagni e colleghi del mondo della musica del quale sono orgoglioso di fare parte, insomma a tutti coloro con cui ho condiviso e condivido parti importanti della mia vita.

Grazie agli amici della “Combriccola”, in particolare a Stefano, Mario ed Enrico, che ho avuto la fortuna di conoscere grazie a questo percorso di studi e che in così poco tempo sono diventati ottimi compagni di studio e di vita.

Un grazie speciale va ad una persona davvero fantastica, che da sempre crede in me donandomi tanta forza e che sono felice di avere al mio fianco: Silvia. Ringrazio anche tutta la bella famiglia Bezzi, che mi ha sempre sostenuto e fatto sentire a casa.

Dulcis in fundo un grazie più che immenso va alla mia famiglia, nessuno escluso, che mi supporta in tutte le scelte e mi segue nelle tante cose in cui mi sono sempre cimentato. In particolare il grazie più grande va a mia mamma Lorena, mia sorella Erika e Floriano, sempre presenti e sempre pronti a sostenermi e spronarmi con una forza e al tempo stesso con una dolcezza uniche. Grazie.