

# POLITECNICO DI TORINO

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

## Tesi di Laurea Magistrale

*Studio della velocità di propagazione di un'onda pulsatoria  
nelle vene in risposta ad un aumento simulato di volemia*



Relatore

Prof. Carlo Ferraresi

Correlatori

Prof. Silvestro Roatta

Dott. Leonardo Ermini

Candidato

Nadia Elvira Chiarello

Luglio 2019

## SOMMARIO

L'idea di base di questo lavoro di tesi è studiare la velocità di propagazione di un'onda pulsatoria nelle vene e osservare come essa varia in determinate condizioni. Si vuole intraprendere questo studio per valutare la possibilità che essa rappresenti un parametro utile a stabilire lo stato volemico e la tollerabilità alla somministrazione di fluidi, che rappresenta un problema clinico molto sentito dove va ricercato il difficile equilibrio tra il mantenimento della gittata cardiaca e il rischio di sovraccarico del cuore. Per questa ragione, lo scopo del lavoro è progettare un protocollo sperimentale in cui vengano misurate le variazioni di velocità dell'onda pulsatoria durante una manovra che simula un'infusione di liquidi (fluid challenge).

A tale scopo è stata eseguita una sequenza di prove sperimentali su soggetti sani volontari in cui è stata valutata la velocità di un'onda pulsatoria nel distretto venoso a seguito di una variazione indotta di volemia. Come fluid challenge si è deciso di usare il Passive Leg Raising (PLR), perciò si sono confrontate le misure durante la baseline con misure durante l'esecuzione della manovra.

E' stato perfezionato un sistema non invasivo di misura della venous Pulse Wave Velocity (vPWV) che prevede l'utilizzo di un sistema di compressione pneumatica per la generazione dell'onda di pressione, un dispositivo Eco-Doppler per la rilevazione del passaggio dell'onda ad una certa distanza dalla zona di compressione e una serie di accorgimenti tecnici volti a sincronizzare la misura di vPWV con l'attività cardiaca e il respiro al fine di migliorarne la ripetibilità.

Già dalle prove preliminari è stato osservato un aumento della velocità dell'onda pulsatoria durante la manovra del PLR e ciò ha portato alla definizione di un protocollo definitivo per ampliare lo studio a un maggior numero

---

di soggetti, nel quale sono state effettuate anche misure di pressione venosa e di calibro del vaso.

Nei primi capitoli della tesi vengono illustrati i principi teorici che stanno alla base del funzionamento del sistema cardiovascolare (Cap.1) e della propagazione dell'onda di pressione all'interno dei vasi sanguigni (Cap.2). Successivamente vengono descritti i metodi utilizzati negli esperimenti, le prove preliminari che sono state necessarie a definire il set-up e il protocollo definitivo per realizzare l'approccio sperimentale voluto (Cap.3). Nei capitoli seguenti vengono illustrati il tipo di analisi per l'elaborazione dei dati raccolti (Cap.4) e i risultati ottenuti (Cap.5). Inoltre sono evidenziati le possibili modifiche per una migliore efficacia del protocollo (Cap. 6) e infine le conclusioni del lavoro svolto (Cap.7).

## INDICE

1. <i>Il sistema cardiovascolare</i> . . . . .	11
1.1 Il ciclo cardiaco . . . . .	15
1.2 Relazione tra pressione, flusso e resistenza . . . . .	18
1.3 Distensibilità vascolare e Compliance . . . . .	20
1.4 Fattori che influenzano la gittata cardiaca . . . . .	22
1.5 Pressione venosa centrale . . . . .	24
1.6 Pressione sistemica media di riempimento . . . . .	26
2. <i>Pulse Wave Velocity (PWV)</i> . . . . .	31
2.1 Misura della PWV nel sistema arterioso . . . . .	32
2.2 Misura della PWV nel sistema venoso . . . . .	34
2.3 Ambito clinico . . . . .	35
2.4 Obiettivo dello studio . . . . .	39
3. <i>Materiali e Protocolli</i> . . . . .	41
3.1 Sistema di compressione . . . . .	41
3.2 Dispositivo Eco-Doppler . . . . .	43
3.2.1 Utilizzo degli ultrasuoni . . . . .	43
3.2.2 Flussimetria Doppler . . . . .	49
3.3 Dispositivo per l'acquisizione del segnale ECG . . . . .	51
3.4 Sistema di acquisizione CED . . . . .	55
3.5 Prove preliminari . . . . .	56
3.5.1 Impostazioni dei parametri su Spike2 . . . . .	57
3.5.2 Valutazione della vPWV . . . . .	61
3.5.3 Gestione del ritardo dell'impulso . . . . .	62
3.5.4 Risultati delle prove preliminari . . . . .	65

---

3.6	Protocolli preliminari . . . . .	66
3.6.1	Protocollo Hot VS Cold . . . . .	66
3.6.2	Protocollo Synchro ECG . . . . .	67
3.6.3	Protocollo Synchro Breath . . . . .	68
3.6.4	Protocollo Peak Pressure . . . . .	68
3.6.5	Protocollo Manicotto largo vs stretto . . . . .	69
3.7	Protocollo definitivo . . . . .	70
4.	<i>Analisi dei dati</i> . . . . .	74
4.1	Analisi manuale . . . . .	74
4.2	Analisi automatica . . . . .	76
5.	<i>Risultati ottenuti</i> . . . . .	79
5.1	Protocolli preliminari . . . . .	79
5.1.1	Protocollo Hot VS Cold . . . . .	79
5.1.2	Protocollo Synchro ECG . . . . .	81
5.1.3	Protocollo Synchro Breath . . . . .	82
5.1.4	Protocollo Peak Pressure . . . . .	83
5.1.5	Protocollo Manicotto largo vs stretto . . . . .	85
5.2	Protocollo definitivo . . . . .	87
5.2.1	Risultati manuali di PWV . . . . .	88
5.2.2	Risultati automatici di PWV . . . . .	90
5.2.3	Risultati di pressione venosa e calibro del vaso . . . . .	94
6.	<i>Possibili modifiche del protocollo</i> . . . . .	96
6.1	Sincronizzazione automatica dell'impulso di gonfiaggio con la respirazione . . . . .	96
6.2	Aggiornamento automatico del ritardo dell'impulso . . . . .	98
7.	<i>Conclusioni</i> . . . . .	101
7.1	Innovazioni nel set-up sperimentale . . . . .	101
7.2	Influenza del PLR sulla vPWV . . . . .	102
7.3	Limiti dello studio e sviluppi futuri . . . . .	103

---

*Bibliografia* . . . . . 105

## ELENCO DELLE FIGURE

1.1	Rappresentazione schematica del percorso del sangue nel sistema cardiovascolare [35] . . . . .	12
1.2	Struttura dei vasi sanguigni . . . . .	13
1.3	Anatomia cardiaca . . . . .	15
1.4	Rappresentazione del ciclo cardiaco . . . . .	16
1.5	Gradiente pressorio e resistenza vascolare che generano un conseguente flusso ematico [10] . . . . .	18
1.6	Rappresentazione di una curva di compliance venosa . . . . .	21
1.7	Rappresentazione della curva di Starling [35] . . . . .	24
1.8	Curva del ritorno venoso [10] . . . . .	27
1.9	Relazione tra CO e CVP da cui si deriva il valore di MSFP: curva a nel caso di normovolemia e curva b nel caso di ipervolemia [13] . . . . .	28
1.10	Le curve di Guyton per modellizzare la circolazione [2] . . . . .	29
2.1	Rappresentazione della misura di PWV carotide-femorale [3] . . . . .	33
2.2	Curve di Frank-Starling al variare della funzione ventricolare sistolica a cui si applica un test dinamico [23] . . . . .	38
3.1	Schema del sistema di compressione . . . . .	43
3.2	Rappresentazione della legge di Snell . . . . .	46
3.3	Schema di un impulso US . . . . .	48
3.4	Rappresentazione del flussimetro Doppler . . . . .	50
3.5	Rappresentazione di un esempio di segnale ECG e di segnale Doppler acquisiti . . . . .	51
3.6	Registrazione di un segnale ECG . . . . .	53
3.7	Visualizzazione del software Link15 . . . . .	54

---

3.8	Esempio di registrazione del segnale ECG a una derivazione nel protocollo . . . . .	54
3.9	CED system: Micro1401-3 con estensione ADC12 . . . . .	55
3.10	Posizione del soggetto durante la fase distesa . . . . .	58
3.11	Posizione del soggetto durante la fase PLR . . . . .	58
3.12	Graphical sequencer per il gonfiaggio del manicotto . . . . .	59
3.13	Graphical sequencer per lo sgonfiaggio del manicotto . . . . .	60
3.14	Graphical sequencer per il pulsante di emergenza . . . . .	60
3.15	Posizionamento dei cursori per la misura della latenza temporale della risposta sul segnale Eco-Doppler . . . . .	62
3.16	Segnale ECG e segnale Eco-Doppler che indica la presenza di una pulsatilità naturale . . . . .	63
3.17	Confronto tra prima (a) e dopo (b) aver impostato il ritardo opportuno . . . . .	64
3.18	Esempio di andamento temporale e box plot delle latenze temporali misurate nel soggetto 1 . . . . .	65
3.19	Schema grafico del protocollo definitivo . . . . .	71
3.20	Esempio di immagine ecografica della vena con contorni tracciati manualmente tramite segmenti successivi sul dispositivo Eco-Doppler . . . . .	71
4.1	Misurazione manuale di $\Delta t$ su Spike2: cursore 0 posizionato automaticamente su Vgonf (trigger dell'impulso) e cursore 1 posizionato manualmente sul footprint . . . . .	75
4.2	Rappresentazione dei metodi utilizzati per la rilevazione automatica del footprint dell'onda pulsatoria [3] . . . . .	78
5.1	8 compressioni nel caso di cuscinetto d'acqua caldo e 8 nel caso di cuscinetto d'acqua freddo per il soggetto 1 . . . . .	80
5.2	8 compressioni nel caso di cuscinetto d'acqua caldo e 8 nel caso di cuscinetto d'acqua freddo per il soggetto 2 . . . . .	80
5.3	8 compressioni nel caso di cuscinetto d'acqua caldo e 8 nel caso di cuscinetto d'acqua freddo per il soggetto 3 . . . . .	81

---

5.4	Box plot delle latenze temporali per valutare il vantaggio della sincronizzazione con il segnale ECG . . . . .	82
5.5	Box plot delle latenze temporali per valutare il vantaggio della sincronizzazione con il respiro . . . . .	82
5.6	Andamento del segnale di pressione e del segnale Eco-Doppler al variare del tempo di gonfiaggio per il soggetto 3 . . . . .	84
5.7	Confronto delle pendenze degli andamenti medi nei tre casi per il soggetto 3 . . . . .	84
5.8	Box plot delle latenze temporali per valutare le variazioni in base alla modalità con cui si stringe il manicotto . . . . .	85
5.9	Latenze temporali tg e tp valutate su Spike2 . . . . .	86
5.10	Bar diagram delle variazioni dei tempi tg e tp passando dal manicotto largo al manicotto stretto . . . . .	87
5.11	Box plot dei valori di vPWV ricavati dalle misure manuali per il protocollo definitivo . . . . .	88
5.12	Rette, per ogni soggetto, che uniscono i punti rappresentanti i valori di vPWV nei due cicli giù-su: il simbolo di forma circolare corrisponde alla fase giù, mentre l'asterisco alla fase su	89
5.13	Coefficienti angolari delle rette per ogni soggetto . . . . .	90
5.14	Box plot dei valori di PWV ricavati dalle misure automatiche tramite il metodo della derivata seconda . . . . .	91
5.15	Box plot dei valori di PWV ricavati dalle misure automatiche tramite il metodo della percentuale . . . . .	92
5.16	Rette e coefficienti angolari relativi al metodo del picco della derivata seconda, per ogni soggetto, che uniscono i punti rappresentanti i valori di vPWV nei due cicli giù-su: il simbolo di forma circolare corrisponde alla fase giù, mentre l'asterisco alla fase su . . . . .	93
5.17	Rette e coefficienti angolari relativi al metodo della percentuale, per ogni soggetto, che uniscono i punti rappresentanti i valori di vPWV nei due cicli giù-su: il simbolo di forma circolare corrisponde alla fase giù, mentre l'asterisco alla fase su	93

---

5.18	Rappresentazione dei valori di CVP e di perimetro mediati sui soggetti per il primo ciclo giù-su con i relativi errori standard .	95
5.19	Rappresentazione dei valori di CVP e di perimetro mediati sui soggetti per il secondo ciclo giù-su con i relativi errori standard	95
6.1	Sensore per il respiro utilizzato: sensore respiro addome/toracico riutilizzabile - Spes medica . . . . .	97
6.2	Esempio del segnale dato dal sensore per il respiro acquisito tramite il CED e visualizzato su Spike2 . . . . .	98
6.3	Rappresentazione del ritardo dell'impulso rispetto all'onda R in fusione della distanza RR . . . . .	99

## 1. IL SISTEMA CARDIOVASCOLARE

Il sistema cardiovascolare ha la funzione di effettuare il trasporto di sostanze in modo opportuno nelle diverse parti dell'organismo irrorando i vari distretti corporei.

Quindi il sistema regola la distribuzione dei fluidi presenti nei tessuti in modo adeguato per assicurare la sopravvivenza e un funzionamento cellulare ottimale [10].

Il sistema cardiovascolare è costituito da:

- i vasi sanguigni che, permettendo il trasporto del sangue, garantiscono un'appropriata perfusione sanguigna in tutto l'organismo;
- il cuore che, funzionando come una pompa, è capace di generare la spinta necessaria da fornire al flusso sanguigno in modo da far arrivare il sangue nei vari tessuti.

[35]

È di fondamentale importanza fornire la giusta quantità di ossigeno alle cellule dei vari distretti corporei per evitare il loro danneggiamento. Quindi il sistema cardiovascolare, tramite questo continuo scambio di sostanze, è capace di mantenere il giusto apporto di ossigeno per la sopravvivenza dell'intero organismo. Al fine di eseguire questo compito è presente una rete di vasi sanguigni, distinguibili in base alla loro funzione in arterie, vene e capillari, che collega i vari organi in modo efficiente.

Le arterie trasportano il sangue ossigenato che esce dal cuore verso il resto del corpo, le vene trasportano il sangue deossigenato prelevato dalla periferia effettuando il ritorno venoso e i capillari consentono di effettuare gli scambi necessari tra il sangue e i tessuti.

Le pareti dei vasi sanguigni non sono rigide e presentano una modulazione

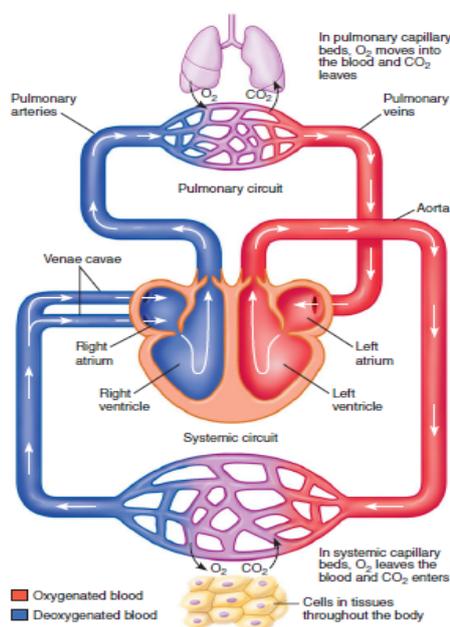


Fig. 1.1: Rappresentazione schematica del percorso del sangue nel sistema cardiovascolare [35]

delle loro caratteristiche meccaniche per rendere più efficiente possibile la circolazione sanguigna. Volendo individuare la struttura di base generale di un vaso sanguigno si può suddividere la parete vasale in tre strati principali:

- tunica intima: è lo strato più interno, ovvero quello che si affaccia al lume del vaso separando il torrente ematico dagli altri strati. Esso presenta un film sottile di cellule endoteliali a contatto con il sangue che non lo fanno trombizzare e si dispongono nella direzione principale del moto; sono proprio queste cellule che trasducono le forze di pressione e di frizione date dal flusso di sangue e che quindi permettono di trasferire i segnali per far dilatare o restringere la parete del vaso;
- tunica media: è chiamato anche strato muscolare proprio perché è costituito da un'alternanza di strati di cellule muscolari lisce e di fibre elastiche; per questo motivo è lo strato che detta maggiormente la risposta meccanica della parete permettendo ad essa di distendersi o di

restringersi. Se la tunica media perde le sue proprietà elastiche non si dilaterà abbastanza durante l'impulso sanguigno e opporrà una maggiore resistenza al passaggio del sangue; in questo modo il cuore dovrà esercitare un lavoro maggiore per avere la stessa portata di sangue;

- tunica avventizia: è la parte più esterna della parete vasale ed è costituita da tessuto connettivo.

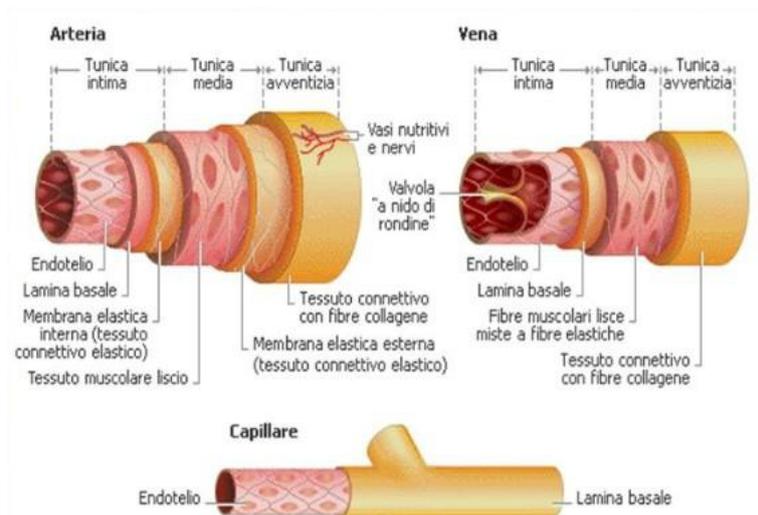


Fig. 1.2: Struttura dei vasi sanguigni

<http://www.didascienze.it/vasi-sanguigni.html>

La composizione delle tre tuniche si modifica in base al tipo di vaso: ad esempio le composizioni di arterie e vene sono molto diverse tra loro poiché avendo scopi e regimi pressori differenti presentano caratteristiche meccaniche dissimili.

Per quanto riguarda il cuore, è un organo muscolare che tramite continue contrazioni e successivi rilassamenti permette di spingere il sangue attraverso i vasi sanguigni, perciò è la parte fondamentale del sistema cardiovascolare. Esso è diviso in due sezioni tramite il setto cardiaco: la parte sinistra del cuore viene perfusa da sangue ossigenato, mentre la parte destra da sangue deossigenato [35]. Ognuna della due sezioni è costituita da due camere: un

atrio e un ventricolo. I due atri ricevono il sangue che torna al cuore, mentre i due ventricoli ricevono prima il sangue dai relativi atri e poi, attraverso una contrazione che produce un opportuno aumento di pressione, lo spingono fuori dal cuore [34]. Mentre gli atri devono spingere il sangue nella camera successiva, i ventricoli devono invece trasferirlo all'esterno del cuore quindi necessitano di un'elevata energia per pompare tutto il volume di sangue presente al loro interno, proprio per questo il muscolo ventricolare è più spesso di quello atriale [10]. Quindi quest'onda di contrazione che si trasmette in modo definito nelle cellule muscolari cardiache rappresenta un battito cardiaco.

Le due parti del cuore lavorano in modo autonomo e separato, infatti il sangue arterioso e quello venoso non si miscelano mai [35]. Perciò si possono distinguere due circoli diversi:

- il circolo polmonare, che avviene nel cuore destro ed è costituito dai vasi sanguigni che collegano il cuore ai polmoni, i quali sono capaci di ossigenare il sangue prelevato dalla periferia;
- il circolo sistemico, che invece avviene nel cuore sinistro ed è costituito dalla rete di vasi sanguigni che partendo dal cuore raggiungono il resto del corpo.

Per rendere il flusso sanguigno monodirezionale, all'interno del cuore sono presenti delle valvole cardiache che, grazie alla loro opportuna apertura e chiusura, permettono di evitare o quantomeno limitare i flussi retrogradi. Il loro funzionamento è dettato dai gradienti di pressione presenti tra monte e valle [10].

Nel miocardio si hanno due tipologie di valvole cardiache:

- le valvole atrio-ventricolari, le quali permettono al sangue di scorrere dagli atri ai ventricoli ma non nel verso opposto;
- le valvole semilunari, che invece si trovano tra i ventricoli e le arterie ad essi collegate e consentono al sangue contenuto nei ventricoli una sola direzione di moto, ovvero quella di uscita dal cuore.

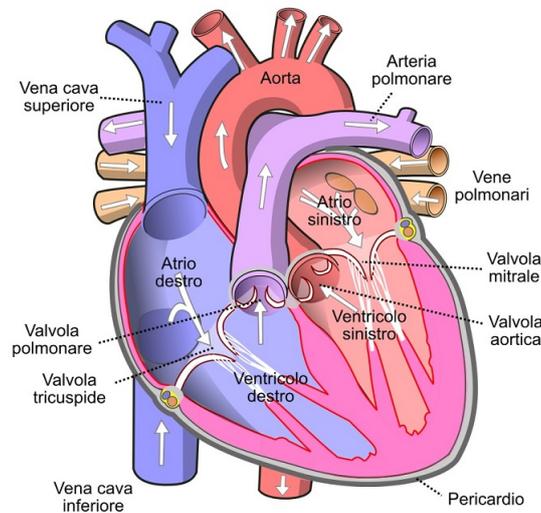


Fig. 1.3: Anatomia cardiaca

[https://it.wikiversity.org/wiki/Conformazione\\_interna\\_del\\_cuore](https://it.wikiversity.org/wiki/Conformazione_interna_del_cuore)

### 1.1 Il ciclo cardiaco

All'interno del sistema cardiovascolare il sangue viene fatto circolare in una certa direzione tramite specifici percorsi grazie ai gradienti pressori e alla struttura del cuore. La circolazione sanguigna continua ad esserci grazie alla continua ripetizione di un ciclo cardiaco.

Nel momento in cui il ventricolo sinistro è carico di sangue ossigenato, le sue pareti ventricolari sono distese fino a quando si contraggono per pompare tutto il sangue verso l'aorta per poi irrorare tutti i tessuti effettuando il circolo sistemico. A questo punto il sangue viene deossigenato dai tessuti che ne prelevano l'ossigeno per la loro sopravvivenza. Questo sangue deossigenato torna al cuore arrivando, attraverso le vene cave superiore ed inferiore, nell'atrio destro per poi passare nel ventricolo destro. Il ventricolo destro a questo punto pompa il sangue deossigenato nell'arteria polmonare facendolo arrivare ai polmoni, i quali lo ricaricano di ossigeno. Per completare il circolo polmonare, il sangue che è stato ossigenato ritorna al cuore entrando nell'atrio sinistro tramite le vene polmonari e infine arriva nel ventricolo sinistro da cui riparte un nuovo ciclo [35].

Il flusso nei due circoli in realtà avviene contemporaneamente, infatti nello stesso momento in cui il ventricolo destro si contrae per pompare il sangue nei polmoni, lo fa anche il ventricolo sinistro ma per pompare il sangue in aorta [35]. Si devono distinguere due fasi distinte in cui si possono trovare le camere cardiache [10]:

- la diastole è la fase di rilasciamento in cui può avvenire l'afflusso di sangue;
- la sistole è invece la fase di contrazione in cui si il sangue viene fatto scorrere verso l'esterno.

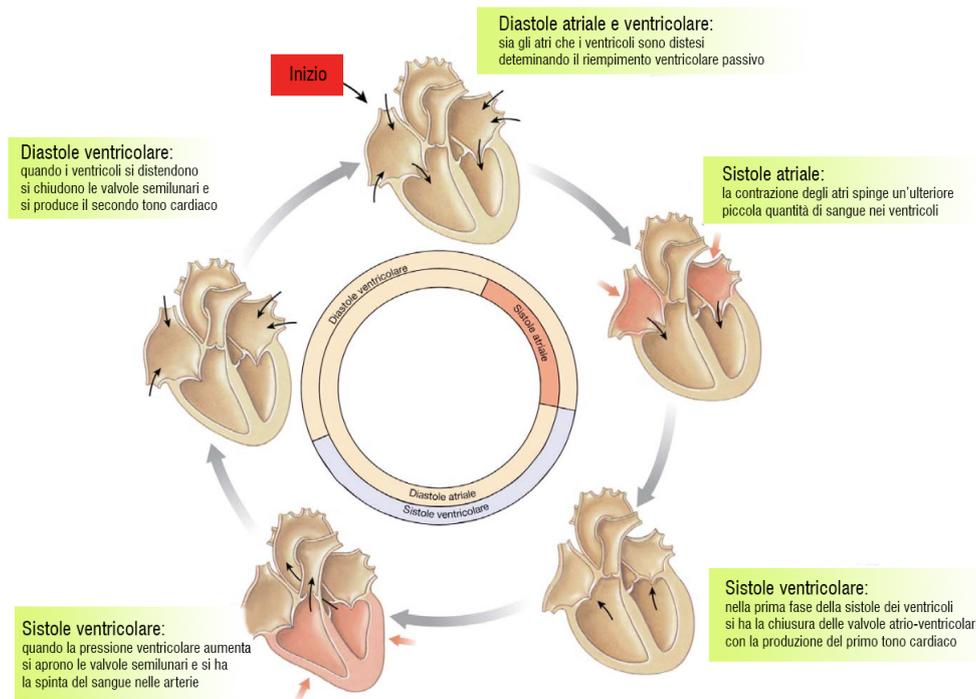


Fig. 1.4: Rappresentazione del ciclo cardiaco

<http://www.iisfalcone-righi.it/scienze/erasmus/apparato-circolatorio/ciclocardiaco.html>

Per poter effettuare queste successive contrazioni il muscolo cardiaco deve essere in grado di generare potenziali d'azione per attivare la contrazione muscolare. Il cuore riesce a contrarsi in modo autonomo grazie alla presenza

delle cellule pacemaker nel nodo senoatriale che si depolarizzano spontaneamente [35]. Infatti, le contrazioni del cuore hanno origine da questa zona ben definita e successivamente i potenziali d'azione vengono propagati velocemente nelle altre regioni del cuore, passando dal nodo senoatriale agli atri, poi al nodo atrio-ventricolare, attraversando infine il fascio di His e le fibre del Purkinje per diffondere il segnale elettrico fino ai ventricoli. Quindi si ha un'onda di eccitazione che percorre vie di conduzione specifiche [35].

Durante tutto il ciclo cardiaco volumi e pressioni variano nelle quattro camere cardiache. Queste variazioni di pressione permettono la corretta apertura o chiusura delle valvole per ottenere un verso adeguato del flusso sanguigno [34]. L'aumento o la diminuzione del volume di sangue in una camera è dovuto alla chiusura e all'apertura delle valvole cardiache, ovvero ai gradienti pressori presenti nel miocardio [10].

Il volume di sangue contenuto nel ventricolo alla fine della diastole, chiamato volume telediastolico (End Diastolic Volume - EDV), è il volume ventricolare massimo che si può raggiungere prima dell'eiezione. Il valore minimo coincide invece con il volume di sangue nel ventricolo alla fine della sistole, chiamato volume telesistolico (End Systolic Volume - ESV). La differenza tra questi due volumi definisce la gittata sistolica (Stroke Volume - SV), ovvero il volume di sangue che può essere pompato dal cuore a ogni battito cardiaco [35].

$$SV = EDV - ESV$$

Invece si definisce con il nome di gittata cardiaca (Cardiac Output - CO) il volume di sangue pompato da ogni ventricolo in un minuto. Normalmente i due ventricoli hanno lo stesso valore di CO e si contraggono insieme [34]. Questo volume dipende sia dal valore della gittata sistolica (SV) e sia da quanti battiti si hanno in un minuto, ovvero la frequenza cardiaca (Heart Rate - HR).

$$CO = HR \times SV$$

## 1.2 Relazione tra pressione, flusso e resistenza

La circolazione sanguigna così come è stata descritta è resa possibile grazie a determinate grandezze fisiche che variano durante il ciclo cardiaco e ne determinano il funzionamento.

La forza motrice che spinge il sangue in un certo verso all'interno dei vasi sanguigni è un determinato gradiente di pressione, cioè la variazione della forza esercitata dal sangue per unità di superficie della parete vasale [10]. Se questo gradiente pressorio non ci fosse e nessuna forza agisse sul fluido, esso rimarrebbe in quiete. Invece, in presenza di un gradiente pressorio, il sangue si muoverà da regioni a pressione maggiore verso regioni a pressione minore.

È proprio grazie all'azione cardiaca che si genera questo gradiente pressorio. Infatti il cuore, lavorando come una pompa, innalza la pressione media presente nell'aorta durante il ciclo cardiaco, chiamata pressione arteriosa media, creando così una differenza di pressione tra le arterie e le vene [35].

Perciò il flusso di sangue che scorre in un vaso sanguigno, ovvero la quantità di sangue che passa attraverso una certa sezione del vaso ad un certo tempo, dipende dalla differenza di pressione presente tra le estremità del vaso, ma anche dagli ostacoli che incontra nel suo percorso, i quali vengono definiti come resistenze vascolari [10].

La relazione tra queste grandezze può essere espressa tramite la legge di Ohm:

$$F = \frac{\Delta P}{R} = \frac{P_1 - P_2}{R}$$

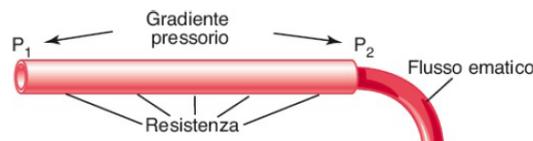


Fig. 1.5: Gradiente pressorio e resistenza vascolare che generano un conseguente flusso ematico [10]

Da questa relazione si può dedurre che, a parità di resistenza, maggiore è il gradiente pressorio e maggiore sarà il flusso ottenuto. Invece il flusso risulta

essere inversamente proporzionale alla resistenza vascolare, la quale è dovuta alle caratteristiche del fluido e del condotto in cui avviene il flusso. Supponendo che il sangue sia un fluido con una certa viscosità, incomprimibile e che si stia muovendo di moto laminare in un condotto con sezione costante, la resistenza vascolare può essere definita, tramite la legge di Poiseuille, come:

$$R = \frac{8\eta L}{\pi r^4}$$

dove  $\eta$  è la viscosità del fluido, che nel caso del sangue dipende dal livello di ematocrito,  $L$  è la lunghezza del condotto e  $r$  è il raggio del condotto. Il fattore che influenza maggiormente è il raggio poiché compare alla quarta potenza. Proprio per questa ragione, una piccola variazione del raggio del vaso sanguigno, quindi una vasocostrizione o una vasodilatazione, produce una grande modifica nel valore di resistenza vascolare e di conseguenza nell'entità del flusso che ne consegue. Infatti al diminuire del raggio del vaso, aumenta notevolmente la resistenza e diminuisce il flusso di sangue che scorre nel vaso.

Le variazioni di pressione sono generate dalle contrazioni delle camere cardiache, mentre le resistenze vascolari sono causate dall'attrito tra il sangue e la parete del vaso sanguigno, il quale provoca la progressiva diminuzione del valore di pressione a mano a mano che ci si allontana dal cuore. Infatti il più alto valore pressorio è presente a livello dell'aorta, ovvero il vaso che riceve il flusso sanguigno direttamente dal ventricolo sinistro, mentre il valore più basso si ha in corrispondenza delle vene cave, le quali fanno arrivare il sangue deossigenato nell'atrio destro effettuando il ritorno venoso.

Tutte le pressioni cardiovascolari sono normalmente misurate in millimetri di mercurio ( $mmHg$ ). In alcuni casi si possono anche misurare in centimetri di acqua ( $cmH_2O$ ), con cui si valuta la pressione per innalzare di una certa altezza una colonna di acqua e non di mercurio. Si può passare da un'unità di misura all'altra attraverso la conversione  $1mmHg = 1.36cmH_2O$ . In ogni caso, le pressioni sono riferite a quella atmosferica, poiché il flusso del sangue dipende solo dalla differenza di pressione, ovvero il valore di pressione relativa e non dalla pressione assoluta [35].

---

In condizioni normali, si può considerare il profilo del flusso sanguigno come parabolico, poiché il valore della velocità del flusso alle pareti del vaso è minore rispetto a quello al centro del vaso, dato che il sangue verso le pareti incontra più fatica in quanto è presente maggiore attrito. Solo in certe condizioni il flusso da laminare può diventare turbolento, ovvero si ha un moto disordinato in cui si hanno componenti della velocità sia trasversali sia longitudinali, come ad esempio nel caso di ostruzioni del vaso o biforcazioni nei punti in cui la velocità aumenta in modo notevole [10].

### 1.3 Distensibilità vascolare e Compliance

Tutti i vasi sanguigni presentano una caratteristica molto importante, ovvero la distensibilità [10]: sono infatti capaci di modificare la loro sezione per accogliere una maggiore quantità di sangue al loro interno.

Il sistema venoso è molto più distensibile di quello arterioso e infatti il 75% del sangue è localizzato in esso [38]. Il distretto venoso può essere visto come una riserva di sangue, proprio perché una parte della grande quantità di sangue che riesce ad accogliere può essere sfruttata, in caso di bisogno, da altre zone del sistema [10].

Le pareti vasali si distendono come risposta a un aumento della pressione esercitata dal sangue, perciò dato che le pareti arteriose sono più spesse e rigide rispetto a quelle venose, nelle arterie è necessario un maggiore aumento pressorio rispetto alle vene per ottenere una stessa distensione.

La capacità dei vasi sanguigni di adattarsi a cambiamenti di flusso sanguigno che avvengono al loro interno attraverso allargamenti e restringimenti della loro parete è dovuta alla componente muscolare liscia presente nella tunica media la quale è modulata dal sistema nervoso autonomo [38].

In ambito cardiovascolare, normalmente si valuta la quantità di sangue che può essere immagazzinata in una certa regione per unità di aumento pressorio [10]. Ciò corrisponde alla compliance vascolare, definita come il rapporto tra la variazione di volume del vaso e la variazione di pressione tra l'esterno e l'interno del vaso, chiamata pressione transmurale.

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

Le vene presenteranno valori di compliance maggiori rispetto alle arterie, in quanto una stessa variazione di pressione produce una maggiore modifica di volume del vaso. Ovviamente esiste un certo limite nell'aumento di volume di un vaso, per cui, a causa di un aumento di pressione, la sezione del vaso rimane costante ma aumenterà la velocità del flusso sanguigno in esso.

Per effettuare la misura della compliance venosa si possono utilizzare metodi ultrasonografici, in modo da avere indicazioni sull'area trasversale e quindi sul volume del vaso, e metodi per individuare variazioni di pressione idrostatica per avere informazioni sulla pressione venosa.

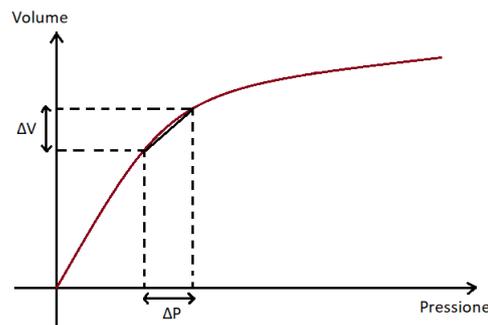


Fig. 1.6: Rappresentazione di una curva di compliance venosa

Nel grafico P-V, la compliance nel range compreso tra due punti è quindi la pendenza della retta che li unisce. Si può notare che la pendenza diminuisce all'aumentare di pressione e volume, ovvero le pareti delle vene nel caso di regimi con valori elevati di pressione e volume diventano più rigide. Infatti come si può osservare in Figura 1.6, per valori bassi di pressione e volume si ha il tratto ascendente della curva di compliance con una pendenza elevata invece per valori alti si ha una regione che tende a un plateau, in cui la pendenza è molto minore poiché le variazioni di pressione non corrispondono a variazioni di volume significative.

Un certo vaso sanguigno non presenta una sola curva di compliance, ma essa varia al variare del tono vascolare. Una diminuzione del tono vascolare porterebbe a una curva spostata più in alto poiché si potrebbero raggiungere variazioni di volume maggiori, mentre un suo aumento causerebbe un abbassamento della curva.

Queste variazioni di compliance venosa sono fondamentali per la regolazione della pressione venosa e del ritorno venoso al cuore, poiché indicano la quantità di volume ematico che il distretto venoso riesce ad accogliere.

#### 1.4 Fattori che influenzano la gittata cardiaca

La quantità di flusso sanguigno che i tessuti cellulari necessitano per il loro funzionamento può variare notevolmente poiché dipende dall'attività da svolgere e dalle condizioni in cui si trova l'organismo. Infatti si hanno molti meccanismi di autoregolazione che permettono di percepire la variazione di un certo parametro fisiologico e regolare di conseguenza l'aumento o la riduzione del flusso sanguigno al fine di mantenere quel parametro costante, come ad esempio il riflesso barocettivo che cerca di mantenere la pressione arteriosa a livelli quasi costanti aumentando o riducendo la frequenza cardiaca, o il riflesso di Bainbridge che invece modifica la frequenza cardiaca come risposta a variazioni della volemia, la quale determina un diverso stiramento dell'atrio destro.

Quindi il valore della gittata cardiaca (CO) cambia in base alle necessità dell'organismo e per compiere questa variazione vengono regolate dall'organismo stesso le due variabili che la determinano, HR e SV.

La frequenza cardiaca (HR) presenta una grande variabilità sia confrontando diversi soggetti sia all'interno di uno stesso soggetto, perché non dipende solo da età, sesso, salute, ma anche dal livello di attività muscolare e dallo stato emozionale. Infatti ciò che determina il numero di battiti al minuto è la frequenza con cui le cellule pacemaker del nodo senoatriale si depolarizzano. Queste cellule ricevono afferenze dai neuroni del sistema nervoso autonomo, che quindi possono modificare la frequenza dei potenziali d'azione [35]. Si ha sia l'effetto del sistema nervoso simpatico, che aumenta la frequenza cardiaca

perché velocizza la depolarizzazione delle cellule facendo raggiungere prima la soglia per il potenziale, sia l'effetto del sistema nervoso parasimpatico, che al contrario fa diminuire la frequenza cardiaca. In ogni istante il valore di HR è determinato dal bilancio di questi due effetti [34].

L'altra variabile, la gittata sistolica (SV), dipende dalla contrattilità dei ventricoli, dal volume telediastolico, che determina il precarico cardiaco, e dal postcarico. La contrattilità ventricolare è fondamentale per determinare la quantità di sangue eiettata dal ventricolo durante la sua contrazione ed è determinata dall'azione del sistema nervoso autonomo [35].

SV dipende anche dal postcarico, poiché quest'ultimo rappresenta la forza che si oppone alla fuoriuscita dal sangue dai ventricoli, rappresentata dalla pressione arteriosa; infatti all'aumentare della pressione arteriosa diminuisce la gittata sistolica.

Per quanto riguarda il volume telediastolico, esso aumenta all'aumentare del riempimento sanguigno in fase di diastole. Se esso aumenta di conseguenza le fibre muscolari del cuore risulteranno più tese. L'entità dell'allungamento delle fibre cardiache precedente alla contrazione dipende quindi dalla quantità di sangue che è ritornata al cuore in fase diastolica (ritorno venoso) e definisce il precarico cardiaco [34]; maggiore è il precarico e maggiore sarà la forza della contrazione conseguente che determina l'aumento della gittata sistolica (SV).

La relazione tra la gittata sistolica (SV) e il volume telediastolico, dato dal ritorno venoso, viene spiegata dalla legge di Frank-Starling [34], la quale afferma che al variare del flusso sanguigno che ritorna al cuore si ha un conseguente adattamento del flusso sanguigno che fuoriesce dal cuore durante la contrazione.

Grazie all'effetto Starling, in caso di necessità da parte dell'organismo, tramite l'attivazione del sistema nervoso autonomo, aumentando il ritorno venoso si può generare una maggiore gittata cardiaca per irrorare tutti i tessuti che ne hanno bisogno [10].

Al fine di ottenere un flusso di sangue dalla periferia verso il cuore, si deve avere un gradiente di pressione tra le vene periferiche e l'atrio destro.

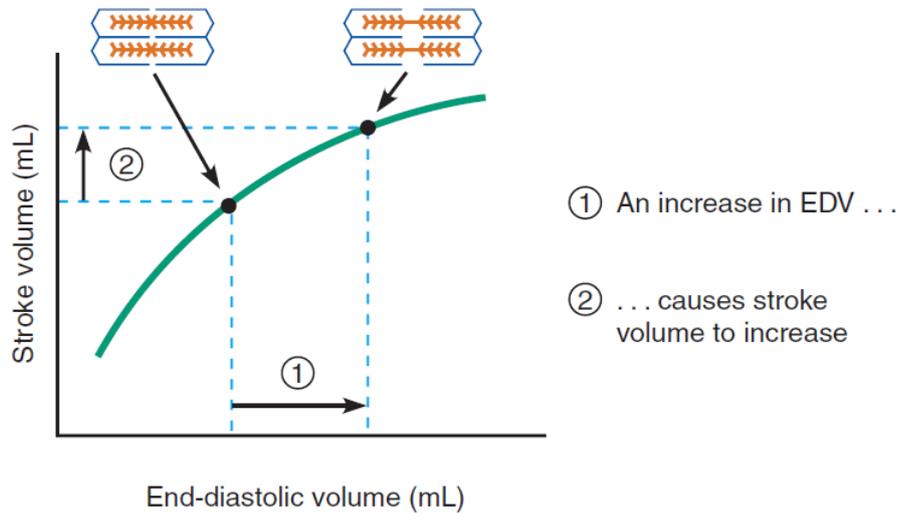


Fig. 1.7: Rappresentazione della curva di Starling [35]

### 1.5 Pressione venosa centrale

La pressione dell'atrio destro può essere valutata tramite la pressione venosa centrale (Central Venous Pressure - CVP), che corrisponde al valore di pressione rilevato nel tratto finale della vena cava superiore. Questo valore di pressione approssima bene quello relativo all'atrio destro eccetto nel caso in cui la vena cava sia ostruita.

Per rendere possibile il ritorno venoso il suo valore deve mantenersi inferiore al valore di pressione venosa periferica, perché il sangue si muove da zone in cui la pressione è maggiore a zone in cui la pressione è minore. Maggiore è il gradiente pressorio che si verifica maggiore sarà il ritorno venoso.

La CVP è quindi un importante concetto in cardiologia poiché determina il precarico cardiaco [18] e di conseguenza, tramite la legge di Frank-Starling, la gittata cardiaca. Il precarico, dato dal ritorno venoso, dipende da quattro fattori principali [35]:

- la pompa muscolare scheletrica: quando i muscoli si contraggono, comprimono le vene e spingono il sangue verso il cuore;

- la pompa respiratoria: durante l'inspirazione la gabbia toracica si espande e il diaframma si sposta verso il basso quindi diminuisce la pressione intratoracica, la quale diventando negativa permette all'aria dell'ambiente esterno di entrare nei polmoni, e aumenta la pressione addominale. Di conseguenza si crea un gradiente di pressione tra la zona della vena cava inferiore che si trova al di sopra del diaframma e quella che si trova al di sotto. Questa differenza di pressione produce il movimento del sangue verso l'atrio destro ottenendo un aumento del ritorno venoso;
- volume ematico: un suo aumento produce l'innalzamento della pressione venosa;
- tono venomotorio: è determinato dall'effetto del sistema nervoso autonomo. Ad esempio vasocostringendo le vene aumenta la pressione al loro interno e ciò forza il sangue a muoversi verso il cuore.

[35]

Il valore della CVP rappresenta come la pompa cardiaca reagisce al ritorno venoso, perciò potrebbe fornire informazioni significative se si conoscono gli altri parametri che definiscono le condizioni di lavoro del cuore [11]. È quindi un parametro utile da conoscere in ambito clinico per stabilire lo stato volumico e il precarico cardiaco [37]. Normalmente per misurarla si utilizza un catetere in modo da raggiungere il punto di misura e un manometro oppure un trasduttore di pressione per leggerne il valore. A causa della cateterizzazione venosa centrale, la misurazione della CVP risulta essere invasiva e può presentare delle complicazioni. Proprio per questa ragione sono stati indagati dei metodi di misura non invasivi, come ad esempio l'individuazione del punto di collasso della vena giugulare interna tramite ultrasuoni, ma è difficile localizzare con grande accuratezza i due punti estremi della colonna di fluido la cui altezza rappresenta la CVP [37]. Inoltre questo metodo non può essere utilizzato nel caso di soggetto supino in quanto la vena giugulare interna non collassa mai con il busto disteso.

Ciò che determina il ritorno venoso non è il valore assoluto di CVP ma il gradiente di pressione che si ha tra periferia ed atrio destro, quindi in questo gradiente pressorio la CVP è solo una dei due componenti ed è necessario valutare anche l'altro contributo.

### 1.6 Pressione sistemica media di riempimento

Nel caso in cui la pompa cardiaca venisse arrestata, non si avrebbe più alcuna forza agente sul flusso sanguigno e il sangue si muoverebbe da zone a pressione maggiore, ovvero dal distretto arterioso, a zone con pressione minore, quindi verso il distretto venoso. In questa condizione il sangue arterioso verrebbe accolto dalle vene che sono più complianti raggiungendo una pressione di equilibrio che può essere definita come la pressione sistemica media di riempimento (Mean Systemic Filling Pressure - MSFP).

Il valore della MSFP varia al variare del volume totale di sangue e dell'attività vasomotoria dei vasi sanguigni, data dalle cellule muscolari lisce presenti nelle pareti vascolari [10]. All'aumentare della MSFP, a parità di resistenza fluidodinamica del distretto venoso e del valore di CVP, aumenta di conseguenza il gradiente pressorio e quindi il ritorno venoso.

Questa pressione fornisce quindi una stima della pressione a monte che definisce l'entità del flusso di sangue che torna al cuore grazie al gradiente pressorio rispetto alla pressione dell'atrio destro [31].

Infatti, osservando la curva del ritorno venoso in Figura 1.8, il flusso di sangue che torna al cuore sarà nullo quando la pressione atriale destra coincide con la pressione media di riempimento poiché il gradiente dato dalla differenza delle due è nullo e quindi il sangue non viene spinto dalla periferia al cuore.

Si può notare inoltre che il valore massimo di ritorno venoso si ha per una pressione atriale destra pari a -2 mmHg, ovvero inferiore di 2 mmHg rispetto alla pressione atmosferica, e un'ulteriore diminuzione del valore di questa pressione non comporta un aumento del ritorno venoso poiché è presente un plateau, il quale è causato dal collasso delle vene nel momento in cui entrano nel torace che provoca il fatto di non avere un maggiore apporto di sangue

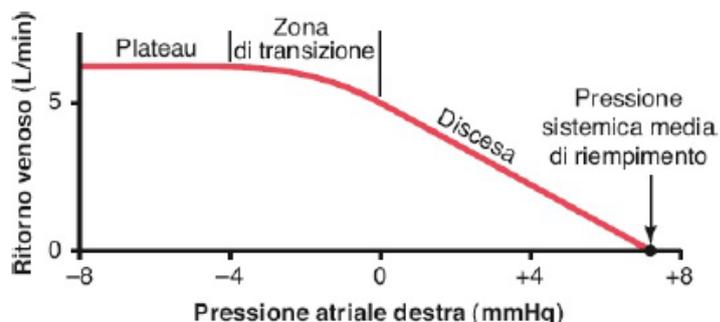


Fig. 1.8: Curva del ritorno venoso [10]

venoso [10].

La capacità vascolare di un vaso in corrispondenza di un certo valore di pressione può essere suddivisa in due volumi:

- *unstressed volume*, che corrisponde al volume di sangue che il vaso può contenere ad una pressione trasmurale nulla. È impossibile definirlo tramite misure sperimentali su esseri viventi e quindi si può determinare dalla curva di compliance interpolando la porzione lineare della curva fino ad arrivare a un valore pressorio nullo.
- *stressed volume*, che invece corrisponde al volume aggiuntivo di sangue che il vaso può accogliere oltre al volume precedente ottenendo così una pressione trasmurale positiva. Può essere calcolato come la pressione media di riempimento moltiplicata per la compliance, assumendo una relazione volume-pressione lineare. Se è noto, si può determinare l'*unstressed volume* come differenza tra il volume di sangue totale e lo *stressed volume*.

[31]

La valutazione della pressione media di riempimento rappresenta quindi il metodo per distinguere la quantità di sangue presente nel vaso tra *unstressed* e *stressed volume* [31].

La MSFP richiede l'arresto del cuore per poter essere misurata ma potrebbe essere stimata, evitando l'arresto del cuore, in due modalità: occludendo i vasi sanguigni in un arto superiore e misurando la pressione ottenuta in assenza di flusso, ma sarà minore di quella reale a causa della minore quantità di sangue presente in un arto rispetto all'intero sistema; oppure effettuando misure successive di cardiac output (CO) in relazione a variazioni di gradienti pressorio per modificare il ritorno venoso e interpolando la curva fino a farla arrivare a CO nullo ottenendo il valore di pressione corrispondente. Per ottenere una modifica del ritorno venoso (VR) si esegue un caricamento del volume ematico pari a 500 ml.

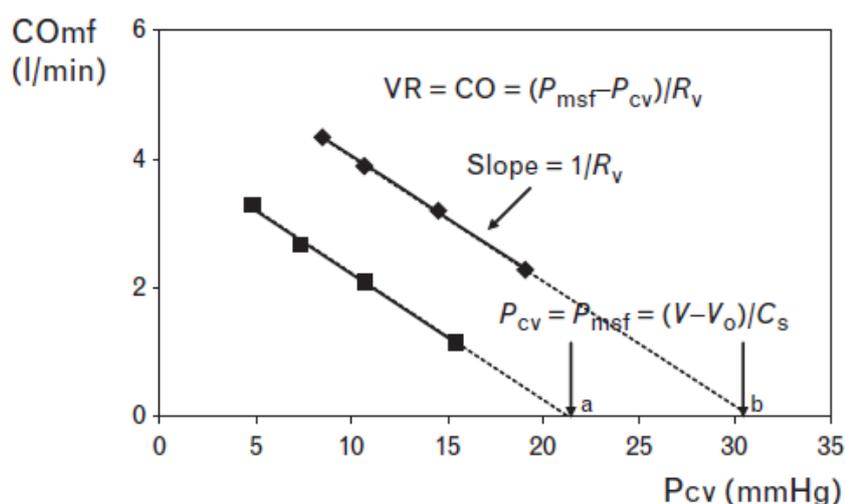


Fig. 1.9: Relazione tra CO e CVP da cui si deriva il valore di MSFP: curva a nel caso di normovolemia e curva b nel caso di ipervolemia [13]

Ciò può essere osservato nella Figura 1.9, in cui  $V_0$  indica l'unstressed volume e quindi  $V - V_0$  lo stressed volume,  $C_s$  è la compliance sistemica,  $R_v$  è la resistenza vascolare incontrata tra la pressione sistemica media di riempimento  $P_{msf}$  e la pressione venosa centrale  $P_{cv}$ .

Se lo stressed volume aumenta, a causa di un aumento della volemia, la MSFP aumenta e come conseguenza si ha anche l'aumento del ritorno venoso sia perché il gradiente pressorio con la pressione atriale destra è maggiore sia perché distendendo le pareti vasali la resistenza fluidodinamica diminuisce; e infine si dovrebbe giungere a un aumento della gittata cardiaca [13].

Ma in caso di inefficienza della funzione cardiaca, per cui l'aumento del ritorno venoso non comporta un aumento della gittata, le variazioni critiche della volemia possono avere gravi conseguenze.

Infatti, le curve create da Guyton modellizzano questo aspetto della circolazione: una curva rappresenta il ritorno venoso mentre l'altra corrisponde alla curva di Starling che indica la funzionalità cardiaca. Il cardiac output è determinato dal punto di intersezione delle due curve [2]. Esse possono essere osservate in Figura 1.10: curva blu del ritorno venoso e la curva rossa della funzionalità cardiaca si intersecano nel punto A che corrisponde al valore di cardiac output.

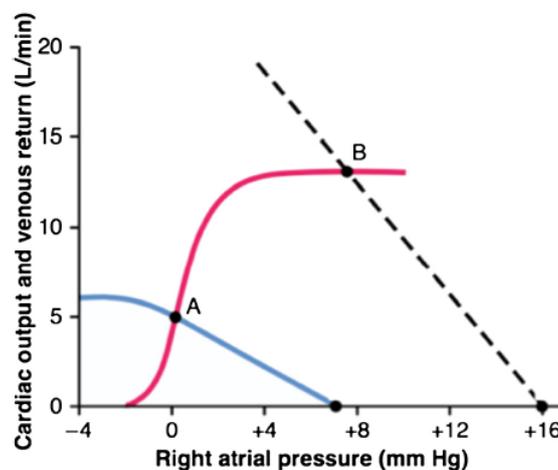


Fig. 1.10: Le curve di Guyton per modellizzare la circolazione [2]

Perciò per una determinata curva di funzionalità cardiaca, aumentando il ritorno venoso, il valore di cardiac output aumenta. Infatti se il ritorno venoso fosse rappresentato dalla curva tratteggiata il punto di intersezione, sempre con la medesima curva di funzionalità cardiaca, sarebbe il punto B invece

---

del punto A, a cui corrisponde un valore di cardiac output maggiore. Invece se il ritorno venoso viene aumentato ma la funzionalità cardiaca presenta una scarsa efficienza, per cui la sua curva arriva prima al plateau, la nuova intersezione non rappresenterà un maggior cardiac output ma semplicemente il cuore verrà sovraccaricato con un volume di sangue elevato.

## 2. PULSE WAVE VELOCITY (PWV)

Un'onda di pressione è un'onda che si propaga all'interno di un fluido attraverso fenomeni di compressione o decompressione che avvengono localmente. La sua velocità di propagazione all'interno di un condotto dipende non solo dalle caratteristiche del fluido stesso ma anche dalla rigidità delle pareti del condotto e dalle resistenze incontrate durante il percorso.

All'interno del sistema cardiovascolare il fluido in questione è il sangue, il quale non ha una viscosità costante ma varia al variare dello stato di moto, e i condotti in cui scorre sono i vasi sanguigni che non sono a pareti rigide ma hanno un certo tono modulato dalla muscolatura liscia contenuta nelle loro pareti.

La Pulse Wave Velocity (PWV) è la stima della velocità con cui si propaga un'onda di pressione all'interno di un vaso sanguigno, cioè quanto tempo impiega a percorrere una certa distanza nel vaso.

L'equazione più semplice che descrive la velocità di propagazione di un'onda pulsatoria in un sistema elastico, assumendo che il fluido sia inviscido e incomprimibile, è quella di Moens-Korteweg [27]:

$$c^2 = \frac{Ed}{2\rho R}$$

dove  $c$  è la velocità di propagazione,  $E$  è il modulo elastico di Young del sistema,  $d$  è lo spessore della parete del vaso,  $\rho$  è la densità del sangue e  $R$  è il raggio del vaso.

Se si considerano il modulo di Young e la densità del sangue costanti, la velocità dell'onda pulsatoria risulta essere proporzionale al rapporto  $\frac{d}{R}$  [27].

La velocità di propagazione di un'onda pulsatoria in un vaso sanguigno può essere valutata tramite la misura di due quantità: il tempo di transito dell'onda lungo un certo segmento del vaso e la distanza tra i due estremi del

segmento, dove si hanno i siti di registrazione [3]. Da queste due grandezze, la velocità di propagazione si ottiene come spazio percorso dall'onda di pressione su tempo impiegato. Entrambe le misure possono essere registrate in modo non invasivo: la distanza viene misurata sulla cute tra i due punti considerati e l'intervallo di tempo viene misurato come differenza temporale nei due siti di registrazione di un certo punto preso come riferimento dell'onda pulsatoria rilevata tramite un dispositivo Doppler. Come punto di riferimento si preferisce prendere il punto di insorgenza dell'onda, chiamato footprint, poiché rispetto al picco o ad altri punti è più ripetibile nei vari cicli cardiaci [3]. Infatti il footprint dell'onda ha meno probabilità di essere influenzato dalla distorsione della forma dell'onda pulsatoria durante la sua propagazione [19].

### 2.1 Misura della PWV nel sistema arterioso

La misura della PWV nelle arterie sta assumendo crescente importanza per la determinazione della rigidità arteriosa, e di conseguenza del rischio emodinamico [3]. La rigidità arteriosa rappresenta infatti un parametro clinico fondamentale poiché indica l'ostacolo che si oppone alla distensione delle arterie al passaggio del flusso sanguigno pulsatile. Per stabilire il suo valore, teoricamente sarebbe necessario un approccio invasivo tramite una cateterizzazione utilizzando dei sensori per la misura di pressione e flusso [33], ma grazie alla PWV è possibile darne una stima in un modo molto semplice e non invasivo. Ciò è possibile in quanto la PWV presenta una proporzionalità quadratica con il modulo di Young il quale, essendo il rapporto tra uno sforzo e la relativa deformazione, rappresenta la rigidità del sistema. Inoltre, applicando l'equazione di Moens-Korteweg nel distretto arterioso, si ottiene una relazione diretta tra la PWV e la distensibilità descritta dall'equazione di Bramwell-Hill, in cui il quadrato della PWV è proporzionale a 1/distensibilità:

$$PWV^2 = \frac{1}{\rho D}$$

La distensibilità ( $D$ ) è definita come il rapporto tra la compliance ( $C$ ) e il volume iniziale:

$$D = \frac{C}{V} = \frac{\Delta V}{\Delta P} \frac{1}{V}$$

Perciò la PWV si può scrivere in termini di variazioni relative di volume e di pressione e di conseguenza risulta essere una misura diretta della rigidità arteriosa.

$$PWV^2 = \frac{1}{\rho D} = \frac{1}{\rho \frac{\Delta V}{\Delta P} \frac{1}{V}} = \frac{V \Delta P}{\rho \Delta V}$$

Perciò l'aumentare del valore di PWV misurata nel distretto arterioso indica un aumento della rigidità arteriosa, la quale dipende da invecchiamento e ipertensione, e quindi una probabilità maggiore di riscontrare problemi cardiaci.

Sono stati portati avanti molti studi per calcolare la PWV arteriosa valutando il tempo di transito dell'onda pressoria tra l'arteria carotide comune, come sito prossimale, e l'arteria femorale, come sito distale [3].

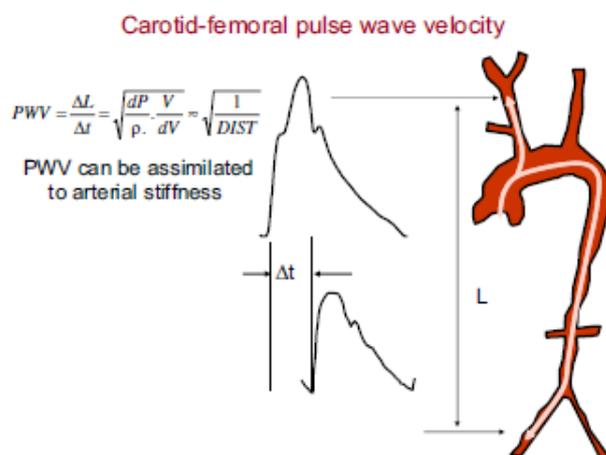


Fig. 2.1: Rappresentazione della misura di PWV carotide-femorale [3]

È stato osservato che la PWV carotido-femorale rappresenta un parametro affidabile e riproducibile per stimare la rigidità aortica [33]; proprio per questo costituisce un indice ampiamente apprezzato. Un aspetto negativo

potrebbe essere il fatto che la determinazione della PWV dipende in modo critico dal metodo utilizzato per determinare il tempo di propagazione [19]. La PWV potrebbe essere misurata teoricamente su qualsiasi vaso ma attualmente non si hanno prove di predittività di rigidità arteriosa per quanto riguarda misure più periferiche di PWV [3].

## 2.2 Misura della PWV nel sistema venoso

La valutazione della PWV per il sistema venoso, al contrario di quello arterioso, non è stata presa in considerazione da numerosi studi probabilmente a causa delle maggiori difficoltà riscontrate nel registrare il flusso venoso. Infatti esso presenta una pulsatilità e una portata nettamente inferiori rispetto al flusso arterioso e anche delle forti modulazioni, soprattutto da parte della respirazione e del sistema nervoso autonomo, che non sempre possono essere controllate. Il flusso venoso presenta solo una scarsa pulsatilità naturale, che dovrebbe essere retrograda dall'atrio destro e che diminuisce man mano che ci si muove distalmente: infatti da studi eseguiti sul ritorno venoso, si è osservato che il flusso sanguigno nella vena cava superiore è accelerato durante la sistole ventricolare e che questa accelerazione è causata dalla contrazione del miocardio che espande l'atrio; quindi ad ogni battito il cuore non solo eietta il sangue nelle arterie ma attinge anche il sangue dalle vene nell'atrio [4].

Però le pulsazioni naturali che normalmente si verificano nel distretto venoso presentano un'ampiezza troppo bassa per poter essere analizzate con il metodo descritto per la PWV nelle arterie [17]. Dei pochi studi di PWV effettuati nel distretto venoso, solo due di essi sono stati svolti su soggetti umani e non animali [17, 27]. In questi studi, per far fronte alla bassa entità della pulsatilità naturale, sono state prodotte delle pulsazioni artificiali tramite delle compressioni distali degli arti [7]. Infatti effettuando una compressione, le vene, soprattutto quelle superficiali, riducono il loro raggio e di conseguenza la pressione al loro interno aumenta generando un'onda pulsatoria positiva, la cui propagazione in direzione prossimale viene osservata per valutare la PWV.

---

Nonostante le probabili difficoltà, lo studio della PWV nel distretto venoso potrebbe avere grandi potenzialità nel determinare lo stato volemico di un soggetto, il quale è di ampio interesse in clinica. Questa affermazione deriva dal fatto che il sistema venoso rappresenta la riserva di fluidi per il corpo, dato che contiene gran parte della quantità di sangue presente nel sistema cardiovascolare e, al variare della quantità di fluidi presenti nelle vene, varia la loro contrazione e di conseguenza dovrebbe variare la PWV venosa. La sua misura nel sistema venoso infatti indica il grado di contrazione delle vene [7] in quanto, nel caso di vasocostrizione, la pressione interna aumenta e di conseguenza anche la velocità dell'onda.

### 2.3 *Ambito clinico*

In clinica, è spesso necessario misurare lo stato volemico, ovvero la quantità di volume sanguigno totale presente nel corpo, nei pazienti in terapia intensiva. Il corpo cerca di mantenere il valore di volemia entro dei limiti adeguati ma a causa di alcune patologie si possono avere casi di ipervolemia o ipovolemia, rispettivamente una quantità eccessiva o ridotta di sangue nell'organismo.

Nel caso di pazienti critici in terapia intensiva che risultano essere ipotesi, a causa di una pressione sanguigna bassa, per poterli rianimare si può eseguire un'infusione di fluidi con lo scopo di ottenere un aumento della gittata cardiaca e quindi una maggior pressione ma in alcuni casi non è facile stabilire se questa infusione sia effettivamente necessaria e vantaggiosa per il paziente. L'infusione di fluidi si basa sul fatto che ci sia una relazione tra il precarico del cuore e la gittata sistolica, e di conseguenza il cardiac output, per cui quest'ultimo può essere aumentato dall'infusione, ma se il paziente presenta un'insufficienza cardiaca, per cui il cuore non è capace di fornire un output adeguato, o un'insufficienza circolatoria acuta, in cui non si riesce ad avere un corretto ritorno venoso, la decisione di somministrare dei fluidi non è così semplice e immediata [23], poiché il sistema cardiovascolare potrebbe non essere in grado di reggere l'apporto di nuovi fluidi e quindi a seguito della loro infusione si potrebbero avere conseguenze dannose.

Per poter prendere la decisione corretta è necessario sapere in precedenza se, in seguito a una determinata infusione di fluidi, il cardiac output avrà un significativo aumento e quindi il paziente avrà beneficiato dell'infusione [9]. Un soggetto in cui ciò avviene viene definito *fluid responder*. Si vorrebbe quindi capire in un modo agevole e veloce se un certo paziente lo sia o meno, perciò il primo passo nella strategia della fluido-terapia dovrebbe essere la predizione della fluid responsiveness, distinguendo tra i due casi:

- *responder*: l'infusione di fluidi (Volume Expansion - VE) produce un aumento significativo del cardiac output (CO). Ciò indica una dipendenza del CO dal precarico del cuore e uno stato di ipovolemia che può essere riportato a uno stato volemico normale grazie all'infusione di fluidi;
- *nonresponder*: a seguito del VE non viene prodotto un aumento significativo del CO. Questo caso potrebbe rappresentare uno stato di normovolemia, di sovraccarico cardiaco o di insufficienza cardiaca.

[1]

A tal fine, in clinica sono presenti alcuni parametri misurabili come ad esempio la pressione venosa centrale (CVP) o il volume telediastolico (EDV) ma, essendo misure statiche, forniscono un solo valore in un certo punto della curva di Frank-Starling, la quale varia per i diversi soggetti e può variare in uno stesso soggetto in base alla condizione in cui si trova, perciò non danno un'indicazione sull'andamento della curva e sulla risposta che avrà il soggetto. Infatti un loro determinato valore potrebbe corrispondere sia a un caso di *responder* sia ad un caso di *nonresponder* in base alla forma della curva [23]. Inoltre è anche complicato distinguere se le variazioni di CVP siano dovute a variazioni di volume oppure a variazioni di tono vascolare e soprattutto stabilire un suo valore soglia che possa aiutare a distinguere i due casi.

Quindi essi forniscono informazioni utili per quanto riguarda la stima del precarico cardiaco ma non per la fluid responsiveness. Non possono essere

perciò usati per predire la risposta del paziente all'infusione di fluidi ma danno un'indicazione sul grado di riempimento delle camere cardiache [9].

Per superare i limiti di questi parametri statici sono stati sviluppati nuovi parametri derivanti da test dinamici, ovvero delle prove in cui le misure vengono registrate in due diverse situazioni e se ne osservano le variazioni. In essi viene effettuato un preload challenge, cioè si provoca una variazione del precarico cardiaco, e poi si osserva la conseguente variazione nella gittata. Si riportano di seguito alcuni esempi di test dinamici [23].

- Ventilazione meccanica: si effettuano variazioni di parametri emodinamici dovute a modifiche della pressione intratoracica, ma queste variazioni indotte dalla ventilazione hanno una piccola ampiezza che spesso può non essere sufficiente per causare un aumento significativo del precarico [23];
- End Expiratory Occlusion (EEO): si interrompe la ventilazione meccanica per pochi secondi nei pazienti ventilati e in questo modo il precarico cardiaco aumenta grazie alla diminuzione dell'ostacolo presente al ritorno venoso [24];
- Passive Leg Raising (PLR): questo test si basa sul fatto che le modifiche posturali causano spostamenti significativi di sangue venoso. Infatti partendo dal soggetto semi sdraiato a  $45^\circ$ , si esegue una traslazione rigida del lettino arrivando alla posizione in cui il soggetto ha il busto disteso e le gambe sollevate a  $45^\circ$ , ottenendo un trasferimento di sangue verso la parte superiore del corpo. L'aumento di volume sanguigno in questa zona è stato stimato essere mediamente pari a circa 300 ml [25]. Ciò produce una variazione del precarico cardiaco che può portare a un aumento della gittata. È una fluid challenge reversibile [22] perché nel momento in cui gli arti inferiori vengono riportati giù il valore di precarico ritorna ad essere quello iniziale ma il suo effetto non è prolungato oltre qualche minuto dopo aver alzato le gambe [24].
- Mini fluid challenge: è una piccola infusione di fluidi di circa 100 ml che non comporta il sovraccarico di fluidi, è un metodo più diretto ma non è

un fluid challenge reversibile ed essendo costituita da un piccolo volume di fluidi produce piccole variazioni di precarico e quindi per individuare le possibili conseguenti variazioni di cardiac output sarebbe necessario un sistema di misura molto accurato [24].

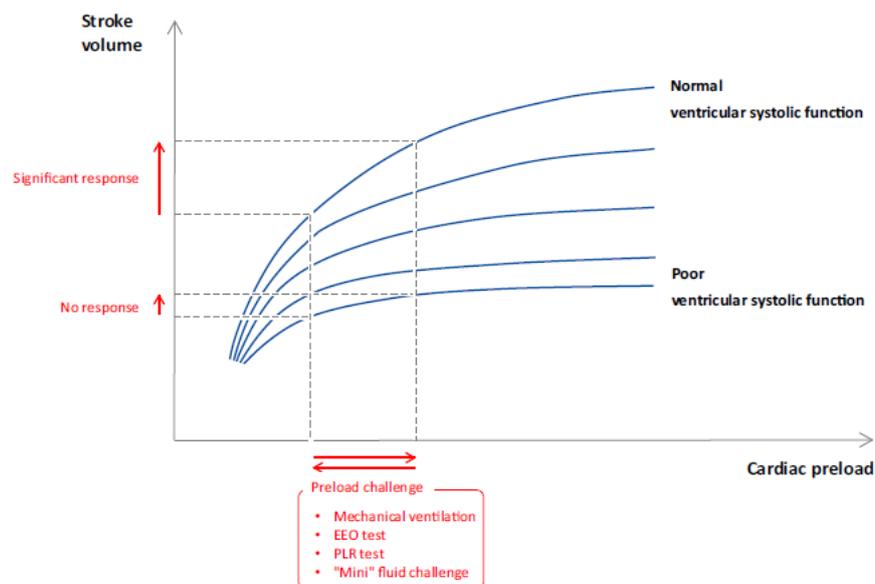


Fig. 2.2: Curve di Frank-Starling al variare della funzione ventricolare sistolica a cui si applica un test dinamico [23]

Tra quelli descritti, il PLR risulta essere un metodo molto apprezzato per predire la fluid responsiveness poiché non presenta la necessità di ventilazione meccanica, in quanto è indipendente dall'interazione cuore-polmoni, ed effettua una fluid challenge simulata, senza l'effettiva infusione di fluidi.

Come si può osservare nella Figura 2.2, la fluid challenge permette di prevedere la risposta del sistema cardiaco, perché individua due punti sulla curva di Frank-Starling. In base all'efficienza della funzione ventricolare sistolica, la curva cambia e ciò definisce la distinzione tra caso *responder* e caso *nonresponder*. Infatti si può avere fluid responsiveness solo se la gittata in uscita dal cuore presenta una certa dipendenza dal precarico, ovvero se i ventricoli stanno lavorando nella parte ascendente della curva [24], mentre

nella parte piatta della curva non si ha questa evidente dipendenza. Nel caso in cui la funzione ventricolare sia scarsa, la curva raggiunge prima la porzione con profilo piatto presentando minor pendenza, e quindi un aumento di precarico cardiaco non produce un conseguente aumento della gittata sistolica. Ciò determina il fatto di non ottenere un beneficio in risposta alla fluido-terapia. Proprio per questo è fondamentale sapere anticipatamente se si è nel caso di fluid responsiveness o meno.

#### 2.4 Obiettivo dello studio

La PWV misurata nel distretto venoso (vPWV) potrebbe essere molto utile per determinare in modo efficiente e veloce lo stato volemico di un soggetto in quanto, grazie alla maggior complianza rispetto al sistema arterioso, le vene riescono ad ospitare gran parte del volume di sangue totale presente nel corpo. Infatti le variazioni di vPWV, misurata in corrispondenza degli arti superiori o inferiori, rappresentano le variazioni di pressione venosa periferica che quindi indicano cambiamenti nel grado di contrazione e di riempimento del distretto venoso, come già analizzato nel lavoro precedente [29].

Questo lavoro di tesi è obbiettivato a vedere se la misura di vPWV ha una sensibilità sufficiente a rilevare variazioni di pressione venosa di lieve entità, compatibili con quelle di uso clinico. Il seguente lavoro è stato pertanto orientato a:

1. implementare accorgimenti sperimentali volti a minimizzare la variabilità della misura non invasiva di vPWV;
2. testare la sensibilità della misura in soggetti sani durante una manovra che simula una variazione acuta di volemia e pressione venosa e che è ampiamente utilizzata in clinica a questo scopo, ovvero il Passive Leg Raising (PLR);
3. eseguire una misura di vPWV rapida e ripetibile in quanto gli effetti del PLR sono transitori anche se si ha l'innalzamento prolungato delle gambe, probabilmente a causa di fenomeni di compensazione.

Nel dettaglio, essendo gli arti inferiori impegnati nella manovra, è stato innanzitutto necessario testare la fattibilità della misura sugli arti superiori. Inoltre, dovendo mantenere il busto del soggetto disteso per poter eseguire le misure sul braccio, si è deciso di eseguire al posto del PLR standard un PLR supino, in cui il busto rimane nella medesima posizione e vengono sollevate solo le gambe. Con un PLR supino si ottengono delle variazioni leggermente inferiori al PLR standard ma comunque efficaci al fine di realizzare una fluid challenge [12].

Al fine di misurare la vPWV su un arto superiore, l'approccio selezionato prevede di dare una compressione in corrispondenza della mano per generare l'onda di pressione e poi di rilevarla tramite una sonda ecografica a livello della zona ascellare.

È stato poi messo a punto un sistema di sincronizzazione dello stimolo pressorio con l'attività cardiaca e respiratoria dato il loro notevole effetto di modulazione sul flusso venoso.

La motivazione che si ha dietro questo studio è semplificare la decisione per la somministrazione di fluidi indagando il potere predittivo della vPWV sulla capacità di tollerare dei fluidi infusi ottenendo una corretta efficienza cardiaca.

### 3. MATERIALI E PROTOCOLLI

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è quello di calcolare la venous Pulse Wave Velocity (vPWV) su un certo numero di soggetti e osservare come essa cambia a seguito della manovra del Passive Leg Raising (PLR), la quale induce una variazione di volemia. Al fine di poterla valutare in maniera non invasiva è stato definito un set-up sperimentale costituito da vari strumenti che insieme forniscono le indicazioni necessarie. Per prima cosa sono necessari un sistema di compressione pneumatica per poter produrre un'onda di pressione nel distretto venoso del braccio e un dispositivo Eco-Doppler, che tramite una sonda posta ad una certa distanza dal punto di compressione, permette di rilevare l'onda pulsatoria che si è propagata lungo questa distanza. Inoltre è di estrema importanza per questo studio rendere la misura di vPWV più ripetibile possibile, perciò si vuole sincronizzare la compressione con il respiro e con il battito cardiaco. Per tale ragione vengono introdotti un dispositivo per acquisire il segnale elettrocardiografico e un metodo di rilevazione della fase respiratoria. Tutto ciò viene gestito ed elaborato grazie a un sistema di acquisizione.

#### 3.1 *Sistema di compressione*

Il sistema di compressione è utilizzato con lo scopo di generare lo stimolo di pressione necessario per comprimere la mano e ottenere un'onda di pressione visibile nel flusso venoso in modo da osservare come essa si propaga. Il sistema è costituito dai seguenti componenti.

- Compressore: macchina che consente di alzare la pressione di un gas fino a un certo valore, il quale viene impostato a 3 bar.

- 
- **Regolatore di pressione:** dispositivo che permette di offrire a valle di esso un valore di pressione ben definito e costante a differenza del valore di pressione a monte, che corrisponde a quello del compressore. Il valore di pressione viene regolato a 20 psi, ovvero a circa 1,4 bar.
  - **Due elettrovalvole digitali monostabili a due vie** (modello SMCVXE2330-02F-6D01), una dedicata al gonfiaggio del manicotto e l'altra dedicata allo sgonfiaggio. Esse devono essere alimentate per permetterne il funzionamento e ricevono i segnali digitali di apertura e chiusura dal sistema di acquisizione utilizzato. L'elettrovalvola relativa al gonfiaggio, durante la sua apertura, permette il passaggio di aria, che arriva dal regolatore di pressione, all'interno del manicotto. Invece l'elettrovalvola per lo sgonfiaggio, quando è aperta, permette il passaggio dell'aria contenuta nel manicotto verso l'ambiente esterno.
  - **Manicotto e cuscinetto d'acqua:** il manicotto a doppio tubo viene avvolto attorno alla mano del soggetto. Esso tramite un tubo è collegato al sistema delle elettrovalvole che gestisce il suo gonfiaggio e sgonfiaggio. Per rendere ottimale e uniforme la compressione del palmo della mano si è interposto tra la mano del soggetto e il manicotto un cuscinetto d'acqua, il quale contenendo un fluido in prima approssimazione incompressibile, riesce a trasmettere efficacemente la compressione.
  - **Trasduttore di pressione:** è un sensore capace di convertire la pressione rilevata in un segnale elettrico di tensione analogico. È in grado di rilevare la pressione grazie alla quantificazione della deformazione fisica di una membrana posta tra le camere al suo interno tramite sensori di spostamento. Questo trasduttore viene posizionato in prossimità del manicotto e collegato al suo secondo tubo in modo da poter dare un'indicazione sull'andamento dell'onda di pressione che viene trasmessa. Con questa modalità e con i valori impostati per il sistema di elettrovalvole, si ottiene all'interno del manicotto una pressione pari a circa 300 mmHg per un tempo minore a 1 secondo.

- Monitor di pressione: un dispositivo che fornisce l'alimentazione necessaria al sensore di spostamento all'interno del trasduttore di pressione per poter funzionare ed ha in ingresso il segnale elettrico derivante dal trasduttore per fornirgli il sistema di condizionamento opportuno. In questo modo si ha in uscita il segnale con un'amplificazione adeguata che poi verrà visualizzato sul PC in mmHg tramite un certo fattore di scala dato dalla calibrazione.

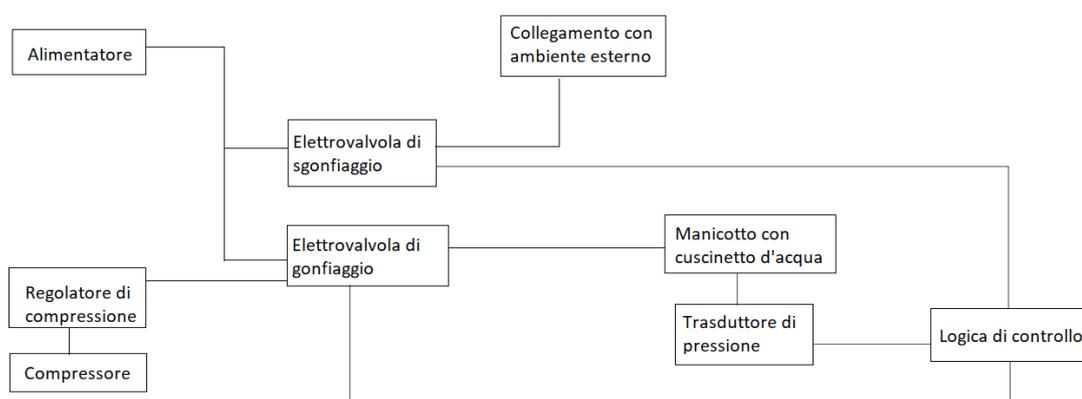


Fig. 3.1: Schema del sistema di compressione

### 3.2 Dispositivo Eco-Doppler

Il dispositivo utilizzato per rilevare la propagazione dell'onda di pressione è un Eco-Doppler (ESAOTE, MyLab 25 Gold), la cui sonda viene posizionata sulla cute del braccio in corrispondenza della vena basilica, evitando valvole e biforcazioni.

#### 3.2.1 Utilizzo degli ultrasuoni

Questo dispositivo si basa sull'utilizzo degli ultrasuoni, ovvero di onde meccaniche con frequenza superiore a quelle dell'udibile umano, quindi maggiore di

20 kHz, ed elastiche, che, tramite compressione o rarefazione, possono trasferire energia meccanica ai tessuti incontrati. La loro applicazione in medicina per scopi sia diagnostici sia terapeutici è ampiamente accettata [20].

La velocità della loro propagazione dipende dalle caratteristiche elastiche del mezzo in cui viaggiano, quindi grazie al loro utilizzo si può risalire alle proprietà dei tessuti insonati. Infatti ogni materiale è caratterizzato da una propria impedenza acustica  $Z$  la quale rappresenta la resistenza che un dato mezzo oppone verso la propagazione dell'onda acustica che lo sta attraversando. Questa grandezza dipende sia dalla velocità di propagazione dell'onda nel mezzo sia dalla densità del mezzo.

$$Z = \rho v$$

Gran parte dei tessuti molli all'interno del corpo umano presentano impedenze acustiche simili ( $1.38 \cdot 10^6 \frac{Kg}{m^2s} \leq Z \leq 1.70 \cdot 10^6 \frac{Kg}{m^2s}$ ). I mezzi che si distinguono in modo importante da essi sono l'aria e il tessuto osseo. L'aria, avendo una bassa densità, presenta un'impedenza acustica molto bassa ( $Z = 0.0004 \cdot 10^6 \frac{Kg}{m^2s}$ ), al contrario l'osso ha un'impedenza acustica elevata ( $Z = 7.80 \cdot 10^6 \frac{Kg}{m^2s}$ ).

Inoltre, si ha una relazione tra la velocità di propagazione dell'onda acustica nel mezzo e la sua frequenza.

$$v = \lambda f$$

Esse sono legate dalla lunghezza d'onda  $\lambda$ , ovvero la distanza tra due sue creste. Da ciò si può dedurre che, a parità di velocità di propagazione, se la frequenza aumenta, la lunghezza d'onda diminuisce, quindi migliora la risoluzione spaziale, ma in questo modo si riesce ad arrivare a una minore profondità rispetto al caso con frequenza più bassa.

Per generare e rilevare gli ultrasuoni viene sfruttato l'effetto piezoelettrico, il quale mette in relazione una deformazione meccanica con una differenza di potenziale.

- Effetto piezoelettrico diretto: una variazione delle dimensioni del cristallo piezoelettrico causa una variazione di potenziale tra le facce del

cristallo; quindi il materiale genera una tensione proporzionale alla modifica meccanica subita.

- Effetto piezoelettrico inverso: una variazione tra il potenziale delle facce del cristallo piezoelettrico causa una deformazione meccanica del cristallo; quindi si ottiene una modifica nelle dimensioni a causa di una tensione imposta.

L'effetto inverso viene utilizzato per generare gli ultrasuoni, mentre quello diretto per poterli ricevere. Non si possono avere entrambi gli effetti contemporaneamente, quindi tutti i dispositivi hanno dei cristalli che non emettono di continuo ma emettono degli impulsi e poi passano in modalità di ricezione. Dunque gli ultrasuoni vengono generati grazie a un materiale piezoelettrico inserito nella sonda dell'ecografo a cui viene applicata una differenza di potenziale opportuna; di conseguenza, esso produrrà delle onde meccaniche che verranno trasferite ai tessuti sottostanti. Successivamente il materiale funziona anche come ricevitore dell'onda meccanica che ritorna dai tessuti poiché è stata riflessa, la quale è chiamata "eco" e produce una conseguente differenza di potenziale sul cristallo piezoelettrico della sonda. Elaborando questo segnale di tensione si riescono a rilevare i punti in cui l'onda è stata riflessa o trasmessa e quindi ad ottenere un'immagine di ciò che è stato insonato. Gli ultrasuoni (US) rispettano la legge di Snell, che descrive come un'onda incidente su un'interfaccia tra due mezzi diversi venga trasmessa e riflessa. Viene infatti valutata la deviazione nella direzione di propagazione quando l'onda si trasferisce da un mezzo 1 a un mezzo 2.

Essa fornisce la relazione tra l'angolo d'incidenza  $\alpha_1$ , il quale coincide con l'angolo di riflessione, e l'angolo di rifrazione  $\alpha_2$ .

$$n_1 \sin \alpha_1 = n_2 \sin \alpha_2$$

in cui  $n_1$  e  $n_2$  sono gli indici di rifrazione dei due mezzi. L'indice di rifrazione di un mezzo è il rapporto tra la velocità di propagazione nel vuoto, la quale è una costante  $c = 3 \cdot 10^8 m/s$ , e la velocità di propagazione nel mezzo considerato, perciò rappresenta la diminuzione della velocità di propagazione

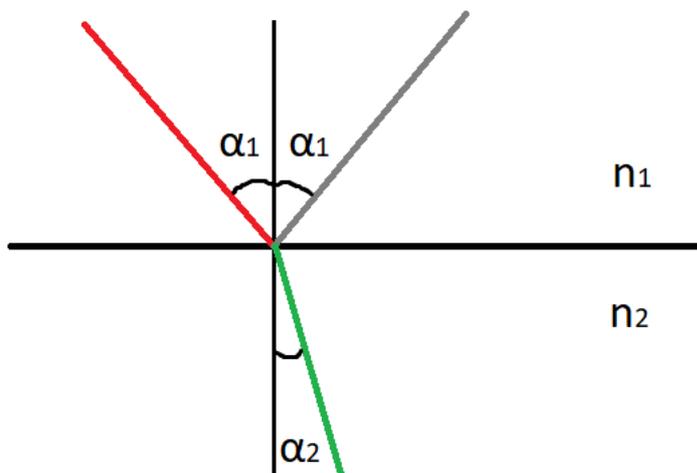


Fig. 3.2: Rappresentazione della legge di Snell

dell'onda quando essa attraversa il materiale.

$$n = \frac{c}{v}$$

Infatti, nel momento in cui l'onda US incontra l'interfaccia tra due mezzi con impedenza acustica differente una parte di essa viene riflessa con angolo  $\alpha_1$  rispetto alla normale dell'interfaccia e una parte viene trasmessa al mezzo 2 con angolo  $\alpha_2$ , sempre rispetto alla normale. Da ciò deriva:

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{n_2}{n_1}$$

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{v_1 c}{v_2 c}$$

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{v_1}{v_2}$$

Quindi gli angoli dipendono dalla velocità di propagazione nei due mezzi.

Inoltre è possibile calcolare come l'intensità dell'onda incidente sull'interfaccia viene ripartita tra il raggio riflesso e il raggio rifratto, tramite i coefficienti di riflessione e trasmissione.

$$\text{Coefficiente di riflessione: } R = \left(\frac{Z_1 - Z_2}{Z_1 + Z_2}\right)^2$$

$$\text{Coefficiente di trasmissione: } T = 1 - R$$

Nel caso in cui i tessuti che costituiscono la discontinuità abbiano valori di impedenza acustica prossimi, il coefficiente di riflessione tende ad essere molto basso e quindi si ha difficoltà nel ricevere un eco dall'interfaccia per poterne definire il contorno e realizzare l'immagine. Invece se uno dei due tessuti che costituiscono l'interfaccia presenta un'impedenza acustica trascurabile rispetto all'altra, il coefficiente di riflessione tende all'unità e ciò significa che gran parte dell'onda viene riflessa e non trasmessa; quindi una discontinuità molto alta crea un blocco per il passaggio del ultrasuoni. Infatti il tessuto osseo, avendo un'impedenza acustica elevata, risulta essere uno schermo per le rilevazioni e quindi si deve cercare di insonare la zona con determinate angolazioni per poter rilevare ciò che si trova nelle vicinanze del materiale osseo. Allo stesso modo, l'aria ha un'impedenza acustica molto bassa e quindi la discontinuità che si genera tra la cute e l'aria quando si posiziona la sonda ecografica può creare problemi. Per adattare l'impedenza acustica e diminuire la discontinuità con l'aria si utilizza un gel, a base di acqua e glicole propilenico, interposto tra la sonda e la cute. Il gel è infatti fondamentale perché l'aria si può intrappolare tra le rugosità della cute e quindi peggiorare notevolmente l'immagine ottenuta.

Gli US, propagandosi nel mezzo, subiscono un'attenuazione in quanto perdono dell'energia durante il percorso perché essa viene assorbita dal mezzo. Questa attenuazione dell'ampiezza dell'onda ha un andamento esponenziale decrescente:

$$A(z) = A_0 \exp(-\alpha z)$$

dove  $\alpha$  è il coefficiente di assorbimento che dipende dal mezzo in cui gli US si stanno propagando ma esso varia con la frequenza. Infatti esso cresce all'aumentare della frequenza; servirebbe una frequenza alta per avere una risoluzione spaziale migliore ma con alti valori di frequenza il coefficiente  $\alpha$ , essendo elevato, produce una grande attenuazione e proprio per questo motivo non si riesce ad arrivare in profondità. Dunque si utilizzano frequenze

alte solo per insonare le zone più superficiali e frequenza basse per i tessuti più profondi.

Una sonda ecografica è costituita da un array di trasduttori piezoelettrici che consente di ottenere immagini 2D. Infatti essi generano impulsi US che viaggiano nel tessuto e che quando incontrano un cambio di impedenza acustica una loro parte torna indietro, e poi trasformandosi in ricevitori attendono l'eco di ritorno. Dalla misura del tempo  $\Delta t$  tra la pulsazione inviata

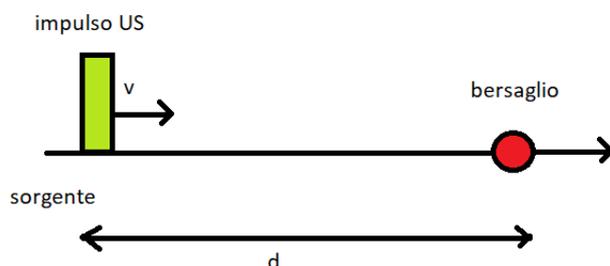


Fig. 3.3: Schema di un impulso US

e quella ricevuta e la conoscenza della velocità di propagazione si ricava la distanza percorsa e quindi la profondità dell'eco  $d$ :

$$d = \frac{1}{2}v\Delta t$$

Se sono presenti più discontinuità torneranno indietro più echi con i loro rispettivi tempi. Tutte le varie profondità dei segnali ricevuti sono fondamentali per la ricostruzione dell'immagine ecografica. Essa è come se fosse una griglia in cui le colonne rappresentano le varie linee di scansione, date dall'array di trasduttori piezoelettrici, e le righe rappresentano gli intervalli di tempo e di conseguenza le profondità degli echi ricevuti.

Nello studio svolto è stata utilizzata una sonda lineare, la quale è adatta per applicazioni vascolari superficiali, impostando  $f = 5MHz$ , con visualizzazione B-mode (Brightness), che mostra un'immagine bidimensionale degli echi in scala di grigio.

### 3.2.2 Flussimetria Doppler

Gli US, oltre ad essere utili per ottenere immagini dell'interno del corpo in modo non invasivo, possono essere utilizzati anche per misurare il flusso del sangue nei vasi sanguigni ed è questa l'applicazione sfruttata nel protocollo per il calcolo della vPWV. Infatti la rilevazione del passaggio dell'onda pulsatoria generata viene effettuata proprio grazie al dispositivo usato come flussimetro. Questa applicazione degli ultrasuoni si basa sull'effetto Doppler, il quale prevede che in presenza di un movimento relativo tra la sorgente e il ricevitore, quest'ultimo percepisce una modifica nella frequenza degli impulsi US che è proporzionale a una variazione di velocità e alla direzione del moto. Quindi se la sorgente è in avvicinamento rispetto al ricevitore esso percepisce la sorgente a una frequenza maggiore di quella propria, se invece è in allontanamento allora la percepirà a una frequenza minore. La variazione della frequenza risulta pari a:

$$\Delta f = f_R - f_S = \frac{2f_S v}{c} \cos \theta$$

dove  $f_S$  è la frequenza della sorgente,  $f_R$  è la frequenza ricevuta,  $\theta$  è l'angolo tra la direzione della sorgente e quella del ricevitore,  $c$  è la velocità di propagazione degli ultrasuoni nel mezzo (nel caso del sangue  $c=1560$  m/s) e  $v$  è l'incognita, ovvero la velocità del moto relativo tra sorgente e ricevitore.

Per ottenere l'effetto Doppler ci deve essere un movimento relativo tra il bersaglio degli ultrasuoni e la sonda dell'ecografo. Nel caso in cui si ponga la sonda ecografica sulla cute per insonare un determinato vaso sanguigno la sorgente dell'onda riflessa è rappresentata dalla parte corpuscolata del sangue che, essendo trasportata dal flusso sanguigno, attraversa la sezione del vaso, mentre il ricevitore è la sonda.

Applicando quindi l'effetto Doppler, il moto della parte corpuscolata del sangue, principalmente dei globuli rossi, produrrà una variazione di frequenza dell'onda riflessa e si sfrutta questo shift in frequenza per ricavare il flusso sanguigno su una certa sezione del vaso insonato.

Ponendo la sonda in modo ortogonale rispetto al vaso, quindi ottenendo un angolo  $\theta = 90^\circ$ , lo shift in frequenza  $\Delta f$  risulterebbe essere nullo e quindi

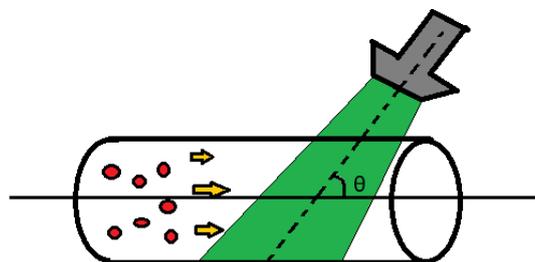


Fig. 3.4: Rappresentazione del flussimetro Doppler

non sarebbe possibile ottenere informazioni riguardo il flusso. Il caso migliore sarebbe avere  $\cos \theta = 1$ , ciò significherebbe porre la sonda in modo parallelo al vaso sanguigno, la quale è un'operazione non possibile. Per risolvere il problema si utilizza un range di angoli facili da realizzare nel caso di vasi sanguigni e in cui l'andamento di  $\cos \theta$  è approssimabile a una retta, in modo che l'errore commesso valutando l'angolo pesi in modo circa lineare sul valore di velocità ottenuto. Questo range va dai  $40^\circ$  ai  $60^\circ$ . Perciò come compromesso si è scelto di posizionare la sonda con un angolo circa pari a  $\theta = 60^\circ$  rispetto al vaso, con il quale si ottiene la miglior risoluzione in frequenza praticabile.

Con i valori che sono tipicamente utilizzati, questo shift in frequenza ottenuto ricade nell'udibile umano e quindi è possibile sentire il suono del flusso sanguigno che si ha all'interno di un vaso.

Ovviamente ogni globulo rosso avrà un proprio contributo e globuli rossi che viaggiano alla stessa velocità avranno lo stesso contributo in frequenza. Il segnale Doppler risultante sul dispositivo ecografico corrisponde alla trasformata tempo-frequenza del segnale non stazionario che viene ricevuto in corrispondenza della sonda e quindi si ottiene un certo andamento nel piano tempo-frequenza, che permette di visualizzare le variazioni di frequenza nei vari istanti temporali.

Per poter risalire al valore di velocità del flusso si deve applicare la formula inversa:

$$v = \frac{c}{2f_s \cos \theta} \Delta f$$

Ciò che interessa in questo studio non è però la velocità del flusso del

sangue ma è la velocità della propagazione dell'onda pulsatoria, che viene misurata valutando il tempo impiegato dall'onda per arrivare dal punto in cui è generata fino al punto in cui è rilevata sulla vena basilica e lo spazio percorso. In questo caso quindi il segnale Doppler viene sfruttato per poter rilevare l'onda di pressione che si propaga nel vaso sanguigno; essa infatti comporta una certa variazione in frequenza che permette la sua individuazione.

### 3.3 Dispositivo per l'acquisizione del segnale ECG

Il segnale elettrocardiografico (ECG) del soggetto viene acquisito con lo scopo di sincronizzare l'impulso di gonfiaggio del manicotto con il battito cardiaco in modo automatico. Il motivo di questa necessità è rappresentato dal fatto che la pulsatilità naturale presente nelle vene è fortemente dipendente dalla fase del ciclo cardiaco in cui ci si trova e, come si può osservare in Figura 3.5, la quasi completa attenuazione della pulsatilità si ha subito dopo il massimo picco del segnale ECG che rappresenta la contrazione ventricolare.

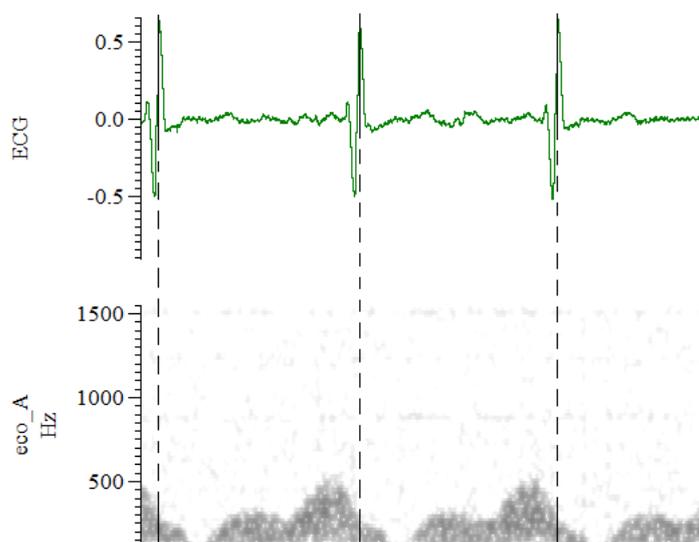


Fig. 3.5: Rappresentazione di un esempio di segnale ECG e di segnale Doppler acquisiti

La registrazione di questo segnale tramite degli elettrodi posti sulla cute in determinate posizioni permette di rilevare l'attività elettrica del cuore du-

rante il suo ciclo cardiaco. Infatti il cuore è in grado di svolgere il suo lavoro contraendosi grazie agli impulsi elettrici che si propagano al suo interno e che producono i fenomeni di depolarizzazione e ripolarizzazione. Dato che il corpo umano è conduttivo, i campi elettrici generati dall'attività cardiaca a loro volta causano differenze di potenziale tra le varie zone del corpo, le quali sono rilevabili sulla superficie corporea.

Il segnale ECG presenta delle componenti ben precise che riflettono determinate fasi dell'attività elettrica del cuore, le quali sono consecutive e ben ripetibili. Infatti, le contrazioni del cuore hanno origine da una zona definita del cuore, da cui partono i potenziali d'azione che poi viaggiano attraverso le vie di conduzione del cuore.

Grazie a questa specifica conduzione, il segnale ECG presenta tre onde caratteristiche [35], visibili in Figura 3.6:

- onda P, corrispondente alla depolarizzazione atriale;
- complesso QRS, corrispondente alla depolarizzazione ventricolare e costituito da piccole deflessioni negative (Q e S) in mezzo alle quali si ha una grande deflessione positiva chiamata onda R;
- onda T, che rappresenta la ripolarizzazione ventricolare.

Nel caso delle prove sperimentali eseguite non sono state utilizzate tutte le derivazioni, ovvero le coppie di elettrodi, dell'esame ECG standard, ma solo una delle 12 derivazioni previste, in quanto ai fini dell'esperimento non si ha la necessità di individuare esattamente tutte le componenti del segnale ECG ma solo di definire l'istante del battito cardiaco. Per ottenere infatti la rilevazione del segnale sono stati utilizzati due elettrodi, di cui uno posizionato sulla clavicola e l'altro sull'osso del bacino, e un polsino per il polso sinistro che funge da elettrodo di riferimento, il quale viene bagnato per migliorare l'accoppiamento con la cute e quindi diminuire il rumore dovuto a movimenti relativi. Entrambi gli elettrodi sono posizionati sul lato sinistro del corpo, ma nel caso in cui il cuore del soggetto fosse leggermente rivolto verso destra si potrebbe porre il secondo elettrodo sull'osso del bacino destro invece che sinistro.

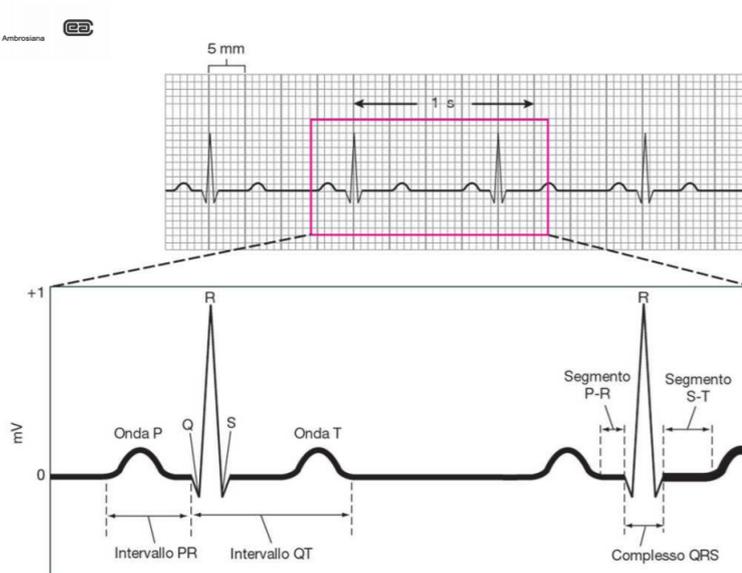


Fig. 3.6: Registrazione di un segnale ECG

Fisiologia, D.U.Silverthorn

Il segnale proveniente dagli elettrodi arriva al sistema di acquisizione per ECG (GRASS Model 15LT), che permette di amplificare il segnale e di eseguire un opportuno filtraggio. I parametri sia per l'amplificazione che per il filtraggio vengono impostati tramite il software Link15 direttamente dal PC collegato al dispositivo. All'interno di questo studio:

- l'amplificazione è stata impostata pari a 1000
- il cut-off in bassa frequenza è stato impostato pari a 10 Hz
- il cut-off in alta frequenza è stato impostato pari a 300 Hz
- è stato attivato l'utilizzo del filtro Notch per attenuare l'interferenza di rete a 50 Hz

Un esempio di segnale ECG ottenuto nel protocollo è riportato in Figura 3.8.

Dal segnale ECG si può effettuare la rilevazione automatica dell'onda R, semplicemente ponendo una soglia la quale indica l'ampiezza minima per

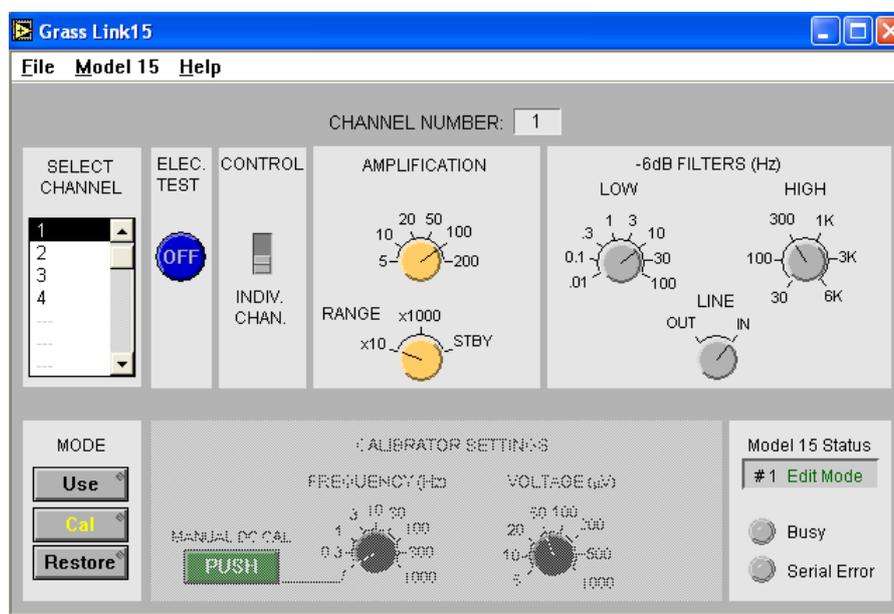


Fig. 3.7: Visualizzazione del software Link15

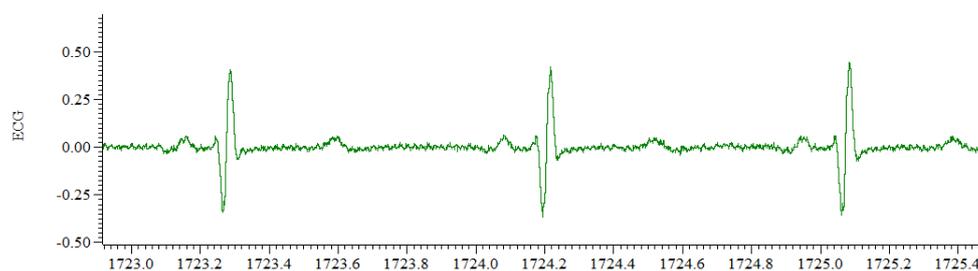


Fig. 3.8: Esempio di registrazione del segnale ECG a una derivazione nel protocollo

cui una deflessione positiva può essere considerata un'onda R, ma comunque maggiore dell'ampiezza del rumore di fondo. Nel protocollo definito essa è stata impostata pari a 0.25 V.

### 3.4 Sistema di acquisizione CED

Per poter gestire tutti i segnali, sia di input che di output, è stato utilizzato un sistema di acquisizione CED (Cambridge Electronic Design), collegato al PC. In particolare, il modello Micro1401-3 è un'unità di acquisizione dati molto versatile: può registrare forme d'onda analogiche tramite gli ingressi ADC o input digitali tramite gli ingressi DAC, e simultaneamente può generare segnali di output in tempo reale per il monitoraggio dell'esperimento. Ad esso è stata aggiunta l'estensione ADC12 in modo da poter avere ulteriori ADC input.



Fig. 3.9: CED system: Micro1401-3 con estensione ADC12

<http://ced.co.uk/>

I segnali di output del CED sono:

- il segnale digitale di gonfiaggio del manicotto;
- il segnale digitale di sgonfiaggio del manicotto.

Mentre i segnali che vengono forniti come input al CED sono:

- il segnale di trigger dato dal pulsante che il soggetto deve premere a fine espirazione. Il momento in cui il pulsante è stato premuto viene rilevato dal software tramite il superamento di una soglia, impostata pari a 0.005 V. Grazie a ciò si riesce a sincronizzare l'impulso di compressione con il ciclo respiratorio del soggetto;
- il segnale ECG amplificato e filtrato che proviene dal dispositivo per ECG (GRASS);
- il segnale di pressione presente sul manicotto ottenuto dal monitor di pressione;
- il segnale Eco-Doppler trasferito dall'ecografo tramite un sistema di amplificazione;
- il segnale digitale che indica l'apertura della valvola di gonfiaggio (Vgonf) in modo da avere l'indicazione temporale dell'impulso di gonfiaggio.

L'impostazione dei vari parametri o dei segnali di output e la visualizzazione di tutti i segnali che vengono acquisiti è possibile tramite il software Spike2, che permette di visualizzare e analizzare più canali simultaneamente.

### 3.5 *Prove preliminari*

Al fine di osservare i fenomeni studiati in teoria e definire un protocollo opportuno sono state eseguite delle prove preliminari su cinque soggetti sani volontari. Per misurare la velocità di un'onda pulsatoria nelle vene si è deciso di effettuare una compressione in corrispondenza della mano del soggetto e di rilevare l'onda di pressione generata nella zona ascellare, esattamente sulla vena basilica, dopo la sua propagazione lungo il braccio. La distanza percorsa che viene misurata è quella tra polso e posizione della sonda ecografica. Si è deciso di utilizzare un solo sito di registrazione dell'onda pulsatoria al posto di due poiché il ritardo tra l'impulso di gonfiaggio e il passaggio dell'onda a livello del polso è ritenuto essere relativamente costante essendo dovuto maggiormente al tempo di latenza del sistema di compressione creato [29].

Perciò per ottenere l'effettivo valore di vPWV tra polso e vena basilica si dovrebbe sottrarre questo ritardo alle misure di tempo di transito registrate, ma l'interesse di questo studio non è tanto legato al valore assoluto della vPWV ma alla sua variazione, e se questo ritardo è sempre il medesimo non va ad influenzare il valore della variazione di vPWV, non rappresentando un problema. Grazie a ciò si evita la necessità di avere due siti di registrazione e quindi di utilizzare due ecografi che sarebbero ingombranti e aumenterebbero la durata dell'intero esperimento [29].

Ogni soggetto è stato preparato sul lettino allo stesso modo, posizionando la sonda sulla vena basilica con il braccio disteso su un supporto affiancato al lettino, il manicotto con il sottostante cuscinetto d'acqua sulla mano sinistra e gli elettrodi per l'ECG nei punti selezionati. Dato che ogni piccolo movimento della sonda ecografica può provocare la perdita del segnale Doppler relativo al vaso [29] è stato usato un dispositivo meccanico per fissare la sonda in una certa posizione rispetto la cute del soggetto.

Al soggetto è stato chiesto di premere il pulsante con la mano destra a fine espirazione in modo da ottenere la compressione dell'altra mano sincrona con il suo respiro. È stato inoltre imposto un periodo refrattario per il segnale di trigger del pulsante in modo da avere una distanza temporale minima tra due compressioni pari a circa 20 s. Sono state registrate un certo numero di compressioni quando il soggetto aveva le gambe distese sul lettino, e successivamente altre compressioni dopo aver alzato le gambe del paziente a 45° e averle poste su un supporto con lo scopo di effettuare la manovra del Passive Leg Raising (PLR).

Ciò che ci si aspetta di riscontrare è che nella fase PLR, avendo un maggiore volume di sangue nella parte superiore del corpo, la pressione all'interno delle vene e di conseguenza anche la velocità dell'onda pulsatoria aumentino.

### 3.5.1 *Impostazioni dei parametri su Spike2*

Utilizzando il software Spike2 sono state impostate determinate istruzioni da dover eseguire in sequenza in modo da poter effettuare un'adeguata compressione della mano, sincronizzata sia con il respiro sia con il battito cardiaco.

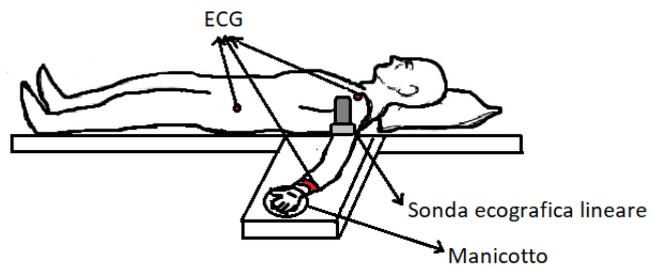


Fig. 3.10: Posizione del soggetto durante la fase distesa

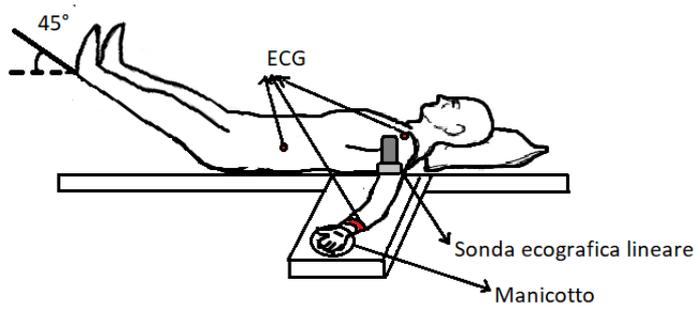


Fig. 3.11: Posizione del soggetto durante la fase PLR

Per far ciò il sequencer è stato suddiviso in sezioni, ciascuna delle quali ha uno scopo.

- Sezione B: relativa al gonfiaggio del manicotto

In essa si ha innanzitutto l'attesa del raggiungimento della soglia di 0.005 V da parte del segnale di trigger che rappresenta il pulsante premuto dal soggetto e successivamente l'attesa del rilevamento dell'onda R nel segnale ECG tramite la soglia di 0.25 V. Una volta verificate queste due condizioni, dopo un certo ritardo impostato per sincronizzarsi con la pulsatilità del flusso venoso (vedi paragrafo 3.5.3), l'elettrovalvola di gonfiaggio si apre per 400 ms. Con questo tempo si raggiunge un valore di pressione pari a circa 300 mmHg. Alla fine, dopo la chiusura dell'elettrovalvola, si passa in modo automatico all'altra sezione.

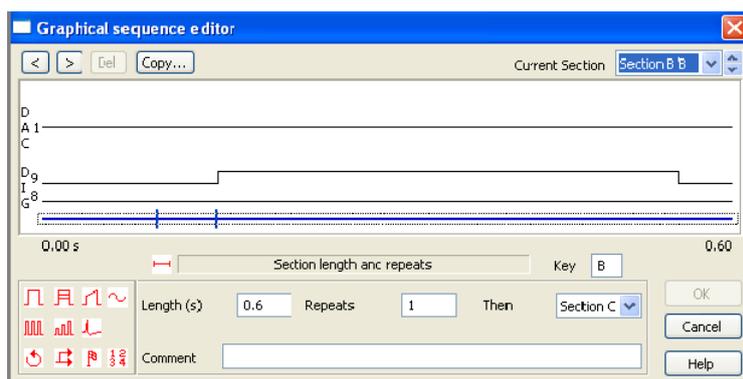


Fig. 3.12: Graphical sequencer per il gonfiaggio del manicotto

- Sezione C: relativa allo sgonfiaggio del manicotto

In questo caso si ha subito l'apertura dell'elettrovalvola di sgonfiaggio per 10 s, in modo da permettere la completa fuoriuscita di aria dal manicotto. Terminato ciò, si riattiva nuovamente la sezione B per attendere il successivo trigger.

- Sezione Z: sezione aggiuntiva, attivabile in caso di emergenza, ovvero quando è necessario sgonfiare immediatamente il manicotto.

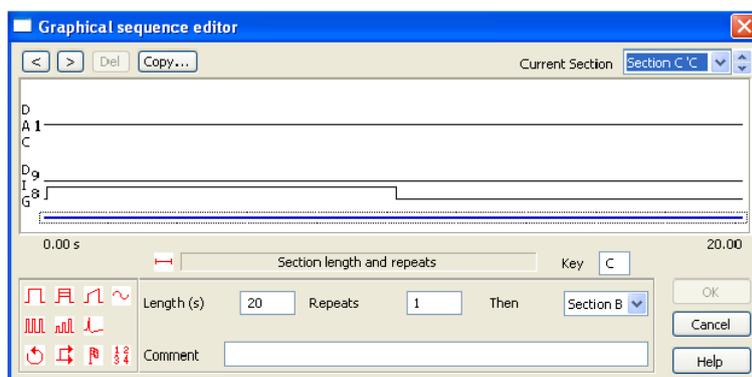


Fig. 3.13: Graphical sequencer per lo sgonfiaggio del manicotto

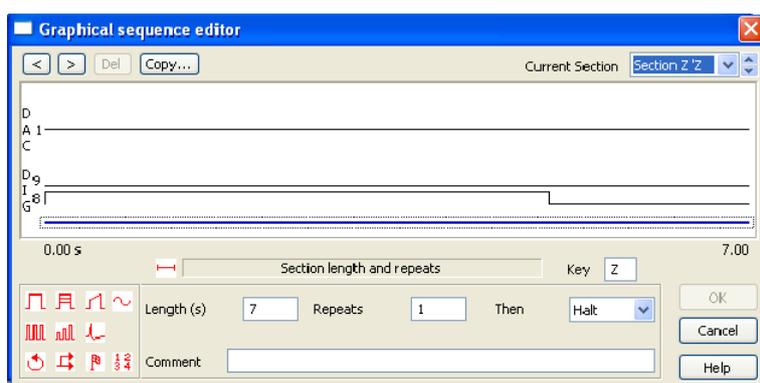


Fig. 3.14: Graphical sequencer per il pulsante di emergenza

### 3.5.2 Valutazione della vPWV

Per misurare la velocità dell'onda pulsatoria si utilizza la misura di latenza temporale  $\Delta t$  tra quando è stato dato l'impulso di gonfiaggio a quando viene rilevata la risposta nel flusso sanguigno ad esso relativo.

Dal valore di latenza temporale, utilizzando la misura della distanza  $\Delta x$  tra il punto in cui è posizionata la sonda ecografica e il polso in cui si ha la fine del manicotto, si ricava la misura di velocità come il rapporto di spazio percorso su tempo impiegato.

$$v = \frac{\Delta x}{\Delta t}$$

Nella pratica, la misura della distanza viene eseguita manualmente; ovviamente è solo una stima poiché lo spazio che effettivamente viene percorso non è rettilineo ma segue le irregolarità e le curvature dei vasi sanguigni.

La misura della latenza temporale è svolta su Spike2, sul segnale Eco-Doppler acquisito dal CED. Il segnale audio in uscita dall'ecografo viene trasferito al CED e su di esso viene eseguita l'analisi in frequenza tramite la trasformata di Fourier (fft) finestrando il segnale. Il tipo e la lunghezza della finestra si possono impostare dal software; nel seguente studio si è scelto di usare una finestra di Kaiser a 90 dB di lunghezza pari a 512 campioni. Successivamente viene calcolata la densità spettrale di potenza (PSD) in base alla frequenza, la quale indica il contenuto in frequenza del segnale per ogni valore di  $f$ . Ciò che si ottiene è la visualizzazione del segnale Eco-Doppler nel piano tempo-frequenza, in cui per ogni valore di tempo e per ogni frequenza si assegna una certa intensità della scala di grigi in base al valore della PSD. Da questo grafico in scala di grigi si deduce l'andamento del flusso e quindi dell'onda di pressione rilevata dalla sonda ecografica.

Questa analisi tempo-frequenza è necessaria al fine di poter visualizzare l'andamento del flusso venoso, ma il lato negativo è il peggioramento della risoluzione del segnale. Infatti il segnale audio in uscita dall'ecografo ha una certa risoluzione pari al rapporto tra la lunghezza del segnale e la frequenza di campionamento,  $\frac{length}{f_s}$ , ma quando su di esso viene eseguita la fft con una certa finestatura la sua risoluzione effettiva cambia perché gli istanti

temporali contenuti in una finestra su cui si effettua la fft ora collassano in uno. Quindi la nuova risoluzione dipende dal numero di punti su cui si esegue la fft, ovvero i numeri di campioni della finestra (NFFT). Come risoluzione effettiva si considera quindi  $\frac{f_s}{NFFT}$  anche se nel caso di overlapping tra le finestre dovrebbe essere leggermente migliore.

L'onda pulsatoria viene individuata in corrispondenza del footprint, il quale rappresenta il punto di insorgenza del tracciato di velocità massima ottenuto dalla trasformata tempo-frequenza dello shift Doppler.

Per misurare  $\Delta t$  si pone un cursore (cursore 0) in modo automatico in corrispondenza dell'impulso di gonfiaggio (Vgonf) e un altro cursore (cursore 1) in modo manuale sul footprint della risposta, come è possibile osservare in Figura 3.15. Calcolando la distanza tra i due cursori si ottiene il tempo che intercorre tra di essi, ovvero  $\Delta t$ .

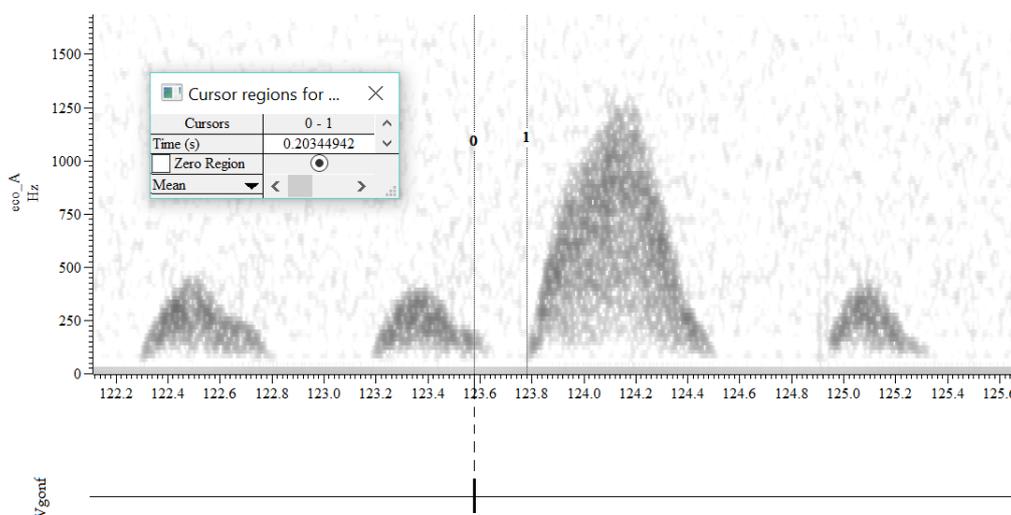


Fig. 3.15: Posizionamento dei cursori per la misura della latenza temporale della risposta sul segnale Eco-Doppler

### 3.5.3 Gestione del ritardo dell'impulso

Il flusso base che si ha nella vena basilica in condizioni normali e in posizione supina quando non si inducono compressioni presenta una pulsatilità naturale. La pulsatilità nelle vene è molto minore rispetto al caso delle arterie e si

suppone essere una pulsatilità retrograda dovuta alla contrazione dell'atrio destro [30], visibile in Figura 3.16. Il vaso venoso che è stato preso in considerazione è abbastanza vicino al busto e in esso la pulsatilità è evidente, invece spostandosi distalmente la pulsatilità diminuisce e il flusso venoso risulta essere più piatto. L'entità di questa pulsatilità è diversa per ogni soggetto in

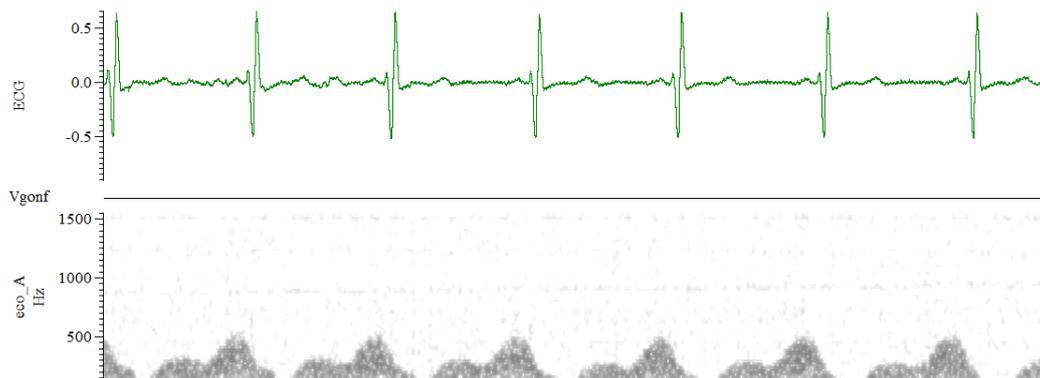


Fig. 3.16: Segnale ECG e segnale Eco-Doppler che indica la presenza di una pulsatilità naturale

quanto varia il tipo di flusso e lo sfasamento tra l'onda R e il picco del flusso pulsato. Inoltre, durante un certo esperimento, si può avere una variabilità a causa della variazione della distanza tra due onde R, quindi della frequenza cardiaca, e in generale a causa di altri fenomeni di modulazione del sistema nervoso autonomo.

Ciò che si vuole evitare è che la risposta dovuta all'impulso di compressione si vada a sovrapporre a questa pulsatilità naturale, poiché in tal caso il footprint dell'onda pulsatoria sarebbe di difficile individuazione e quindi la misura potrebbe essere falsata da questa sovrapposizione. Per fare in modo che ciò non avvenga si può impostare un certo ritardo tra quando viene rilevata l'onda R dal segnale ECG e quando viene effettivamente dato l'impulso di gonfiaggio del manicotto. Impostando questo ritardo in maniera opportuna si ha la capacità di far cadere l'inizio della risposta in una zona di assenza di flusso del segnale Eco-Doppler, cioè in mezzo a due onde pulsatorie naturali, e non sovrapposto a una di esse.

L'inconveniente è che non si può impostare un valore di ritardo uguale per tutta la durata dell'esperimento poiché esso deve essere adattato al variare della frequenza cardiaca. Si ha la necessità quindi di variare questo ritardo in tempo reale durante l'esperimento. A tale scopo è stato realizzato uno script all'interno di Spike2 che permette di aggiornare il ritardo in tempo reale durante l'acquisizione.

Quindi in ogni prova sperimentale che è stata eseguita è stata data particolare importanza al settaggio e al continuo monitoraggio di questo valore di ritardo, poiché in fase di misurazione è fondamentale poter riconoscere in maniera precisa e sicura il footprint della risposta.

Nella Figura 3.17 si può osservare come cambia la visualizzazione dopo aver impostato il ritardo corretto.

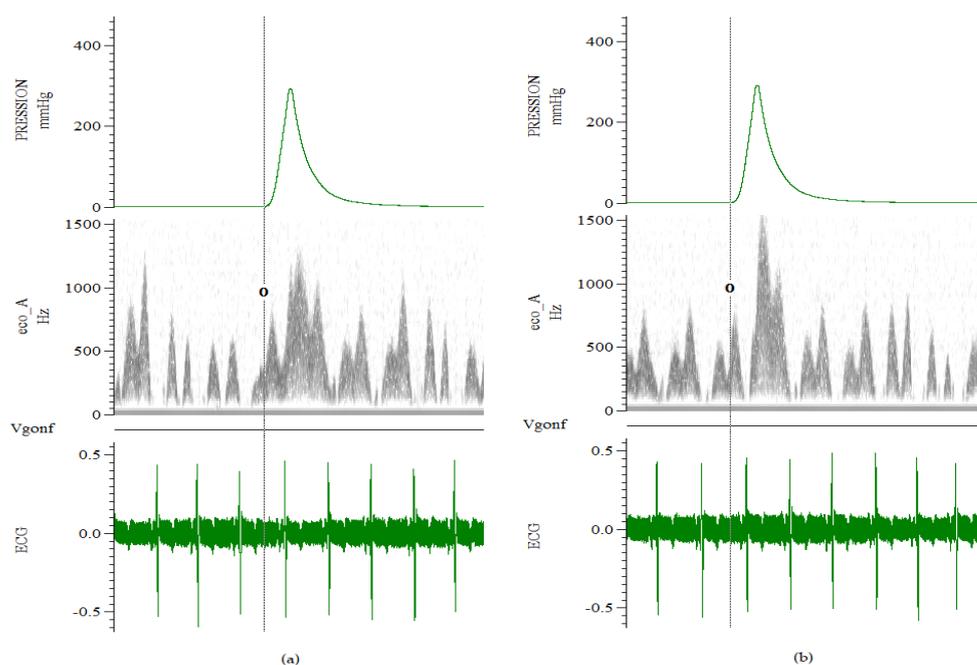


Fig. 3.17: Confronto tra prima (a) e dopo (b) aver impostato il ritardo opportuno

Per poter valutare il valore opportuno di ritardo si misura la distanza temporale tra un'onda R e il punto, dopo la fine della pulsatilità naturale, in cui si vuole che cada la risposta all'impulso. A questa quantità si deve sottrarre la latenza temporale stimata fino a quel momento. Successivamente

si riduce o si aumenta il ritardo in base alla visualizzazione delle risposte successive.

### 3.5.4 Risultati delle prove preliminari

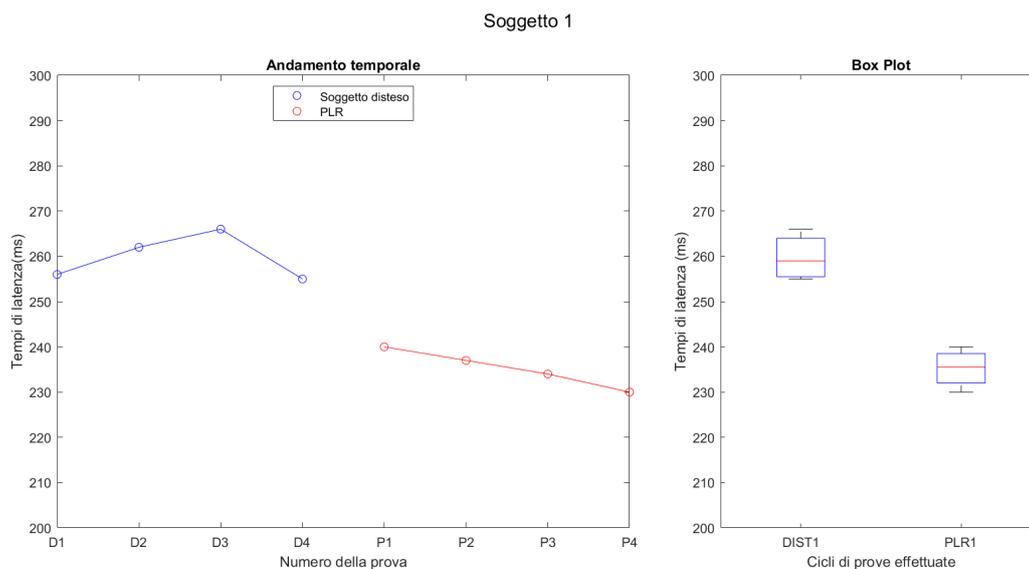


Fig. 3.18: Esempio di andamento temporale e box plot delle latenze temporali misurate nel soggetto 1

Le latenze temporali nella fase PLR risultano minori rispetto alla fase in cui il soggetto è disteso, di conseguenza la  $vPWV$  risulterà maggiore. Ovviamente c'è una certa variabilità nei vari casi, dovuta sia allo stato del soggetto ma anche al posizionamento manuale del cursore da parte dell'operatore. Ad ogni modo è evidente la differenza tra le medie nelle due diverse fasi.

Dunque, avendo osservato in queste prove preliminari una variazione di  $vPWV$  a seguito del PLR, si è passati alla definizione di una serie di protocolli preliminari per indagare quali accorgimenti sperimentali poter applicare e un protocollo definitivo che includesse più soggetti con il fine di indagare meglio il fenomeno osservato.

### 3.6 Protocolli preliminari

Al fine di studiare in modo più dettagliato alcuni aspetti degli esperimenti condotti sono stati definiti dei protocolli preliminari, riguardanti la misura della vPWV nel caso in cui alcune condizioni venissero modificate. L'obiettivo è avere, come risposta alla compressione, un'onda pulsatoria ben riconoscibile rispetto al flusso pulsatile naturale e che fornisca misure di vPWV ripetibili anche in presenza di modulazioni dell'organismo. I cinque protocolli preliminari intrapresi sono:

1. Protocollo Hot VS Cold: ha lo scopo di valutare l'influenza della temperatura del cuscinetto d'acqua, usato per la compressione, sull'entità della risposta ottenuta
2. Protocollo Synchro ECG: dimostra che non considerando la sincronizzazione con il segnale ECG la variabilità della misura di vPWV è maggiore
3. Protocollo Synchro Breath: in questo caso si dimostra invece la grande variazione della vPWV durante il ciclo respiratorio se si evita la sincronizzazione con il respiro
4. Protocollo Peak Pressure: al variare del tempo di gonfiaggio del manicotto, quindi del valore di pressione raggiunto, si osserva come varia la risposta del soggetto
5. Protocollo Manicotto largo VS stretto: si valuta come il modo in cui si allaccia il manicotto al soggetto, se più o meno aderente, modifica la latenza temporale ottenuta

#### 3.6.1 Protocollo Hot VS Cold

L'obiettivo è valutare la differenza che si ottiene nelle risposte alle compressioni ricevute con temperature della mano diverse.

Il corpo umano è un organismo che cerca di mantenere costante la sua temperatura interna, ma ovviamente, soprattutto sulla cute, risente degli

sbalzi termici causati dall'ambiente esterno. Quindi esso attiva dei meccanismi per poter compensare queste variazioni di temperatura.

In ambiente freddo si ha una conseguente vasocostrizione periferica, ovvero diminuzione del calibro dei vasi negli arti in periferia, in modo da disperdere il meno possibile il calore presente che è in gran parte mantenuto dal flusso sanguigno. Invece in ambiente caldo si ha una vasodilatazione periferica che aumenta il calibro dei vasi perché in questo caso si vuole favorire la dispersione termica e perciò viene aumentato il flusso sanguigno negli arti superiori e inferiori.

Per realizzare questo protocollo sono state effettuate due fasi diverse di compressioni: una in cui il cuscinetto d'acqua, che viene posizionato sulla mano, è stato precedentemente raffreddato e l'altra in cui invece è stato riscaldato. Ogni fase è composta da 8 compressioni e prevede che il soggetto rimanga sempre disteso supino, perché in questo caso si vuole solo vedere come varia l'ampiezza della risposta dovuta allo stimolo di compressione in funzione della vascolarizzazione della mano, che dipende a sua volta dalla temperatura.

### 3.6.2 *Protocollo Synchro ECG*

In questo caso lo scopo è dimostrare il vantaggio di sincronizzare l'impulso di gonfiaggio del manicotto con il battito cardiaco. Perciò nella prima fase del protocollo si ha l'attesa dell'onda R, rilevata dal segnale ECG, prima di poter mandare l'impulso, mentre nella seconda fase si è utilizzato un sequencer di Spike2 che non presenta questa condizione e che dopo aver ricevuto il trigger dal pulsante premuto dal soggetto invia direttamente lo stimolo.

Il soggetto in entrambe le fasi deve rimanere disteso e continuare a premere il pulsante a fine espirazione, in modo da ottenere 8 compressioni per ciascuna fase. Sono stati presi in considerazione 3 soggetti e su di essi sono stati misurati i tempi di latenza nei due diversi casi.

### 3.6.3 Protocollo Synchro Breath

Allo stesso modo è stata valutata la sincronizzazione con il respiro, ovvero effettuando due tipi diversi di compressione, uno in cui è il soggetto a premere il pulsante quando raggiunge la fine della sua espirazione, e l'altro in cui è lo sperimentatore a premerlo in modo random. In entrambi la sincronizzazione con il segnale ECG è stata mantenuta.

Anche in questo protocollo sono stati considerati 3 soggetti, ognuno dei quali è stato disteso per 8 compressioni in ciascuno dei due casi.

### 3.6.4 Protocollo Peak Pressure

Impostando un certo tempo di apertura della valvola di gonfiaggio ne consegue un determinato valore di pressione raggiunta per comprimere la mano del soggetto. Per realizzare gli esperimenti si vuole avere un valore di pressione opportuno per comprimere in modo efficace, senza creare fastidio al soggetto, in modo da garantire una visualizzazione evidente della risposta dell'onda pulsatoria sul segnale Eco-Doppler.

In questo protocollo si vogliono analizzare dei possibili valori di tempo di gonfiaggio che porterebbero a dei conseguenti valori di pressione e quindi a determinate risposte pressorie nelle vene.

Nelle prove preliminari eseguite è stato impostato un tempo di gonfiaggio pari a 400 ms per cui si hanno valori di pressione pari a circa 300 mmHg. Con questi parametri si ottiene una buona visualizzazione della risposta che si distingue dalla pulsatilità naturale presente nella vena del soggetto. Questo protocollo ha lo scopo di indagare valori di pressione inferiori a quello utilizzato per osservare le relative risposte.

Quindi sono state svolte delle prove su 3 soggetti in cui il soggetto disteso sul lettino riceveva delle compressioni, variando il tempo di gonfiaggio del manicotto. Come valori sono stati indagati 300 ms, che porta ad avere una pressione pari a circa 200 mmHg, e 200 ms, che invece fornisce una pressione pari a circa 100 mmHg. Diminuendo ancora di più il tempo di gonfiaggio fino a 100 ms, equivalente a circa 50 mmHg, non è stata visibile alcuna risposta.

Durante le prove, il valore iniziale è stato impostato a 400 ms, che poi è stato diminuito fino a 200 ms e per ogni step sono state date 3 compressioni.

Riassumendo:

- 3 compressioni con tempo di gonfiaggio pari a 400 ms
- 3 compressioni con tempo di gonfiaggio pari a 300 ms
- 3 compressioni con tempo di gonfiaggio pari a 200 ms

L'obiettivo è trovare il valore del tempo di gonfiaggio, ovvero il valore di pressione, più opportuno per lo scopo di questo studio garantendo la sicurezza del sistema e del soggetto.

### 3.6.5 *Protocollo Manicotto largo vs stretto*

Come ultimo aspetto si è voluto anche analizzare come la modalità con cui si allaccia il manicotto al soggetto possa modificare la misura di latenza temporale che si ricava dal segnale Eco-Doppler.

Quindi sono state eseguite, su 3 soggetti, 8 compressioni con il manicotto stretto e poi ulteriori 8 compressioni con il manicotto largo, sempre con il soggetto disteso sul lettino e sono state registrate le misure dei tempi di transito.

La misura del tempo di insorgenza dell'onda pulsatoria (footprint) viene riferita all'impulso del segnale di gonfiaggio (Vgonf) perché è un istante temporale semplice da individuare e rappresenta l'apertura della valvola di gonfiaggio, ma se il manicotto è stato allacciato non in modo aderente al cuscinetto d'acqua e alla mano del soggetto avrà bisogno di più aria data dal gonfiaggio per raggiungere una certa pressione sulla mano rispetto al caso in cui è stretto, poiché in pratica il sistema risulta essere più compliant. Infatti se il manicotto è stretto appena inizia a gonfiarsi esercita pressione sulla mano, che viene rilevata dal trasduttore di pressione, e quindi in uno stesso tempo di apertura della valvola di gonfiaggio, nel caso di manicotto stretto si dovranno raggiungere valori di pressione maggiori. Invece per raggiungere uno stesso valore di pressione nel caso di manicotto largo dovrebbe

essere necessario un tempo maggiore. Si vuole quindi osservare come ciò possa influenzare le misure del tempo di transito dell'onda pulsatoria.

### 3.7 *Protocollo definitivo*

Il protocollo definitivo prevede la misura della vPWV nella modalità descritta precedentemente tramite 6 compressioni per ciascuna posizione, contestualmente alla misura di altre due variabili: la pressione venosa valutata in modo non invasivo e una misura della sezione del vaso come il perimetro o l'area, per osservare come l'aumento di volume indotto dalla manovra del PLR fa variare rispettivamente la pressione venosa e il volume ematico contenuto.

Le misure indicate dal protocollo sono state effettuate su 15 soggetti sani volontari, di cui 7 di sesso maschile e 8 di sesso femminile con età pari a  $26 \pm 3$  anni, altezza pari a  $169 \pm 11$  cm e peso pari a  $65 \pm 14$  kg. Ad ogni soggetto partecipante è stato chiesto di firmare un consenso informato nel quale erano illustrati gli obiettivi e la modalità dell'esperimento e inoltre veniva specificata la possibilità da parte del soggetto di segnalare ogni tipo di disagio o problema e di interrompere la prova in qualsiasi momento.

Il protocollo che è stato portato avanti presenta 4 fasi:

1. giù1 → baseline in cui il soggetto è disteso supino
2. su1 → PLR
3. giù2 → ritorno alla baseline
4. su2 → ulteriore PLR

All'inizio e alla fine di ciascuna di esse viene momentaneamente utilizzato l'ecografo in B-mode, senza la funzione Doppler, posizionando la sonda perpendicolarmente in modo da ottenere un'immagine del vaso definita su cui poi si può effettuare la misura della sezione, mentre solo alla fine di ogni fase viene misurata la pressione venosa poiché quest'ultima è una misura che richiede più tempo. Durante ogni fase si realizzano le compressioni necessarie,

le quali possono essere più di 6 nel caso in cui il footprint non sia facilmente individuabile e quindi sia necessario impostare un ritardo differente. Si riporta una schematizzazione del seguente protocollo.

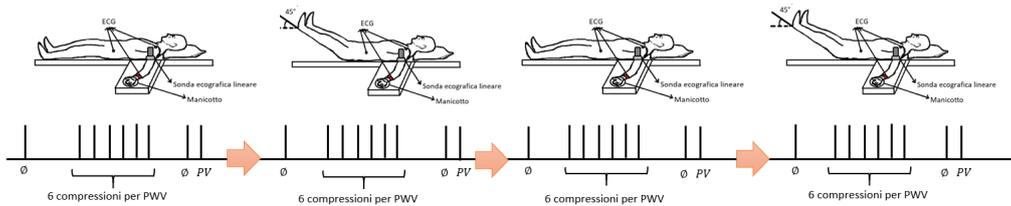


Fig. 3.19: Schema grafico del protocollo definitivo

Per la misura della sezione del vaso si registra un filmato di pochi secondi della vena su cui è posizionata la sonda lineare, ponendola perpendicolarmente al vaso in modo da definirne meglio i bordi, e poi a posteriori tramite le funzionalità dell'ecografo se ne tracciano i contorni, ottenendo le misura di area e perimetro della sezione.

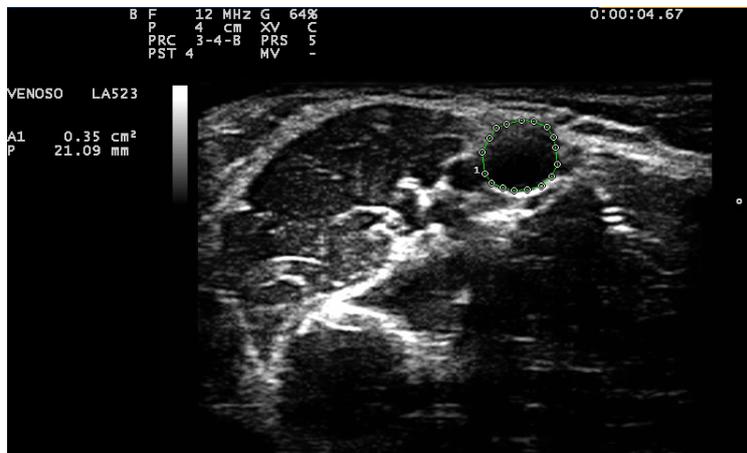


Fig. 3.20: Esempio di immagine ecografica della vena con contorni tracciati manualmente tramite segmenti successivi sul dispositivo Eco-Doppler

Invece per quanto riguarda la pressione venosa si utilizza il concetto di carico idrostatico, ovvero si ricava la pressione causata da una colonna di fluido in quiete misurando la sua altezza rispetto a un riferimento [37]. Lo scopo è stimare la pressione venosa centrale (CVP) in modo non invasivo:

in questo studio il soggetto ha sempre il busto disteso, quindi il gradiente di pressione venosa tra atrio destro e periferia per permettere il ritorno venoso risulta essere molto piccolo, e dato che ciò che interessa per questo protocollo sono solo le variazioni di CVP, essa può essere valutata tramite il carico idrostatico misurato dal punto di collasso della vena del braccio riferito all'atrio destro [18]. Per questo motivo per valutarla si è pensato di alzare gradualmente in modo passivo il braccio destro del soggetto, ancorandolo a un supporto, e individuare, tramite una sonda ecografica wireless, il punto di collasso della vena del braccio, che corrisponde al punto in cui la pressione interna del vaso è uguale a quella esterna; successivamente si può misurare manualmente la distanza tra il punto sulla sonda corrispondente a quello di collasso e l'altezza dell'atrio destro, approssimata all'altezza di metà busto. Non è stato possibile utilizzare il punto di collasso delle vena giugulare interna, il quale viene considerato un metodo non invasivo affidabile, poiché nel caso di soggetto supino la vena giugulare interna non collassa [37].

Entrambe queste misure di pressione venosa e calibro del vaso risentono di forti incertezze, causate da problematiche a livello della misurazione come ad esempio la risoluzione spaziale dell'ecografo o la parallasse nella lettura della misura sul metro, ma anche la variabilità introdotta dall'operatore, che nel caso della misura del perimetro del vaso deve tracciare manualmente con il cursore dell'ecografo i bordi, e nel caso della pressione venosa deve individuare il punto di collasso che non sempre è ben definito.

Esse sono solo delle stime di parametri difficilmente misurabili in modo non invasivo ma possono essere utili per conoscere il regime di compliance in cui si trova il vaso del soggetto, cioè quanto è distensibile in base alla pressione del sangue al suo interno. Infatti conoscendo l'area o il perimetro della sezione trasversale del vaso se ne può stimare il volume e valutando la pressione venosa si ottiene il valore di compliance.

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

Con questo valore si può osservare come il corpo di ogni soggetto risponde alle prove eseguite tramite la modifica della distensibilità da parte delle tuniche delle sue vene. Un certo valore di compliance corrisponde a un certo

---

punto della curva pressione-volume. A causa delle manovre del protocollo il regime di compliance può cambiare per compensare le variazioni subite e ciò sta alla base della variazione di vPWV.

Al termine dell'intero esperimento su ogni soggetto è stata inoltre valutata la latenza temporale del sistema, ovvero il tempo che intercorre tra l'invio del segnale di apertura della valvola deputata al gonfiaggio e l'effettivo istante in cui l'onda di pressione inizia a viaggiare lungo il braccio del soggetto. Per farlo la sonda è stata posta sulla vena del polso, quanto più vicino possibile al manicotto, che corrisponde a un estremo della distanza  $\Delta x$  in cui l'altro estremo è il punto di posizionamento della sonda ecografica. Sono state poi generate 2/3 onde di pressione con lo scopo di determinare tale latenza, che niente ha a che fare col fenomeno fisiologico ma che invece è caratteristica del sistema pneumatico implementato. Dalle misure effettuate sui vari soggetti partecipanti del protocollo questa latenza risulta essere pari a circa 70 ms.

## 4. ANALISI DEI DATI

Le misure di tutte le varie grandezze registrate durante il protocollo definitivo sono state processate e analizzate per poter visualizzare al meglio i dati raccolti e trarre delle conclusioni da questo studio. Le misure di pressione e sezione del vaso sono state raccolte e mediate sui vari soggetti al fine di avere degli andamenti rappresentativi del campione utilizzato nel protocollo.

Per quanto riguarda le misure di vPWV, inizialmente è stata intrapresa un'analisi manuale, e poi successivamente è stato sviluppato un algoritmo per poter rendere l'analisi automatizzata.

### 4.1 *Analisi manuale*

L'analisi eseguita manualmente prevede la misura, da parte dell'operatore, di tutte le varie latenze temporali delle compressioni effettuate. La misura viene eseguita direttamente sul segnale Doppler acquisito e visualizzato tramite il software Spike2 come sonogramma nel piano tempo-frequenza, applicando una finestra di Kaiser a 90 dB con numero di campioni pari a 512. La visualizzazione utilizzata è ottenuta grazie al calcolo della trasformata di Fourier del segnale audio, da cui si ricavano i valori del Power Spectrum Density (PSD), per ogni istante temporale; perciò si può osservare il valore di PSD per una certa coppia di valori tempo-frequenza in base all'intensità di colore del punto rispetto alla scala di grigi impostata.

Il calcolo del  $\Delta t$  è reso possibile tramite l'utilizzo dei cursori che vengono posizionati in corrispondenza dei due estremi dell'intervallo di tempo, ovvero l'impulso di gonfiaggio e l'insorgenza della risposta alla compressione (footprint).

Sono state considerate per l'analisi solo le compressioni in cui la posizione del footprint della risposta risultava essere ben definita ed invece sono state escluse quelle compressioni in cui non era ben chiara l'insorgenza dell'onda di pressione, poiché avrebbero dato un contributo non affidabile all'intera analisi. Si è comunque cercato, quando possibile, di considerare compressioni consecutive e con uno stesso ritardo rispetto all'onda R. Le misure di latenze temporali relative alle compressioni sono state divise in quattro gruppi, che corrispondono alle quattro fasi del protocollo, e da esse sono stati ricavati i valori di PWV.

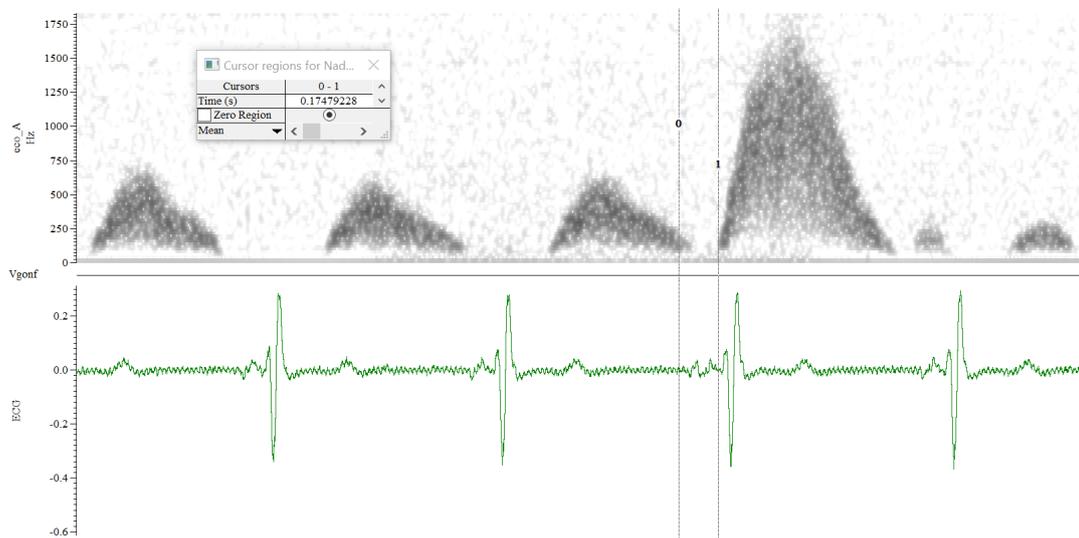


Fig. 4.1: Misurazione manuale di  $\Delta t$  su Spike2: cursore 0 posizionato automaticamente su Vgnf (trigger dell'impulso) e cursore 1 posizionato manualmente sul footprint

L'idea è quella di confrontare sia i valori durante una baseline con quelli del relativo PLR, sia le variazioni ottenute tra i due cicli. Perciò sono stati realizzati i box plot per quanto riguarda la venous Pulse Wave Velocity (vPWV), per ciascun soggetto e per ogni fase del protocollo: giù1, su1, giù2, su2.

Per ciascun soggetto è stata verificata la significatività statistica tra la fase distesa rispetto alla fase PLR successiva tramite un test di Wilcoxon non parametrico, in quanto non si ha la certezza di poter rispettare le ipotesi del

t-test; infatti si ha l'eventualità che alcune distribuzioni non siano normali o che non abbiano una varianza omogenea tra di loro.

Invece per poter valutare la differenza tra i due cicli è stato calcolato per ogni soggetto del protocollo il coefficiente angolare della retta che unisce i due punti nel piano vPWV1-vPWV2 corrispondenti al valore di vPWV per la fase distesa o la fase PLR nei due cicli.

## 4.2 *Analisi automatica*

Al fine di poter ottenere dei risultati che non siano in alcun modo influenzati dall'operatore che li ricava è stato implementato un metodo automatico per effettuare le misure di latenza temporali. Per rendere ciò possibile, il segnale Eco-Doppler registrato tramite il sistema di acquisizione è stato esportato su Matlab grazie all'utilizzo della libreria SONlibrary. Essa permette appunto di importare tutti i canali presenti nel file .smr di Spike2 con le loro relative informazioni.

Partendo dal segnale eco importato se ne deve tracciare il profilo per poi individuare su di esso il footprint dell'onda in modo automatico.

Dato che ciò che interessa per l'algoritmo è solo la parte di segnale che si ha subito dopo l'impulso di gonfiaggio e non l'intero segnale, sono state create delle epoche di durata pari a 1 secondo, ognuna delle quali avente come istante iniziale quello in cui si ha l'evento Vgonf, che indica il momento in cui viene inviato il segnale di apertura della valvola di gonfiaggio del manicotto.

Per tracciare il profilo relativo a queste epoche di segnale sono state sfruttate due diverse modalità.

1. *Analisi tempo-frequenza del sonogramma*: tramite questa analisi si possono conoscere gli istanti temporali in cui si sono verificate le variazioni in frequenza. Il profilo del segnale Doppler corrisponde all'andamento dei punti con intensità di grigio e quindi valore di PSD maggiore.

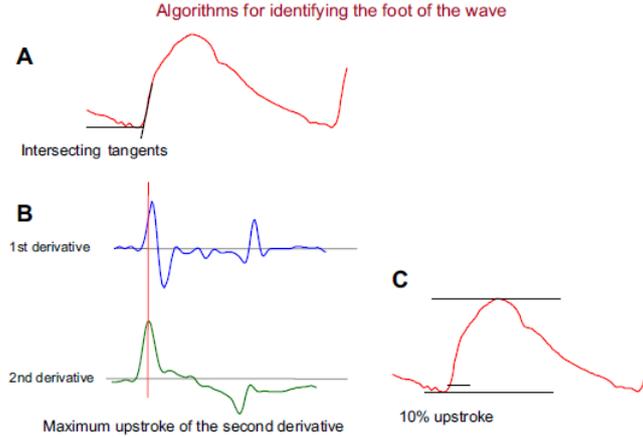
Sono stati presi in considerazione tre metodi per poterla eseguire, ovvero Short-Time Fourier Transform (STFT), Fourier Synchrosqueezed Transform (FSST) e Wavelet Synchrosqueezed Transform (WSST).

2. Involuppo del segnale audio: utilizza direttamente il segnale audio che viene acquisito dal dispositivo Eco-Doppler, il quale presenta variazioni di ampiezza in base all'aumento o alla diminuzione di flusso. Su di esso viene applicata la funzione envelope [28] di Matlab, selezionando solo l'involuppo positivo.

Su entrambi i profili ottenuti sono stati poi implementati 3 diversi metodi utilizzabili per la rilevazione del footprint della risposta [3].

- A. Metodo delle due linee: una linea corrisponde all'interpolazione della baseline orizzontale che si ha prima dell'insorgenza della risposta, mentre la seconda linea corrisponde all'interpolazione del profilo della risposta nell'intervallo in cui presenta la maggiore pendenza, e l'istante relativo al footprint è quello in cui si ha l'intersezione di queste due linee. In base all'intervallo in cui si interpolano le due linee il risultato può variare.
- B. Metodo del picco della derivata seconda: si utilizza il massimo della derivata seconda per poter individuare il footprint, perché lo si fa corrispondere al punto del profilo che presenta la concavità maggiore. Il picco della derivata seconda viene ricercato nell'intervallo di tempo tra il  $V_{gonf}$  e il picco della derivata prima, ovvero il punto a maggior pendenza del profilo. Questo metodo funziona bene con un profilo molto liscio senza irregolarità, in caso contrario potrebbe andare incontro ad errori a causa della presenza di picchi della derivata seconda in dei punti che non corrispondono all'effettivo footprint.
- C. Metodo della percentuale dell'altezza del picco: in questo caso si calcola il range del profilo, quindi la differenza tra il suo valore massimo e il suo valore minimo e poi si imposta il footprint in corrispondenza del 10% di questa altezza. E' stato osservato che utilizzando il 5% al posto del 10% i risultati rispecchiavano la realtà in modo più coerente, perciò si è deciso di imporre questa nuova soglia. Una possibile controindicazione di questo metodo potrebbe essere il fatto che al variare dell'altezza del

picco si potrebbe avere un differente momento di riconoscimento del footprint.



**Figure 2** Different algorithms used to identify specific part of the pulse signal (here distension waveform of the carotid artery). Panel A: intersecting tangents; Panel B: maximum upstroke of the second derivative; Panel C: percentage of the full amplitude of the cycle.

Fig. 4.2: Rappresentazione dei metodi utilizzati per la rilevazione automatica del footprint dell'onda pulsatoria [3]

Per ciascuno di essi, noto il footprint, sono stati calcolati i tempi di latenza relativi e di conseguenza, tramite la distanza  $\Delta x$  i valori della vPWV. Essi sono stati poi valutati per riscontrare la presenza di errori e confrontati con i dati manuali tramite l'indice di correlazione di Pearson. Considerate due variabili, esso è il rapporto tra la covarianza e il prodotto delle due deviazioni standard:

$$\rho_{XY} = \frac{\sigma_{XY}}{\sigma_X \sigma_Y} = \frac{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2}{N}}}$$

Più il valore di questo indice è prossimo all'unità e più i dati automatici sono positivamente correlati con quelli manuali.

Non esiste un metodo perfetto ma bisogna trovare quello che approssima al meglio i dati ricavati, quindi si è deciso di considerare come metodo automatico più opportuno quello che presentava il coefficiente di Pearson maggiore in quanto più adatto ad elaborare i dati del seguente studio automaticamente.

## 5. RISULTATI OTTENUTI

I dati ricavati dai protocolli preliminari e dal protocollo definitivo sono stati registrati e processati in modo opportuno. Tramite l'analisi delle misure effettuate sono stati ottenuti risultati quantitativi dai quali si può partire per trarre le conclusioni.

### 5.1 *Protocolli preliminari*

Osservando i risultati dei protocolli preliminari si possono verificare i vantaggi delle scelte effettuate per quanto riguarda determinati aspetti del set-up sperimentale.

#### 5.1.1 *Protocollo Hot VS Cold*

Per valutare in modo quantitativo l'ampiezza della risposta allo stimolo di compressione al variare della temperatura è stata calcolata l'area sottesa alla curva (Area under curve - AUC) che rappresenta la risposta, presente nel segnale Eco-Doppler. Per ricavare il profilo della risposta il segnale è stato trasferito, tramite la libreria SONlibrary, su Matlab in cui è stata applicata l'analisi tempo-frequenza e su questo profilo è stata poi calcolata l'AUC relativa tra il punto corrispondente al footprint e la fine dell'onda pulsatoria. I valori di tempo relativi ai footprint delle varie risposte sono stati ricavati dalle misure manuali sul segnale.

Di seguito si riportano gli andamenti delle prove registrate per i 3 soggetti coinvolti. E' stato valutato il p-value tra i valori dell'AUC nel caso freddo e quelli nel caso caldo, con livello di significatività  $\alpha$  del test pari a 0.05.

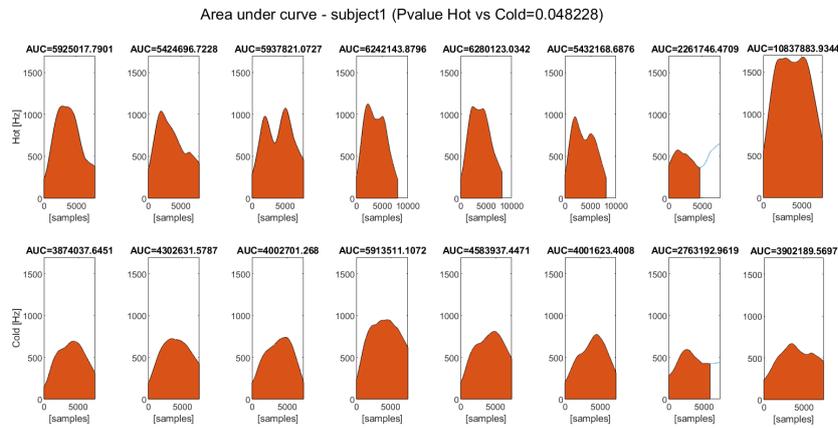


Fig. 5.1: 8 compressioni nel caso di cuscinetto d'acqua caldo e 8 nel caso di cuscinetto d'acqua freddo per il soggetto 1

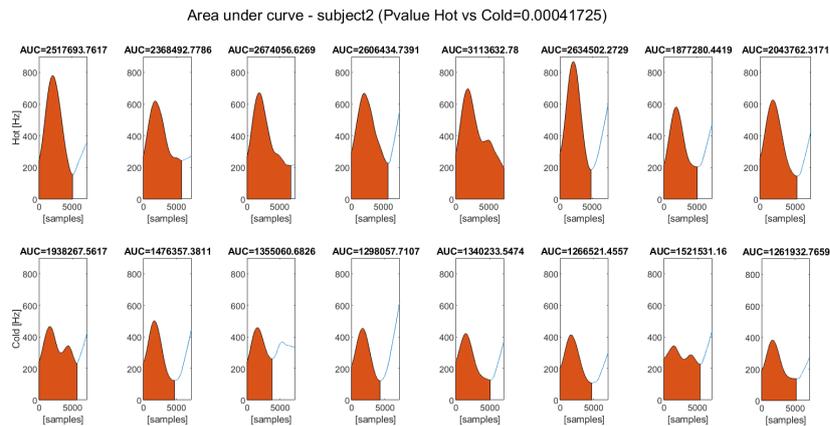


Fig. 5.2: 8 compressioni nel caso di cuscinetto d'acqua caldo e 8 nel caso di cuscinetto d'acqua freddo per il soggetto 2

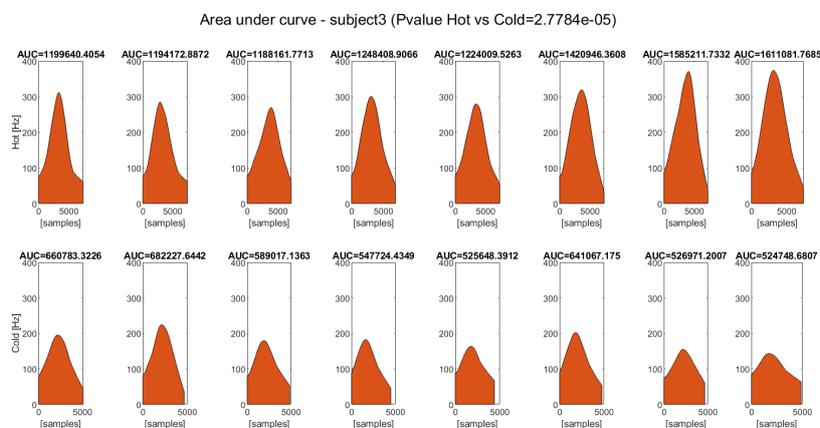


Fig. 5.3: 8 compressioni nel caso di cuscinetto d'acqua caldo e 8 nel caso di cuscinetto d'acqua freddo per il soggetto 3

Dai dati ottenuti si dimostra che è presente una significatività statistica tra i due casi e che l'area sottesa al profilo della risposta è nettamente superiore nel caso di cuscinetto d'acqua caldo.

Per questo motivo si è deciso di utilizzare in tutte le prove del protocollo definitivo il cuscinetto d'acqua riscaldato ottenendo quindi una risposta ben visibile e individuabile rispetto alla pulsatilità naturale.

### 5.1.2 Protocollo Synchro ECG

Per ogni soggetto, sia nel caso di impulso di gonfiaggio sincronizzato con l'ECG sia nel caso non sincronizzato, sono stati ricavati i box plot per i valori di tempo di transito misurati manualmente, presenti in Figura 5.4, da cui si può notare che nel caso di sincronizzazione con l'onda R la variabilità dei valori temporali registrati viene ridotta in maniera notevole rispetto al caso non sincronizzato.

Si può dedurre che la sincronizzazione dell'impulso con l'onda R è fondamentale poiché, facendo cadere l'impulso sempre in uno stesso momento del ciclo cardiaco, viene eliminata una parte della variabilità.

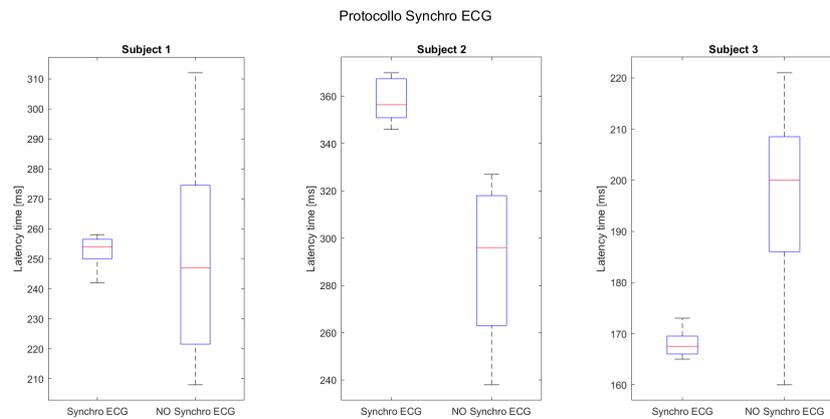


Fig. 5.4: Box plot delle latenze temporali per valutare il vantaggio della sincronizzazione con il segnale ECG

### 5.1.3 Protocollo Synchro Breath

Anche in questo protocollo sono stati ricavati i box plot relativi alle latenze temporali misurate manualmente nel caso sincronizzato, ovvero con l'impulso di gonfiaggio in corrispondenza della fine dell'espirazione, e nel caso non sincronizzato, quindi con l'impulso che cade in modo random rispetto al ciclo respiratorio. Essi sono osservabili in Figura 5.5.

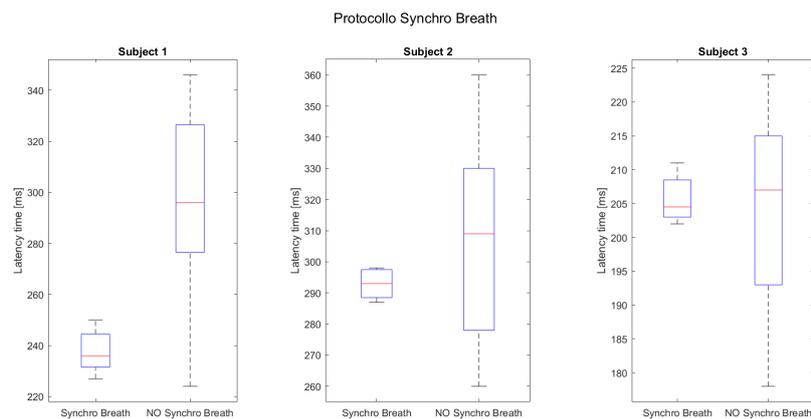


Fig. 5.5: Box plot delle latenze temporali per valutare il vantaggio della sincronizzazione con il respiro

Dai risultati ottenuti, si nota come la respirazione influenzi molto la misura delle latenze temporali. Infatti si ha una modulazione del flusso venoso con il respiro in cui la fase inspiratoria aumenta il ritorno venoso e quindi modifica la velocità di propagazione dell'onda [21].

Nella modalità non sincronizzata, l'impulso può essere dato in qualsiasi fase del respiro, durante l'inspirazione o durante l'espiazione, e questa variazione della fase del respiro comporta una variazione del valore misurato. Senza la sincronizzazione si avrebbe quindi un'alta variabilità, soprattutto perché la fase inspiratoria dipende molto da quanto il soggetto ha espanso la gabbia toracica per effettuare il respiro. Il motivo è che l'inspirazione è un processo attivo dovuto alla contrazione dei muscoli che fanno dilatare la gabbia toracica e di conseguenza i polmoni per far entrare l'aria al loro interno, mentre l'espiazione è un processo passivo poiché è un semplice rilassamento della muscolatura e il ritorno della gabbia toracica nella posizione precedente in modo da far fuoriuscire l'aria all'esterno. Proprio per questa ragione è stato scelto come momento per la sincronizzazione la fine dell'espiazione, che invece è più ripetibile.

#### 5.1.4 Protocollo Peak Pressure

Per ogni fase del protocollo, corrispondente a un certo valore di pressione, è stata osservata la risposta allo stimolo valutando come essa fosse facilmente individuabile ai fini della misura.

Si riportano come esempio le risposte del soggetto 3 relative ai tre valori di tempo di gonfiaggio indagati e successivamente i tre andamenti medi sovrapposti.

Si può osservare che la risposta allo stimolo di pressione è visibile anche per valori di pressione minori (Figura 5.6) ma al diminuire della pressione la ripidità dell'insorgenza dell'onda risulta leggermente minore (Figura 5.7).

Dunque, dato che una maggiore ripidità comporta una più semplice individuazione del footprint, si può concludere che è comunque meglio scegliere un livello di pressione maggiore per poter avere meno incertezze in fase di misura, una volta accertata la sicurezza del sistema di compressione.

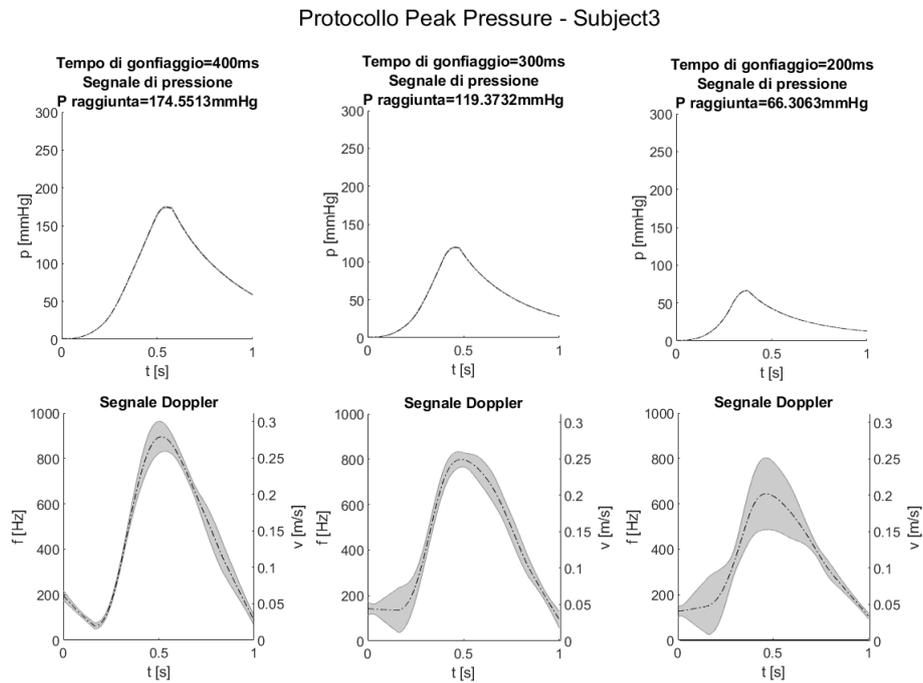


Fig. 5.6: Andamento del segnale di pressione e del segnale Eco-Doppler al variare del tempo di gonfiaggio per il soggetto 3

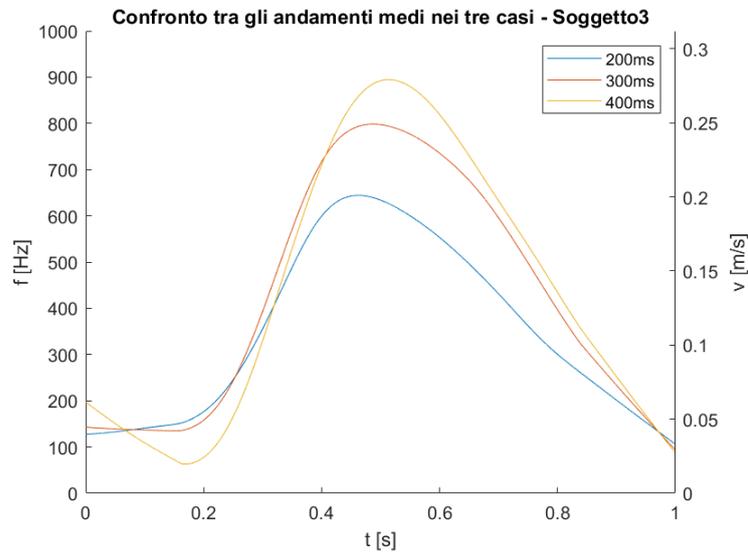


Fig. 5.7: Confronto delle pendenze degli andamenti medi nei tre casi per il soggetto

### 5.1.5 Protocollo Manicotto largo vs stretto

In questo protocollo, proprio come ci si aspettava, nel caso di manicotto stretto si raggiungono pressioni circa pari a 300 mmHg mentre nel caso di manicotto largo si arriva solo a circa 200 mmHg.

Misurando manualmente le latenze temporali per ogni soggetto in entrambe le condizioni sono stati ricavati i box plot da cui si può notare come nel caso di manicotto largo si ottengano valori di latenza molto maggiori.

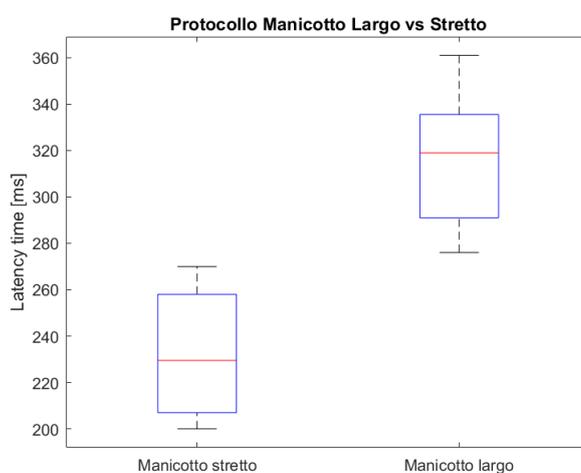


Fig. 5.8: Box plot delle latenze temporali per valutare le variazioni in base alla modalità con cui si stringe il manicotto

Questa differenza sta proprio nel fatto che con il manicotto più largo, è necessario un tempo maggiore per esercitare pressione sulla mano del soggetto. In realtà ciò che varia non è quindi il tempo di risposta dell'onda pulsatoria allo stimolo di pressione ma è la latenza tra quando si apre la valvola di gonfiaggio per dare lo stimolo e quando effettivamente la pressione aumenta a livello della mano da comprimere.

Per poterlo verificare, il tempo che viene normalmente misurato è stato suddiviso in due parti:

- tempo  $t_g$  che va dall'impulso di gonfiaggio ( $V_{\text{gonf}}$ ), ovvero dall'apertura della valvola, fino a quando il segnale di pressione acquisito dal trasduttore raggiunge 10 mmHg;

- tempo  $t_p$  che va da questo punto di pressione fino al footprint dell'onda pulsatoria.

Questi due tempi possono essere visualizzati nella figura seguente in cui il cursore 0 indica l'istante temporale in cui si ha il  $V_{gonf}$ , il cursore 1 è posizionato nell'istante in cui la pressione raggiunge il valore di 10 mmHg e il cursore 2 invece sul footprint della risposta.

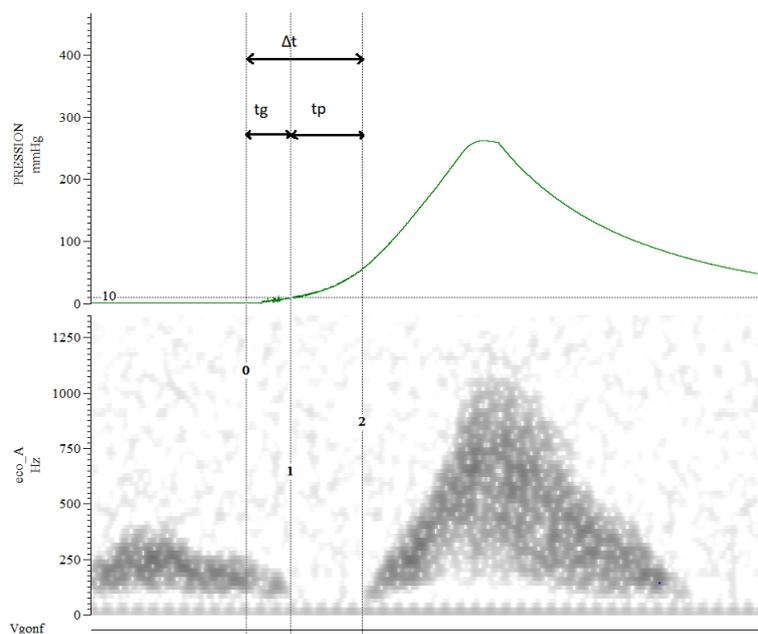


Fig. 5.9: Latenze temporali  $t_g$  e  $t_p$  valutate su Spike2

Questi tempi sono stati calcolati per ciascun caso e per ognuno dei tre soggetti, e sono state valutate le loro variazioni passando da un caso all'altro.

Come si può osservare nel bar diagram in Figura 5.10, la variazione di  $t_p$  tra il caso con manicotto largo e il caso con manicotto stretto, risulta essere minore rispetto a quella di  $t_g$ . Ciò accade perché  $t_p$  rappresenta il tempo effettivo che il flusso sanguigno venoso impiega per rispondere a un innalzamento della pressione esterna subita che quindi dovrebbe essere molto simile in entrambi i casi; una certa variabilità però ci sarà comunque a causa della variabilità intrinseca del soggetto e a causa dell'incertezza della misura posizionando manualmente il cursore. Invece il valore di  $t_g$  varia maggiormente

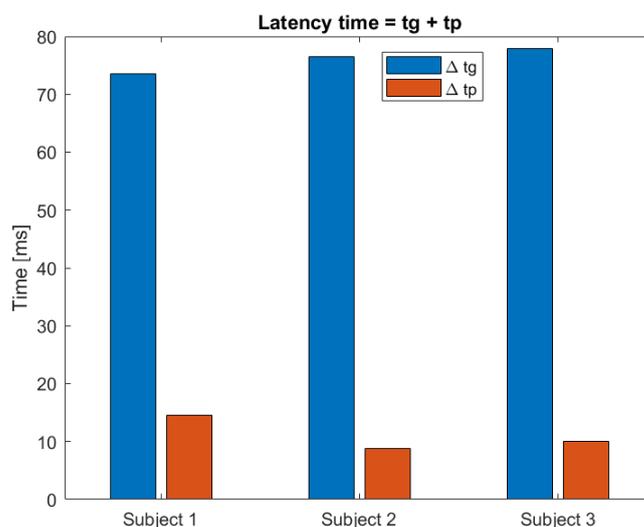


Fig. 5.10: Bar diagram delle variazioni dei tempi  $t_g$  e  $t_p$  passando dal manicotto largo al manicotto stretto

tra i due casi poiché esso rappresenta la latenza temporale del sistema per far innalzare il valore di pressione fino a 10 mmHg. Nel caso di manicotto stretto questa latenza sarà minore, mentre con il manicotto largo sarà maggiore.

Da questa analisi si deduce che per valutare l'effettivo tempo di propagazione dell'onda pulsatoria sarebbe meglio utilizzare un riferimento sul segnale di pressione. Ma dato che utilizzare il segnale evento  $V_{\text{gonf}}$  è molto più immediato, si è deciso di utilizzare quest'ultimo con il manicotto stretto e di valutare, durante le varie prove, anche la latenza temporale del sistema. Per farlo si è sfruttata la misura del tempo in cui un impulso di pressione viene rilevato sulla vena del polso.

## 5.2 Protocollo definitivo

Nel protocollo definitivo le misure del tempo di transito dell'onda pulsatoria sono state prese in modo manuale e successivamente in modo automatico. Esse sono necessarie, insieme alla misura di distanza  $\Delta x$  diversa per ogni soggetto, per poter ricavare i valori della velocità dell'onda pulsatoria.

## 5.2.1 Risultati manuali di PWV

Si riportano di seguito i risultati di PWV ottenuti dalle misure manuali di  $\Delta t$ , visualizzati sotto forma di box plot per ciascun soggetto e per ciascuna fase del protocollo. Considerando i valori di una fase distesa e quelli della relativa fase PLR è stato applicato un test statistico non parametrico di Wilcoxon, il quale è adatto al fine di vedere delle differenze significative tra due situazioni soggetto per soggetto.

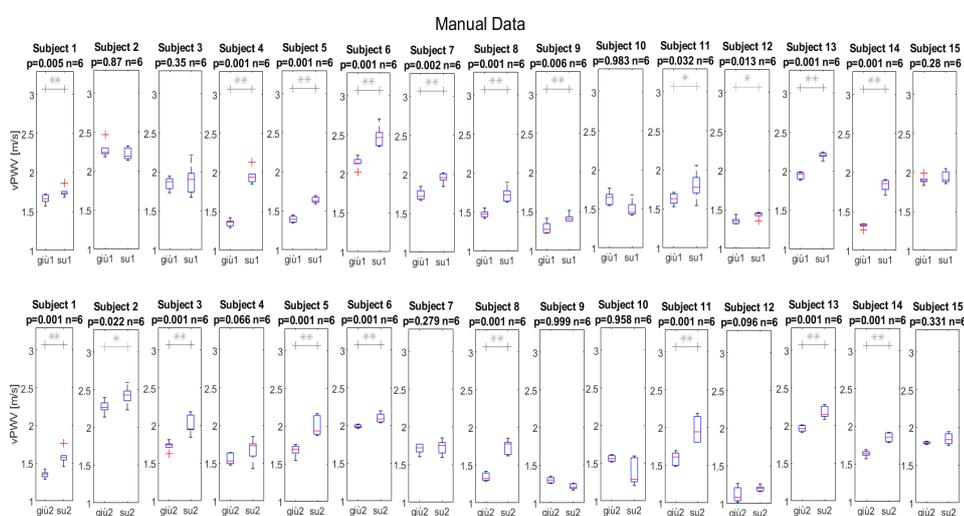


Fig. 5.11: Box plot dei valori di vPWV ricavati dalle misure manuali per il protocollo definitivo

Da questo grafico si possono osservare i casi in cui è presente significatività statistica. Nella maggior parte dei soggetti c'è stata una differenza significativa tra la fase distesa e la fase PLR per quanto riguarda il valore di vPWV:

- 11 soggetti su 15 per il primo ciclo giù-su;
- 9 soggetti su 15 per il secondo ciclo giù-su.

Eccetto due soggetti, 10 e 15, tutti gli altri presentano una significatività statistica in almeno uno dei due cicli effettuati. Ciò indica che si ha

effettivamente una variazione significativa di vPWV a seguito della manovra del PLR. Il motivo per cui la variazione di vPWV in alcuni casi è minore rispetto ad altri dipende dal regime di compliance del soggetto nel corso della prova. Infatti in alcuni tratti della curva di compliance è sufficiente una piccola variazione di volume per ottenere una significativa variazione di pressione, mentre in altri tratti avviene il contrario, ovvero per avere un'evidente variazione di pressione è necessario avere una grande variazione di volume. Inoltre la curva di compliance può variare se le vene modificano il loro tono vascolare, diventando più o meno complianti.

Per quanto riguarda le differenze tra i due cicli giù-su si riportano i grafici relativi alle rette congiungenti i valori di vPWV nei due casi e al conseguente coefficiente angolare.

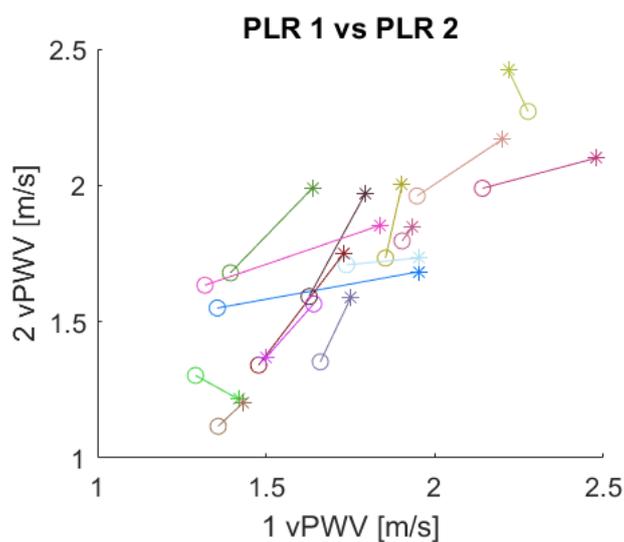


Fig. 5.12: Rette, per ogni soggetto, che uniscono i punti rappresentanti i valori di vPWV nei due cicli giù-su: il simbolo di forma circolare corrisponde alla fase giù, mentre l'asterisco alla fase su

Dalla Figura 5.12 si può notare come nella gran parte dei soggetti la retta presenta una pendenza positiva in quanto nella fase PLR si hanno valori maggiori di vPWV rispetto alla fase distesa. Se confrontando i due

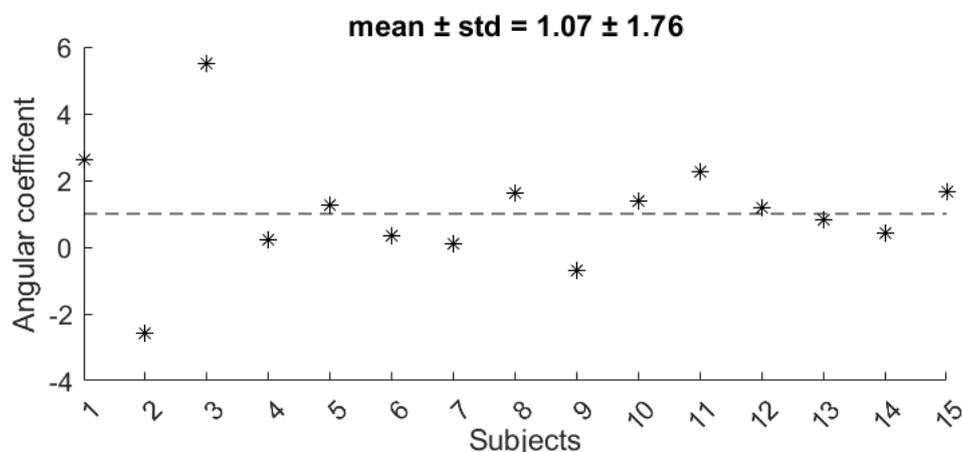


Fig. 5.13: Coefficienti angolari delle rette per ogni soggetto

cicli si fossero ottenuti gli stessi valori di vPWV per le fasi giù1-giù2 e su1-su2, le rette avrebbero dovuto avere un coefficiente angolare unitario, quindi il caso ideale corrisponde ad avere  $m = 1$  per tutti i soggetti, ovvero un valore unitario costante nella Figura 5.13. Nella realtà invece è improbabile ottenerlo esattamente unitario a causa della variabilità presente nella risposta di ogni soggetto e quella dovuta alla non assoluta ripetibilità delle misure; quindi si può osservare una certa deviazione dalla retta orizzontale, ma in pochi casi il valore si discosta in modo notevole.

### 5.2.2 Risultati automatici di PWV

Successivamente sono stati analizzati i file di acquisizione utilizzando l'algoritmo implementato su Matlab per eseguire l'analisi automatica. Esso permette di selezionare il metodo da utilizzare per ricavare il profilo della risposta nel segnale Doppler e quello per individuare il footprint.

E' stato osservato che una migliore approssimazione dell'andamento dell'effettivo segnale Doppler viene ottenuta con il metodo dell'involuppo del segnale audio (EV) rispetto al metodo dell'analisi tempo-frequenza (TF), il quale inoltre richiede un tempo maggiore di computazione.

Si riportano in Figura 5.14 e in Figura 5.15 i box plot della PWV avendo

applicato l'involuppo del segnale audio con i due metodi per il footprint utilizzati che hanno rispecchiato maggiormente la realtà presentando meno errori. Per ogni metodo è stato calcolato il relativo coefficiente di Pearson ottenuto rispetto ai risultati delle misure manuali: sia il coefficiente totale considerando tutte le compressioni di tutti i soggetti insieme, sia il coefficiente relativo a un soggetto.

Ci sono casi in cui il coefficiente di Pearson risulta essere molto minore rispetto al resto, probabilmente a causa di errori dell'algorithm nell'individuare il footprint.

Con un coefficiente di Pearson totale minore si ottengono meno casi in cui è presente una significatività statistica rispetto all'analisi manuale. Il metodo automatico più adatto è risultato essere il metodo della percentuale sul profilo ottenuto tramite l'involuppo del segnale audio, in quanto presenta il più alto coefficiente di Pearson rispetto ai dati manuali.

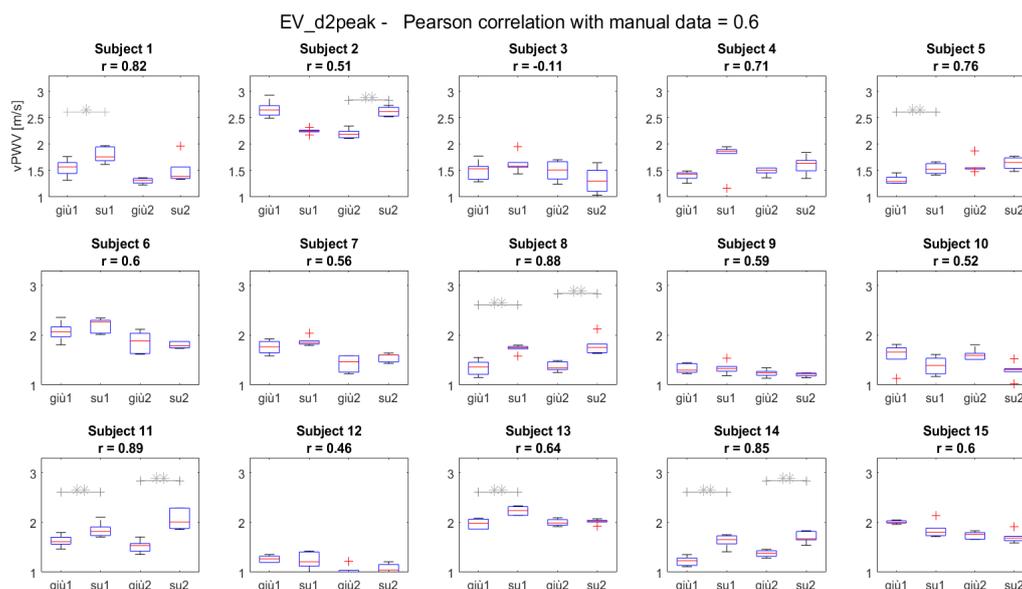


Fig. 5.14: Box plot dei valori di PWV ricavati dalle misure automatiche tramite il metodo della derivata seconda

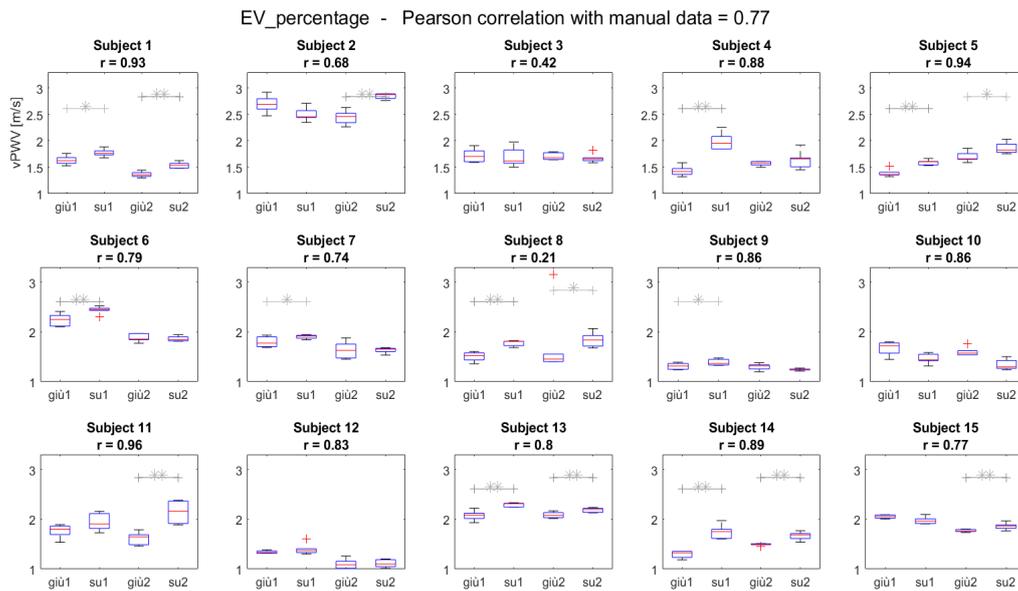


Fig. 5.15: Box plot dei valori di PWV ricavati dalle misure automatiche tramite il metodo della percentuale

Per quanto riguarda l'analisi delle differenze tra un ciclo giù-su e quello successivo, si riportano, in Figura 5.16 e Figura 5.17, i grafici relativi ai due metodi automatici considerati. Si può osservare che con il metodo della percentuale si ottiene una minore deviazione standard ma un valore medio più distante dall'unità rispetto al metodo della derivata seconda.

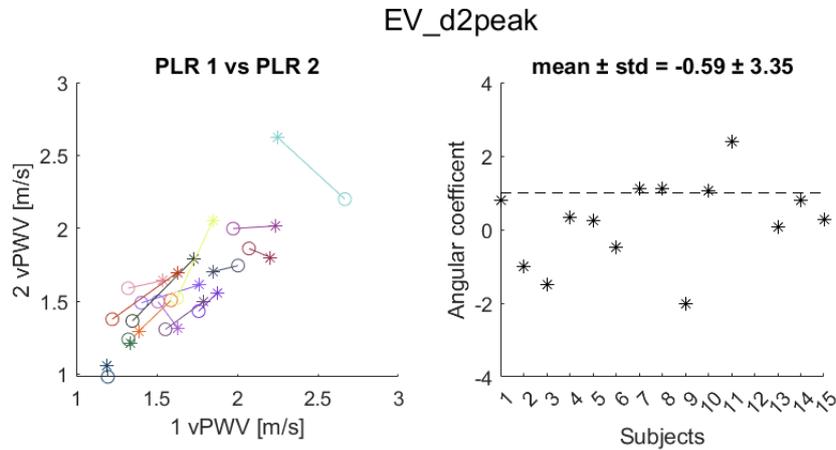


Fig. 5.16: Rette e coefficienti angolari relativi al metodo del picco della derivata seconda, per ogni soggetto, che uniscono i punti rappresentanti i valori di vPWV nei due cicli giù-su: il simbolo di forma circolare corrisponde alla fase giù, mentre l'asterisco alla fase su

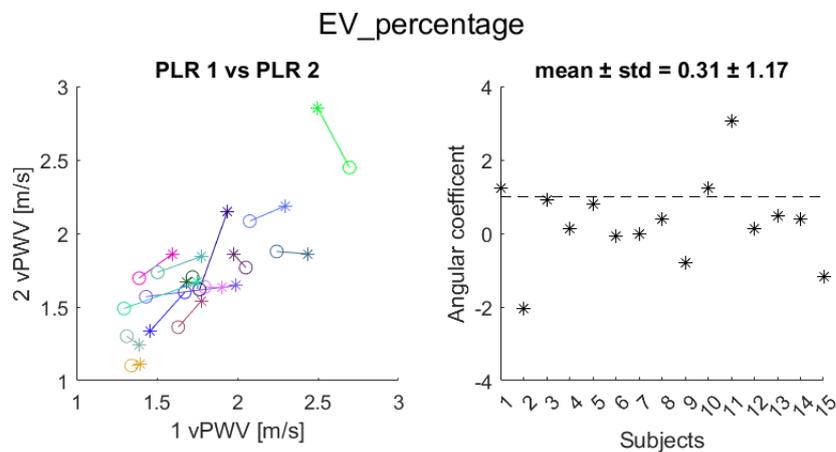


Fig. 5.17: Rette e coefficienti angolari relativi al metodo della percentuale, per ogni soggetto, che uniscono i punti rappresentanti i valori di vPWV nei due cicli giù-su: il simbolo di forma circolare corrisponde alla fase giù, mentre l'asterisco alla fase su

### 5.2.3 Risultati di pressione venosa e calibro del vaso

Come misura del calibro della vena è stata scelta quella di perimetro per avere indicazione delle possibili dilatazioni e quindi variazioni di volume del vaso. Le misure di perimetro registrate alla fine di ciascuna fase sono state fatte corrispondere a quelle di pressione venosa centrale (CVP) in modo da osservare l'andamento della variazione di volume rispetto alla variazione di pressione, ovvero della compliance venosa. Si riportano, in Figura 5.18 e Figura 5.19, i grafici di queste misure mediate sui soggetti del protocollo sia per le prime due fasi (giù1-su1) sia per le ultime due (giù2-su2).

In entrambi i casi si può osservare che sono state ottenute delle variazioni di piccola entità sia per la pressione sia per il volume passando dalla posizione supina alla manovra del PLR, e che la pendenza della retta che unisce i due punti risulta essere la compliance venosa; quindi si potrebbe avere idea del regime di compliance di questo tratto della curva. Ma si può anche osservare che le barre di errore sono molte ampie in quanto queste misure presentano un'alta variabilità e una risoluzione scarsa che non permette di apprezzare piccole variazioni di pressione venosa.

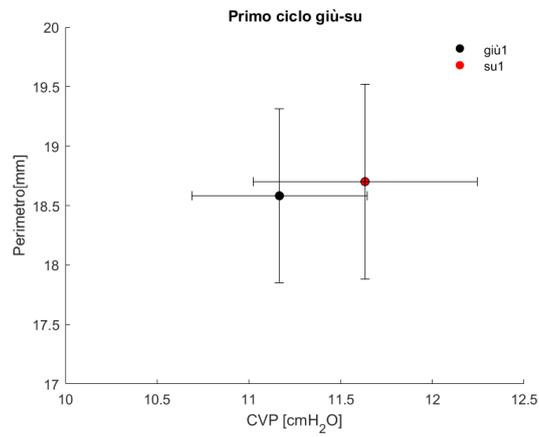


Fig. 5.18: Rappresentazione dei valori di CVP e di perimetro mediati sui soggetti per il primo ciclo giù-su con i relativi errori standard

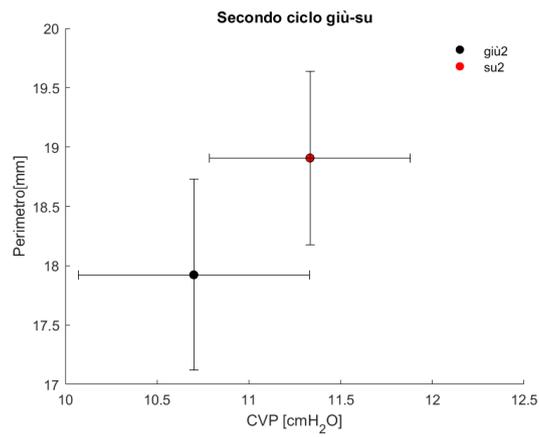


Fig. 5.19: Rappresentazione dei valori di CVP e di perimetro mediati sui soggetti per il secondo ciclo giù-su con i relativi errori standard

## 6. POSSIBILI MODIFICHE DEL PROTOCOLLO

Parallelamente all'attuazione degli esperimenti previsti dal protocollo definitivo sui soggetti sani volontari, sono stati anche esplorati nuovi metodi per migliorare alcuni aspetti delle prove. L'obiettivo di queste modifiche è quello di automatizzare maggiormente la procedura e diminuire i tempi necessari al completamento di tutte le misure.

Sono state elaborate due modifiche al protocollo che potrebbero indurre a dei miglioramenti:

- la sincronizzazione automatica con il respiro, possibile grazie alla rilevazione del ciclo respiratorio tramite un sensore;
- l'aggiornamento automatico del valore del ritardo dell'impulso al variare della frequenza cardiaca.

### *6.1 Sincronizzazione automatica dell'impulso di gonfiaggio con la respirazione*

Nel protocollo utilizzato per questo studio la sincronizzazione con la respirazione del soggetto è stata ottenuta con un metodo manuale, ovvero era il soggetto a premere il pulsante nel momento in cui si trovava a fine espirazione. Ciò però provoca sia una respirazione non completamente naturale poiché il soggetto si concentra sulla sua fase respiratoria sia fa dipendere la durata dell'esperimento dalla frequenza con cui il soggetto preme il pulsante. Quest'ultimo aspetto è critico soprattutto nella fase PLR, in cui gli effetti maggiori sono osservabili nei primi minuti dopo il sollevamento delle gambe, quindi se il soggetto fa scorrere un tempo eccessivo tra una compressione e

la successiva si avranno alla fine delle compressioni in cui l'effetto del PLR sarà più debole.

Per risolvere queste problematiche si è pensato di rilevare in modo automatico la fase del ciclo respiratorio del soggetto senza la sua collaborazione utilizzando una fascia toracica in materiale elastico contenente dei sensori piezoelettrici. Questi ultimi al variare dell'espansione della gabbia toracica vengono deformati meccanicamente e quindi producono un segnale di tensione proporzionale alla deformazione subita. Durante l'ispirazione il segnale sarà positivo perché la gamba toracica si espande, invece durante l'espirazione il segnale sarà negativo.



Fig. 6.1: Sensore per il respiro utilizzato: sensore respiro addome/toracico riutilizzabile - Spes medica

<https://www.spesmedica.com/it/archivio-news/281-nuovo-catalogo-prodotti.html>

Il segnale analogico di tensione può quindi essere acquisito su un canale del CED e su Spike2 si possono impostare delle soglie per individuare le fasi del ciclo respiratorio. Il segnale che viene acquisito risulta avere un andamento quasi sinusoidale a media nulla in cui si alternano le fasi di inspirazione ed espirazione.

Sono state impostate due soglie consecutive.

- una prima soglia per individuare il momento in cui il segnale è positivo e quindi indica la fase inspiratoria:

*Channel > 0*

- una seconda soglia per identificare il momento in cui il soggetto sta effettuando l'espirazione diminuendo l'espansione della gabbia toracica:

*Channel < 0.1*

Questa soglia ha come valore 0.1 invece di 0 poiché si vuole rilevare con anticipo la fase espiratoria in modo da avere il tempo di rilevare la prima onda R disponibile e impostare il ritardo opportuno per poter inviare l'impulso di gonfiaggio per il manicotto. Si deve infatti fare in modo che la risposta allo stimolo cada quanto più possibile nella fase espiratoria discendente.

Il controllo di queste due soglie è stato inserito nel sequencer di Spike2, con distanza tra i due controlli pari a 300 ms.

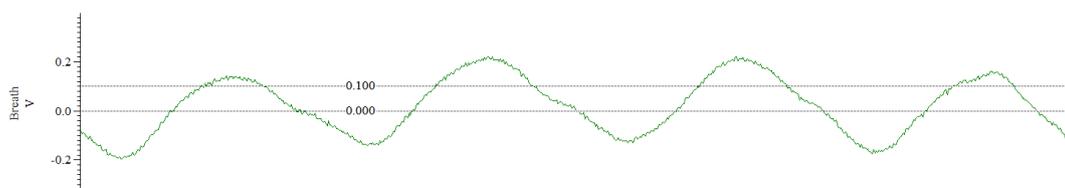


Fig. 6.2: Esempio del segnale dato dal sensore per il respiro acquisito tramite il CED e visualizzato su Spike2

Grazie all'utilizzo di questo sensore è possibile quindi rendere la sincronizzazione con il respiro automatica. In questo modo il soggetto non deve preoccuparsi di dover premere il pulsante per effettuare la compressione ma può respirare in maniera più naturale isolandosi da ciò che sta accadendo intorno.

## 6.2 Aggiornamento automatico del ritardo dell'impulso

Il ritardo dell'impulso rispetto alla rilevazione dell'onda R è quello che viene impostato dall'operatore che sta eseguendo l'esperimento in modo da far cadere la risposta alla compressione nella parte di segnale Doppler in cui non sia presente la pulsatilità naturale delle vene. Una volta impostato, durante il corso della prova deve essere modificato per ottenere lo scopo prefissato

poiché il flusso naturale venoso può variare anche all'interno di una stessa fase, distesa o PLR.

E' stato osservato che la fonte principale di variabilità è data dalla frequenza cardiaca (Heart Rate - HR), perciò misurandola in tempo reale e aggiornando il valore del ritardo in base a questa misura si può evitare di modificarlo manualmente durante l'esperimento. In questo modo si evita anche di dover escludere una compressione dall'analisi dei dati a causa del fatto di non aver modificato prontamente il ritardo in modo opportuno.

Supponendo che HR tra un battito e quello successivo non vari in modo notevole, si è pensato di rendere il ritardo una funzione di HR scrivendolo come la differenza tra la distanza tra le due onde R precedenti all'impulso, ovvero l'inverso dell'ultimo valore di frequenza cardiaca misurato prima dell'impulso, e un valore temporale  $\tau$  che viene impostato dall'operatore e che dovrebbe stimare il tempo di latenza per ottenere la risposta.

$$Delay = RR - \tau$$

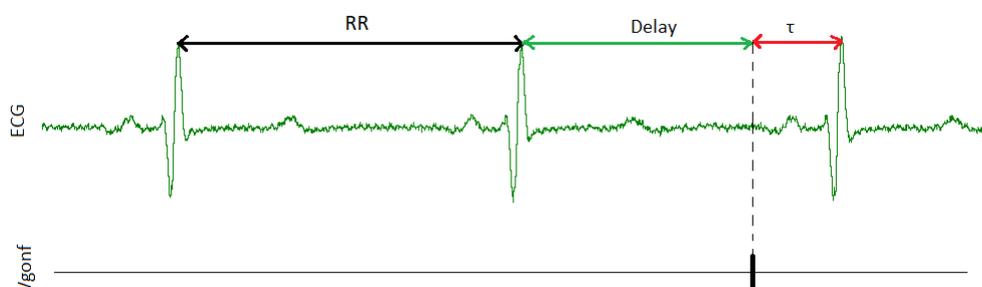


Fig. 6.3: Rappresentazione del ritardo dell'impulso rispetto all'onda R in funzione della distanza RR

Per raggiungere tale scopo è stato implementato uno script per il software Spike2 che permette di impostare il valore di  $\tau$  in modo arbitrario e che misura durante l'acquisizione in tempo reale la frequenza cardiaca in Hz, di cui poi ne calcola l'inverso per ricavare la distanza RR in secondi.

Le due variabili,  $\tau$  e RR, vengono continuamente trasferite al sequencer di Spike2 che esegue la sottrazione e impone il risultato come il tempo di attesa, dopo la rilevazione dell'onda R, per poter inviare l'impulso di gonfiaggio (Vgonf).

In questo modo, una volta stabilito all'inizio dell'acquisizione il valore di  $\tau$ , l'operatore non deve più modificare il valore del ritardo poiché esso verrà adattato per ogni compressione alla frequenza cardiaca istantanea, perciò non viene perso del tempo nel riconfigurare il ritardo e tutte le compressioni effettuate dal punto di vista di questo parametro saranno accettabili.

## 7. CONCLUSIONI

In conclusione, questo lavoro di tesi ha analizzato la possibilità di misurare nel modo più ripetibile possibile la propagazione di un'onda di pressione generata artificialmente nelle vene come parametro utile ad avere indicazioni su pressione venosa e volemia, ovvero parametri di rilevante interesse clinico per quanto riguarda la valutazione delle condizioni emodinamiche dei pazienti e il monitoraggio nella terapia dei fluidi. Infatti l'accuratezza nel definire potenzialmente lo stato dei fluidi corporei è di fondamentale importanza durante i processi diagnostici e terapeutici dei disturbi acuti e cronici [8].

L'obiettivo è stato raggiunto realizzando un set-up sperimentale ad hoc che permette di eseguire misure non invasive di venous Pulse Wave Velocity (vPWV) grazie a un sistema di compressione che genera l'onda di pressione attraverso la compressione rapida dell'estremità di un arto e un dispositivo Eco-Doppler che rileva l'onda di pressione prossimalmente.

### *7.1 Innovazioni nel set-up sperimentale*

Attraverso un'estesa serie di protocolli preliminari sono state evidenziate alcune necessità metodologiche e sono stati messi a punto alcuni stratagemmi sperimentali per ridurre la variabilità della misura e raggiungere in questo modo il massimo della sensibilità per la misura di vPWV.

Come è stato discusso in precedenza, la pressione venosa, essendo estremamente bassa è anche profondamente modulata dall'attività respiratoria, la quale cambia le pressioni nel torace, e dall'attività cardiaca. Questa influenza deleteria sulla variabilità della stima di vPWV è stata documentata e risolta implementando un efficace algoritmo automatico di sincronizzazione dell'impulso di compressione con il segnale respiratorio e con l'ECG. Sebbene in uno

dei primi studi di vPWV su esseri umani [27] fossero già registrati il segnale ECG e il segnale respiratorio dato da sensori estensimetrici la generazione dell'onda di pressione non era sincronizzata ad essi.

Sono stati esplorati anche gli aspetti riguardanti la perfusione sanguigna dell'arto da comprimere e la modalità con cui si allaccia il manicotto.

Infatti i pazienti hanno spesso le mani fredde, quindi meno perfuse, ed è stato osservato che ciò potrebbe essere un impedimento alla misura di vPWV, il quale può essere risolto riscaldando l'ambiente esterno come fatto in un lavoro presente in letteratura [17]. In questo caso è stato utilizzato un cuscinetto d'acqua riscaldato posizionato sulla mano da comprimere.

Per quanto riguarda il grado di tensione del manicotto, esso modifica la latenza temporale impiegata dal sistema per comprimere efficacemente la mano del paziente e per fare in modo che non vada ad alterare la misura di vPWV si può riferire la misura del tempo di transito  $\Delta t$  direttamente al segnale di pressione che viene rilevato dal trasduttore sul manicotto, al posto di riferirlo al trigger di apertura dell'elettrovalvola di gonfiaggio.

Dal lavoro precedente [29] si era giunti alla definizione del set-up sperimentale con un solo sito di registrazione dell'onda di pressione ma queste proprietà non erano state tenute in conto.

Inoltre avendo osservato che l'identificazione del footprint era migliore in condizioni di flusso venoso basso o nullo è stata anche implementata la possibilità di controllare la fase del ciclo cardiaco in cui far pervenire l'onda velocimetrica e anche questo aspetto è stato automatizzato in modo da evitare sfasamenti causati da variazioni di frequenza cardiaca, durante le manovre.

## 7.2 Influenza del PLR sulla vPWV

In studi precedenti era già stato osservato che una riduzione di volume dovuta ad emorragia [7] o variazioni di pressione venosa indotte da cambiamenti posturali [29] potevano essere rilevati da conseguenti variazioni di vPWV.

I dati raccolti in questo studio, grazie anche agli stratagemmi implementati (v. sopra) dimostrano che la misura di vPWV può avere la sensibilità

sufficiente a rilevare gli effetti del PLR in soggetti sani. Si vuole sottolineare che il PLR simula un aumento di volemia nella parte superiore del corpo (tronco e arti) dell'ordine di 300 ml quando implementato su soggetto inizialmente con busto reclinato. In questo caso, in cui il busto del soggetto rimane supino, l'aumento simulato di volemia è probabilmente molto minore. I risultati ottenuti, ovvero variazioni significative in 11/15 soggetti, sono pertanto particolarmente incoraggianti e suggeriscono che questa misura possa trovare applicazione anche nell'ambito di valutazioni cliniche.

### 7.3 Limiti dello studio e sviluppi futuri

Il seguente studio presenta però dei limiti che risultano essere:

- Misure non accurate di pressione venosa e calibro del vaso. Si tratta comunque di misure complementari ma è possibile che se valutate con maggiore precisione possano essere di supporto e di integrazione alla misura di vPWV. La misura della sezione vascolare potrebbe essere migliorata automatizzandola tramite algoritmi per l'elaborazione di immagini ecografiche mentre quella di pressione venosa richiederebbe una risoluzione spaziale molto più elevata del dispositivo ecografico e un metodo più veloce per individuare l'altezza del carico idrostatico.
- Impossibilità di misurare la pressione venosa all'inizio della fase PLR poiché, essendo una procedura di misura non veloce, farebbe scorrere troppo tempo prima di poter compiere le compressioni e quindi potrebbe vanificare l'effetto della manovra. Però misurandola al termine della fase si potrebbe non ottenere un'appropriata corrispondenza con le misure di vPWV in quanto nel momento in cui si misura la pressione venosa l'effetto del PLR potrebbe essere ridotto a causa di fenomeni di adattamento del corpo.

Infatti il PLR dà probabilmente luogo ad un transitorio emodinamico le cui tempistiche, non essendo state valutate, non sono ben definite. L'applicazione del sincronismo col respiro e l'affiancamento di

---

altri strumenti, ad esempio il monitoraggio di pressione arteriosa e gittata cardiaca, potrebbero permettere una maggiore comprensione dei transitori associati al PLR.

- Il secondo ciclo di misure non può essere ragionevolmente usato per una misura di ripetibilità proprio perché non si conoscono bene le caratteristiche dei transitori e i tempi di adattamento dell'organismo, e anche perché le misure del protocollo non sono state eseguite in modo rigoroso rispetto alle tempistiche del PLR.
- Tempo necessario per poter eseguire il protocollo dovrebbe essere velocizzato. Infatti l'intera durata è pari a circa un'ora, poiché ogni fase richiede circa 10 minuti e tra una fase e l'altra si hanno le misure di pressione e calibro oltre alla sistemazione del soggetto per la fase successiva. Per poter diminuire il tempo richiesto bisogna cercare di automatizzare il più possibile le misure ed effettuare un maggior numero di compressioni al minuto.

Nonostante i vari limiti incontrati, è di estrema importanza la differenza significativa osservata tra i valori di vPWV con il soggetto supino rispetto a quelli ottenuti durante l'esecuzione del PLR. La PWV misurata nelle vene ha la potenzialità di riconoscere gli stati ipovolemici rispetto al caso normovolemico in modo veloce e non invasivo. La PWV venosa perciò potrebbe rappresentare un indicatore di volemia utile a livello clinico. Infatti se i vasi del distretto venoso risultano essere distesi in quanto presentano una discreta quantità di sangue al loro interno, nel momento in cui il volume sanguigno viene aumentato le pareti vasali non si distenderanno molto di più ma la pressione aumenterà e di conseguenza si avrà un aumento della vPWV. Invece nel caso di ipovolemia, ovvero le vene non risultano distese, con l'aumento di volume le pareti si distenderanno accogliendo il sangue aggiuntivo e si avrà un minore aumento di pressione e quindi di vPWV.

La vPWV potrebbe essere di aiuto per la somministrazione dei fluidi. Infatti un aumento della volemia dovrebbe produrre un aumento della gittata

---

sistolica, grazie all'aumento del ritorno venoso e della relazione di Starling, se si è nella zona ascendente della curva e quindi nel caso *responder*.

Ma monitorare il volume ematico non è esattamente equivalente a predire la fluid responsiveness [26]. Per determinare l'effettiva fluid responsiveness, ovvero il beneficio in termini di gittata cardiaca a seguito dell'infusione di fluidi rappresentata in questo caso dal PLR, sarebbe necessaria anche una misura di *cardiac output*, in modo da verificare un suo effettivo aumento.

Sarebbe perciò interessante e utile continuare lo studio includendo anche misure di cardiac output discriminando tra casi *responder* e *nonresponder*.

Un ulteriore sviluppo di questo studio potrebbe essere quello di confrontare la misura di vPWV con la misura di un parametro per test dinamici usato in clinica sempre prima e dopo il PLR. Ad esempio si potrebbero misurare simultaneamente durante le fasi del protocollo sia la vPWV tramite il sistema realizzato sia la distensibilità della vena cava inferiore (Inferior vena cava distensibility - IVC) con il Caval index [16] grazie alla collaborazione di un medico specializzato. In questo modo si potrebbero analizzare e confrontare la sensibilità e la ripetibilità dei due metodi.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Karim Bendjelid and Jacques André Romand, *Fluid responsiveness in mechanically ventilated patients: A review of indices used in intensive care*, Applied Physiology in Intensive Care Medicine 2: Physiological Reviews and Editorials **1** (2012), 1–11.
- [2] David A. Berlin and Jan Bakker, *Starling curves and central venous pressure*, Critical Care **19** (2014), no. 1.
- [3] Pierre Boutouyrie, Marie Briet, Cédric Collin, Sebastian Vermeersch, and Bruno Pannier, *Assessment of pulse wave velocity*, Artery Research **3** (2009), no. 1, 3–8.
- [4] Gerhard A. Brecher, *Cardiac Variations in Venous Return Studied With a New Bristle Flowmeter*, American Journal of Physiology-Legacy Content **176** (2017), no. 3, 423–430.
- [5] Keith Corl, Anthony M. Napoli, and Fenwick Gardiner, *Bedside sonographic measurement of the inferior vena cava caval index is a poor predictor of fluid responsiveness in emergency department patients*, EMA - Emergency Medicine Australasia **24** (2012), no. 5, 534–539.
- [6] Daniel De Backer and Jean Louis Vincent, *Should we measure the central venous pressure to guide fluid management? Ten answers to 10 questions*, Critical Care **22** (2018), no. 1, 1–6.
- [7] Robert Felix, Bernard Sigel, Karl Amatneek, and Chrablow Marshall, *Venous pulse propagation velocity in hemorrhage*, Arch Surg **102** (1971), 53–56.

- 
- [8] Shamsi Ghaffari, Majid Malaki, Mohammad Reza Ghaffari, and Kamran Asiaie, *Inferior vena cava index in edematous patients.*, Journal of cardiovascular and thoracic research **4** (2012), no. 3, 69–71.
- [9] Laurent Guerin, Xavier Monnet, and Jean Louis Teboul, *Monitoring volume and fluid responsiveness: From static to dynamic indicators*, Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology **27** (2013), no. 2, 177–185.
- [10] John E Hall and Arthur C Guyton, *Fisiologia medica*, Edizioni Edra, 2017.
- [11] William R. Henderson, Donald E.G. Griesdale, Keith R. Walley, and A. William Sheel, *Clinical review: Guyton - the role of mean circulatory filling pressure and right atrial pressure in controlling cardiac output*, Critical Care **14** (2010), no. 6.
- [12] Julien Jabot, Jean Louis Teboul, Christian Richard, and Xavier Monnet, *Passive leg raising for predicting fluid responsiveness: Importance of the postural change*, Intensive Care Medicine **35** (2009), no. 1, 85–90.
- [13] Jos R.C. Jansen, Jacinta J. Maas, and Michael R. Pinsky, *Bedside assessment of mean systemic filling pressure*, Current Opinion in Critical Care **16** (2010), no. 3, 231–236.
- [14] Karim Lakhal, Stephan Ehrmann, Isabelle Runge, Dalila Benzekri-Lefèvre, Annick Legras, Pierre François Dequin, Emmanuelle Mercier, Michel Wolff, Bernard Régnier, and Thierry Boulain, *Central venous pressure measurements improve the accuracy of leg raising-induced change in pulse pressure to predict fluid responsiveness*, Intensive Care Medicine **36** (2010), no. 6, 940–948.
- [15] Matthieu Legrand, Sabri Soussi, and François Depret, *Cardiac output and CVP monitoring... to guide fluid removal*, Critical Care **22** (2018), no. 1, 1–2.

- 
- [16] J Lujan Varas, C Martínez Díaz, R Blancas, O Martínez Gonzalez, B Llorente Ruiz, R Molina Montero, C Arenillas Juanas, A Pardo, L Alcázar Sánchez-Elvira, and JA Cambronero Galache, *Inferior vena cava distensibility index predicting fluid responsiveness in ventilated patients*, Intensive Care Medicine Experimental **3** (2015), no. S1, 2015.
- [17] Ian F.S. Mackay, P. Van Loon, J. T. Campos, and Nydia de Jesus, *A technique for the indirect measurement of the velocity of induced venous pulsations*, American Heart Journal **73** (1967), no. 1, 17–23.
- [18] Sheldon Magder, *Central venous pressure: A useful but not so simple measurement*, Critical Care Medicine **34** (2006), no. 8, 2224–2227.
- [19] Sandrine C Millasseau, Andrew D Stewart, Sundip J Patel, Simon R Redwood, and Philip J Chowienczyk, *Evaluation of Carotid – Femoral Pulse Wave Velocity Influence of Timing Algorithm and Heart Rate*, (2005), 222–226.
- [20] Douglas L. Miller, Nadine B. Smith, Michael R. Bailey, Gregory J. Czarnota, Kullervo Hynynen, and Inder Raj S. Makin, *Overview of Therapeutic Ultrasound Applications and Safety Considerations*, Journal of Ultrasound in Medicine **31** (2012), no. 4, 623–634.
- [21] Jaak Minten, Frans Van De Werf, André E. Aubert, Hugo Kesteloot, and Hilaire De Geest, *Apparent pulse wave velocity in the canine superior vena cava*, Cardiovascular Research **17** (1983), no. 10, 627–632.
- [22] Xavier Monnet, Paul Marik, and Jean Louis Teboul, *Passive leg raising for predicting fluid responsiveness: a systematic review and meta-analysis*, Intensive Care Medicine **42** (2016), no. 12, 1935–1947.
- [23] Xavier Monnet, Paul E. Marik, and Jean Louis Teboul, *Prediction of fluid responsiveness: an update*, Annals of Intensive Care **6** (2016), no. 1, 1–11.

- 
- [24] Xavier Monnet and Jean-louis Teboul, *Assessment of volume responsiveness during mechanical ventilation: recent advances*, Critical Care **c** (2013), no. Lv.
- [25] Xavier Monnet and Jean-Louis Teboul, *Passive leg raising: five rules, not a drop of fluid!*, Critical Care **19** (2015), no. 1, 18.
- [26] Laurent Muller, Xavier Bobbia, Mehdi Toumi, Guillaume Louart, Nicolas Molinari, Benoit Ragonnet, Hervé Quintard, Marc Leone, Lana Zoric, and Jean Yves Lefrant, *Respiratory variations of inferior vena cava diameter to predict fluid responsiveness in spontaneously breathing patients with acute circulatory failure : need for a cautious use*, (2012).
- [27] J H Nippa, R H Alexander, and R Folse, *Pulse wave velocity in human veins.*, Journal of Applied Physiology **30** (1971), no. 4, 558–563.
- [28] Alan V. Oppenheim, Ronald W. Schafer, and John R. Buck, *Discrete-time signal processing*, 1998.
- [29] Luca Raffaele Mario Pastore, Silvestro Roatta, Daniela Maffiodo, Carlo De Benedictis, and Carlo Ferraresi, *Valutazione della Pulse Wave Velocity nelle vene basata sugli ultrasuoni tramite compressione indotta da dispositivi pneumatici intermittenti*, (2018).
- [30] Sidney Roston, *The venous circulation*, Bulletin of mathematical biophysics **27** (1965), 373–377.
- [31] C. F. Rothe, *Mean circulatory filling pressure: its meaning and measurement*, Journal of Applied Physiology **74** (1993), no. 2, 499–509.
- [32] Aamer Sandoo, Jet J.C.S. Veldhuijzen van Zanten, George S. Metsios, Douglas Carroll, and George D. Kitas, *The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone*, The Open Cardiovascular Medicine Journal **4** (2015), no. 1, 302–312.
- [33] G. Schillaci and G. Pucci, *La rigidità arteriosa: quali applicazioni pratiche?*, Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi (2010), 31–44.

- 
- [34] Lauralee Sherwood, *Human Physiology: From Cells to Systems*, 7th ed., 2010.
- [35] Cindy L. Stanfield, *Principles of Human Physiology*, 2011.
- [36] Jean Louis Vincent and Max Harry Weil, *Fluid challenge revisited*, *Critical Care Medicine* **34** (2006), no. 5, 1333–1337.
- [37] Chang Yang Xing, Yuan Ling Liu, Mei Ling Zhao, Rui Jing Yang, Yun You Duan, Lian Hua Zhang, Xu De Sun, Li Jun Yuan, and Tie Sheng Cao, *New Method for Noninvasive Quantification of Central Venous Pressure by Ultrasound*, *Circulation: Cardiovascular Imaging* **8** (2015), no. 5, 1–6.
- [38] Paolo Zamboni, Valentina Tavoni, Francesco Sisini, Massimo Pedriali, Erika Rimondi, Mirko Tessari, and Erica Menegatti, *Venous compliance and clinical implications*, *Veins and Lymphatics* **7** (2018), no. 2, 49–55.
- [39] Danxia Zheng, Li Tao Cheng, Zhen Zhuang, Yue Gu, Li Jun Tang, and Tao Wang, *Correlation between pulse wave velocity and fluid distribution in hemodialysis patients*, *Blood Purification* **27** (2009), no. 3, 248–252.