



POLITECNICO
MILANO 1863

SCUOLA DI INGEGNERIA INDUSTRIALE
E DELL'INFORMAZIONE

Valutazione del potenziale trombogenico di una nuova pompa centrifuga per procedure di bypass cardiopulmonare in neonatologia

TESI DI LAUREA MAGISTRALE
IN BIOMEDICAL ENGINEERING –
BIOMECHANICS AND BIOMATERIALS

Authors: **Federica Bisconti**
Silvia Colombo

Student ID: 970934
971024

Advisor: Alberto Cesare Redaelli
Co-advisor: Silvia Bozzi
Academic Year: 2020-21

Abstract

The neonatal centrifugal pumps' development represents an important challenge in the medical field, as neonatal patients require specific cardiopulmonary assistance tailored to their needs. The availability of neonatal blood pumps for cardiopulmonary bypass procedures is still very limited. This is due to the complexity of the design and production of these pumps, which require a high level of precision and reliability to ensure patient's safety. Additionally, the lower frequency of neonatal and pediatric cardiovascular interventions compared to adults makes it less convenient for manufacturing companies to invest in the research and development of this type of pumps. For this reason, the use of adult pumps in neonatal patients is preferred, however, they require a larger priming volume and may cause an increased risk of clinically significant adverse events such as the formation of clots and thrombi. In this contest Eurosets has developed a new born levitating centrifugal pump. This study aims to characterize the new neonatal pump through fluid dynamic simulations, evaluating three different operating configurations, namely NB_PL1 (2500 rpm and 0.5 l/min), NB_PL2 (3000 rpm and 2 l/min), NB_PL3 (3500 rpm and 1 l/min). In addition, assuming the same working point and equal usage time, the performance of the new pump and the Eurosets' adult pump is compared. In particular, the thrombogenic potential of the neonatal and adult pumps is evaluated using the Platelets Activation State (PAS) index through the particle tracking approach. The results show that the pump's rotation speed plays a predominant role. In fact, the calculated fluid dynamic quantities, e. g. wall shear stress and scalar stress, and the PAS index, are higher in NB_PL3. On the other hand, the higher rotation speed allows for better blood recirculation inside the pump, thus reducing stagnation zones. Up to 0.4 s of usage, the comparison between the neonatal and adult pump shows that the use of the neonatal pump produces a higher platelet activation. This is due to the higher scalar stresses produced by the fluid flow through a smaller volume. Although the adult pump seems to be preferred, the larger volume entails more stagnation zones and a higher residence time of platelets inside the device, which could lead to an increase in platelet activation levels. Therefore, it is important to continue monitoring PAS values over time to evaluate the impact that residence time has on platelet activation inside the device.

Finally, to evaluate the thrombogenic potential of the neonatal pump an experimental setup is created for the PAS assay procedure. The set-up includes two flow-loops to compare the new born Eurosets and PediVas Abbott pumps, the latter

widely used nowadays. The flow-loop is designed to minimize priming volume in order to use a smaller amount of blood and platelets. In fact, the after load is given by small tubes with a diameter of 3,5 mm. Also, the correct length of the tubes is determined by a preliminary test, to achieve the ΔP value of the chosen working point ($Q = 1$ l/min, $\Delta P = 250$ mmHg). The circuit provides a system for the insertion and withdrawal of platelet samples to perform the PAS assay. Furthermore, to ensure the precision and reliability of the data, a careful procedure for bubble removal is performed. Two pressure gauges and a flow meter are used to constantly monitor the pressure across the pump and the flow rate output. Finally, the circuit is easy to handle and use, thanks to the simplicity of its components.

In conclusion, this study has provided important information on Eurosets' new born levitating centrifugal pump, with the aim of improving the design and development of such pumps to enhance the healthcare quality of neonatal patients.

Key-words: Levitating centrifugal pump, neonatal patients, extracorporeal circulation, platelet activation, thrombogenicity, computational fluid dynamics.

Abstract in italiano

La progettazione di pompe centrifughe neonatali rappresenta una sfida importante in campo medico, poiché i pazienti neonatali necessitano di un'assistenza cardiopolmonare specifica e adattata alle loro esigenze. La disponibilità di pompe per il sangue neonatali per procedure di bypass cardio-polmonare è ancora molto limitata. Ciò è dovuto alla complessità della progettazione e della produzione di queste pompe, che richiedono un elevato livello di precisione e affidabilità per garantire la sicurezza del paziente. Inoltre, la bassa frequenza di interventi cardiovascolari neonatali e pediatrici rispetto a quelli adulti rende meno conveniente per le aziende produttrici investire nella ricerca e sviluppo di questa tipologia di pompe. Per tale motivo, si predilige l'utilizzo di pompe per adulti che richiedono, tuttavia, un maggiore volume di priming e possono causare un aumento del rischio di eventi avversi clinicamente significativi come la formazione di coaguli e trombi.

Con l'obiettivo di fornire una soluzione efficace a tale sfida, l'azienda Eurosets ha sviluppato una nuova pompa centrifuga neonatale a levitazione magnetica. Questo studio ha lo scopo di caratterizzare la nuova pompa neonatale attraverso simulazioni fluidodinamiche, valutando tre diverse configurazioni operative, NB_PL1 (2500 rpm e 0,5 l/min), NB_PL2 (3000 rpm e 2 l/min), NB_PL3 (3500 rpm e 1 l/min), e di confrontare le prestazioni della nuova pompa con quelle della pompa adulta di Eurosets, per uno stesso punto di lavoro e a parità tempo di utilizzo. In particolare, viene valutato il potenziale trombogenico della pompa neonatale e adulta utilizzando l'indice Platelets Activation State (PAS) tramite l'approccio del particle tracking. I risultati dimostrano che la velocità di rotazione della pompa gioca un ruolo predominante; infatti, le grandezze fluidodinamiche calcolate, come Wall Shear Stress (WSS) e Scalar Stress (SS), e l'indice PAS risultano essere maggiori in NB_PL3. D'altro canto, la velocità di rotazione più elevata permette un migliore ricircolo del sangue all'interno della pompa, riducendo le zone di stagnazione. Dal confronto tra la pompa neonatale e adulta, valutando i risultati fino a 0,5 s di utilizzo, è emerso che l'uso della pompa neonatale crea una maggiore attivazione piastrinica a causa dei maggiori valori di SS, causati dal passaggio del fluido all'interno di un volume del doppio più piccolo rispetto alla pompa adulta. Sebbene i risultati estratti fino a 0,5 s di utilizzo siano a favore dell'uso della pompa adulta, il maggiore volume comporta maggiori zone di stagnazione e un più elevato tempo di residenza delle piastrine all'interno del dispositivo, che potrebbero portare a un aumento del livello di attivazione piastrinica. In definitiva, la scelta tra l'uso della

pompa neonatale o adulta per la circolazione extracorporea in pazienti neonatali basata sui i risultati a breve termine potrebbe risultare fuorviante e portare a una sottostima del potenziale trombogenico della pompa adulta.

Infine, si è progettato e realizzato un set-up sperimentale che comprende due flow-loop in parallelo per confrontare la trombogenicità della nuova pompa neonatale di Eurosets e della pompa PediVas di Abbott, la pompa pediatrica più diffusa e utilizzata oggi. Il circuito viene realizzato con l'obiettivo di minimizzare il volume di priming, in modo da utilizzare una minore quantità di sangue per effettuare il test su entrambi i circuiti, disponendo comunque di un numero adeguato di piastrine. Per questo si sceglie di utilizzare come post carico dei tubi dal diametro di 3,5 mm e lunghezza 217 cm, correttamente dimensionati in modo da restituire il ΔP richiesto dal punto di lavoro scelto ($Q = 1$ l/min, $\Delta P = 250$ mmHg). Il circuito viene progettato per effettuare il PAS assay, quindi viene realizzato un sistema per l'inserimento e il prelievo dei campioni piastrinici durante l'esperimento. Inoltre, per la precisione e l'affidabilità dei dati, viene effettuata una procedura attenta di rimozione delle bolle all'interno dei flow-loop e, per monitorare costantemente la pressione a cavallo della pompa e il flusso in uscita, vengono inseriti due manometri e un flussimetro come strumenti di controllo. Infine, per la semplicità dei componenti che lo costituiscono, il circuito risulta maneggevole e facile da utilizzare, garantendo un maggiore controllo.

In conclusione, lo studio fornisce importanti informazioni sulla nuova pompa neonatale a levitazione magnetica di Eurosets, e permette di ampliare le conoscenze riguardo la progettazione e lo sviluppo di questa tipologia di pompe, con l'obiettivo di migliorare la qualità dell'assistenza sanitaria della popolazione neonatale.

Parole chiave: Pompa centrifuga a levitazione magnetica, pazienti neonatali, circolazione extracorporea, attivazione piastrinica, trombogenicità, simulazioni CFD.

Indice

Abstract	<i>i</i>
Abstract in italiano	<i>iii</i>
Indice	<i>v</i>
Lista di figure	<i>vii</i>
Lista delle tabelle	<i>xi</i>
Lista delle abbreviazioni	<i>xii</i>
Introduzione	<i>1</i>
1 Background	<i>2</i>
1.1. Patologie cardiache e utilizzo di circolazione extracorporea	<i>2</i>
1.2. Bypass cardiopolmonare ed ECMO	<i>4</i>
1.3. Tipologie di pompe	<i>6</i>
1.4. Trombogenicità	<i>8</i>
1.5. Attivazione piastrinica mediata da sforzo di taglio	<i>10</i>
1.6. Problematiche legate alle pompe pediatriche	<i>12</i>
1.7. Obiettivo della tesi	<i>13</i>
2 Stato dell'arte	<i>14</i>
2.1. Valutazione computazionale della trombogenicità	<i>14</i>
2.2. Valutazione sperimentale della trombogenicità	<i>18</i>
3 Materiali e Metodi	<i>22</i>
3.1. Studio Computazionale	<i>22</i>
3.1.1. Geometria del dominio fluidodinamico	<i>22</i>
Semplificazione della geometria	<i>22</i>
3.1.2. Mesh	<i>26</i>
3.1.3. Simulazione fluidodinamica	<i>31</i>
3.1.4. Stima dell'attivazione piastrinica	<i>33</i>
3.2. Studio sperimentale	<i>37</i>
3.2.1. PAS assay	<i>37</i>
3.2.2. Set-up sperimentale per il dimensionamento del post carico	<i>43</i>
3.2.3. Set-up sperimentale per il test del PAS assay	<i>45</i>
4 Risultati	<i>49</i>

4.1.	Studio Computazionale	49
4.1.1.	Analisi fluidodinamica	49
4.1.2.	Analisi dell'attivazione piastrinica	61
4.2.	Studio sperimentale	68
4.2.1.	Dimensionamento del post-carico	68
4.2.2.	Set-up sperimentale per il test del PAS assay	69
5	Discussione	72
6	Conclusione	75
	Bibliografia	77

Lista di figure

<i>Figura 1: Circuito di circolazione extracorporea</i>	3
<i>Figura 2: Circuito ECMO</i>	5
<i>Figura 3: Pompa roller</i>	6
<i>Figura 4: Pompa centrifuga</i>	7
<i>Figura 5: Pompa centrifuga a levitazione magnetica</i>	7
<i>Figura 6: Pompa centrifuga a vortice vincolato (A) e pompa centrifuga a levitazione magnetica (B)</i>	8
<i>Figura 7: Piastrine quiescenti (a sinistra) e piastrine attivate (a destra)</i>	9
<i>Figura 8: Cascata di coagulazione</i>	10
<i>Figura 9: Andamento sperimentale del valore di PAS nel tempo di due storie di carico differenti (Original A e Original B) e delle curve ricavate dalla loro scomposizione in frequenze (Low, Medium e High Frequency) e del campione di controllo (NC)</i>	12
<i>Figura 10: Geometria pompa adulta 6 pale (in alto a destra) e 12 pale (in basso a destra)</i>	15
<i>Figura 11: valori di PAS per la pompa a 6 e 12 pale</i>	16
<i>Figura 12: Frazione di piastrine in funzione del PAS: CentriMag in modalità adulta (sinistra), in modalità bambino (centro) e PediVas in modalità bambino (destra)</i>	17
<i>Figura 13: Campo di moto di CentriMag in modalità adulto (sinistra), in modalità bambino (centro) e PediVas in modalità bambino (destra)</i>	17
<i>Figura 14: Design della pompa V1 (sinistra) e V2 (destra)</i>	18
<i>Figura 15: Configurazione del circuito utilizzato nello studio sperimentale di Sobieski et al</i>	19
<i>Figura 16: Circuito ECMO per la valutazione fluidodinamica di CentriMag, Rotaflow e PediVas</i>	19
<i>Figura 17: configurazione del circuito utilizzato per il test sperimentale nello studio di Consolo et al</i>	21
<i>Figura 18: Componenti interne della girante: magneti (in rosa), guarnizione (in verde), tappo della girante (in viola)</i>	23
<i>Figura 19: Geometria e componenti della pompa neonatale</i>	23
<i>Figura 20: Geometria semplificata: Case (viola) e Girante (beige)</i>	24

Figura 21: Rappresentazione del solido per la creazione del dominio fluido (in verde).	25
Figura 22: Suddivisione del dominio fluido in rotore (verde) e statore (viola)	26
Figura 23: Dettaglio della mesh: A) Fondello e laterale statore. B) Fondello e laterale rotore.	27
Figura 24: Mesh dell'impeller con infittimento nella zona centrale in prossimità dell'estremità delle pale.	27
Figura 25: Lunghezza caratteristica del dispositivo per il calcolo del numero di Reynolds. ..	28
Figura 26: Curve prevalenza-portata fornite dall'azienda.	31
Figura 27: Curve prevalenza-portata per la pompa adulta fornite dall'azienda.	32
Figura 28: Pattern circolare di posizionamento delle particelle.	34
Figura 29: Rappresentazione schematica dell'estrazione del PRP.	38
Figura 30: Rappresentazione schematica dell'estrazione del GFP.	38
Figura 31: Sistema di estrazione del GFP: tre colonne riempite con gel di agarosio e tre pompe peristaltiche.	39
Figura 32: Rifrattometro 101 ATC di Sper Scientific.	39
Figura 33: Coulter Particle Counter.	40
Figura 34: Sonicatore a sonda.	42
Figura 35: Elementi del circuito realizzato per il dimensionamento dei tubi di post carico. ..	44
Figura 36: Rappresentazione schematica del circuito per il riempimento e rimozione delle bolle: clamp (1,2), bobina per avvolgimento post carico (3), siringa per inserimento e prelievo piastrine (4), manometro (5,7), pompa (6), siringhe per regolare la pressione (8,9), reservoir (10), console (11)	46
Figura 37: Rappresentazione reale del circuito per il riempimento e rimozione delle bolle: clamp (1,2), bobina per avvolgimento post carico (3), siringa di inserimento e prelievo piastrine (4), manometro (5,7), pompa (6), siringhe per regolare la pressione (8,9), reservoir (10), console pompa(11)	47
Figura 38: Confronto tra l'andamento del ΔP computazionale e il valore sperimentale nei primi quattro giri in NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).	50
Figura 39: Confronto tra l'andamento del ΔP computazionale e il valore sperimentale nei primi quattro giri in A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).	51
Figura 40: Vettori di velocità nel piano ZY ($x=0$ mm) che mostrano il flusso secondario generato dalla presenza del washout hole.	52

Figura 41: Campo di velocità (in alto) e campo di pressione (in basso) nel piano ZY ($x=0$ mm): (A, D) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B, E) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C, F) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	53
Figura 42: Vettori di velocità nel piano ZX ($y=0.0065$ mm): (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	53
Figura 43: Campo di velocità (in alto) e campo di pressione (in basso) nel piano ZY ($x=0$ mm): confronto tra (A, C) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e (B, D) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).	54
Figura 44: Zone di stagnazione con velocità $< 0,5$ m/s: (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	55
Figura 45: Zone di stagnazione: confronto tra (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e (B) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).....	56
Figura 46: WSS rotore: (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	57
Figura 47: WSS statore (in alto) e WSS zona inferiore statore (in basso): (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C.1, C.2) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	57
Figura 48: WSS rotore (in alto) e WSS statore (in basso): confronto tra (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).....	58
Figura 49: Zone di flusso del rotore (in alto) e dello statore (in basso) con WSS > 100 Pa: (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C.1, C.2) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	59
Figura 50: WSS > 100 Pa rotore (in alto) e WSS statore (in basso): confronto tra (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).....	59
Figura 51: Zone con SS > 50 Pa: (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	60
Figura 52: Zone con SS > 50 Pa: confronto tra (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e (B) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).....	60
Figura 53: Andamento del PAS nel tempo per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	62
Figura 54: Distribuzione del PAS (in alto) e media, mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	63
Figura 55: Distribuzione dello SA (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	63

Figura 56: Distribuzione dello SR (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	64
Figura 57: Distribuzione del tempo di residenza (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).....	64
Figura 58: Andamento del PAS nel tempo per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).	65
Figura 59: Distribuzione del PAS (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min).....	66
Figura 60: Distribuzione di SA (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min)	66
Figura 61: Distribuzione di SR (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min).	67
Figura 62: Distribuzione del tempo di residenza delle particelle uscite (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min).	67
Figura 63: Andamento del ΔP a cavallo dei tubi di post-carico calcolato sperimentalmente (in verde), escludendo il contributo di perdita di carico concentrata del connettore ΔP_c (in rosso) e l'andamento del ΔP analitico (in giallo).	68
Figura 64: Rappresentazione schematica del circuito per PAS assay: pompa (1), flussimetro (2), manometro (3,8), siringa per il prelievo e l'estrazione delle piastrine (4), bobina per avvolgimento post carico (5), siringa per rimozione delle bolle (6), siringa per controllare la pressione (7), console (9).	70
Figura 65: Circuito per PAS assay: pompa (1), flussimetro (2), manometro (3,8), siringa per il prelievo e l'estrazione delle piastrine (4), bobina per avvolgimento post carico (5), siringa per rimozione delle bolle (6), siringa per controllare la pressione (7), console (9).	70

Lista delle tabelle

Tabella 1: Condizioni operative di simulazione per la PediVas e la CentriMag.....	16
Tabella 2: Condizioni operative e dimensioni delle cannule nei test riprodotti da Shigang Wang et al	20
Tabella 3: parametri di simulazione per NB_PL1, NB_PL2, NB_PL3, A_PL1	33
Tabella 4: Costanti di Soares e Consolo.....	36
Tabella 5: Equazioni per la determinazione del volume del campione finale.	41
Tabella 6: Condizioni operative per il test sperimentale per New Born e PediVas.....	43
Tabella 7: Parametri di qualità della mesh.	49
Tabella 8: Confronto tra il ΔP medio computazionale e il ΔP medio sperimentale nei tre punti di lavoro della pompa neonatale.	51
Tabella 9: Indici per la valutazione quantitativa dei risultati fluidodinamici nei punti di lavoro simulati.....	61
Tabella 10: Risultati ottenuti dal test preliminare per il dimensionamento del post-carico. .	69
Tabella 11: Lunghezze e diametri dei tubi del circuito finale.....	69

Lista delle abbreviazioni

A_PL1	Punto di Lavoro 1 pompa Adulta
BCP	Bypass Cardio-Polmonare
CEC	Circolazione Extracorporea
ECMO	Ossigenazione Extracorporea a Membrana
GFP	Gel Filtered Platelets
NB_PL1	Punto di Lavoro 1 pompa New Born
NB_PL2	Punto di Lavoro 2 pompa New Born
NB_PL3	Punto di Lavoro 3 pompa New Born
PAS	Platelets Activation State
PB	Platelet Buffer
PRP	Platelets Rich Plasma
SA	Stress Accumulation
SAz	Sodio Azide
SR	Shear Rate
SS	Scalar Stress
WSS	Wall Shear Rate

Introduzione

Le malattie cardiache costituiscono una delle maggiori sfide nella pratica clinica pediatrica, e la loro prevalenza è in costante crescita. Il trattamento delle patologie cardiache che colpiscono pazienti pediatrici e neonatali spesso richiede interventi chirurgici complessi e invasivi, che possono aumentare il rischio di complicazioni.

L'uso di dispositivi di circolazione extracorporea (CEC) è diventato sempre più diffuso per fornire supporto cardiopolmonare a breve termine ai neonati affetti da patologie cardiache congenite. La CEC neonatale consente di migliorare la perfusione tissutale, ridurre il carico di lavoro del cuore e dei polmoni, e fornire tempo sufficiente per il recupero post-operatorio. Tuttavia, il sangue esposto a condizioni non fisiologiche e a contatto con superfici artificiali, come pompe centrifughe e ossigenatore, principali componenti della CEC, può favorire l'attivazione piastrinica e la coagulazione. Per questo motivo, la riduzione della trombogenicità dei dispositivi medici rappresenta un obiettivo importante per migliorare lo stato di salute dei pazienti pediatrici e neonatali al fine ridurre la necessità di terapie anticoagulanti. La progettazione delle pompe sanguigne utilizzate nella CEC neonatale deve, quindi, essere altamente sofisticata per garantire una funzionalità sicura ed efficace, minimizzando al contempo il danno cellulare.

In questo contesto, la combinazione di approcci di tipo computazionale (in silico) e metodiche sperimentali (in vitro) permette di valutare in modo efficace le prestazioni delle pompe per il sangue utilizzate in CEC neonatale, identificando le zone ad alti stress meccanici e le zone a maggior rischio di formazione di coaguli all'interno del dispositivo, al fine di ottimizzare il design, migliorando la loro sicurezza ed efficacia.

Lo scopo del presente studio è sfruttare questi due approcci al fine di valutare e caratterizzare una nuova pompa centrifuga per circolazione extracorporea in neonatologia, per evidenziarne i punti di forza e di debolezza.

1 Background

1.1. Patologie cardiache e utilizzo di circolazione extracorporea

Le malattie cardiovascolari costituiscono ancora oggi uno dei problemi più rilevanti per la salute pubblica: esse rientrano tra le principali cause di morbosità, invalidità e mortalità. Secondo i dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) del 2021, continuano ad essere la principale causa di morte a livello mondiale, rappresentando il 31% di tutte le morti nel mondo. In particolare, sono responsabili di oltre 17,9 milioni di decessi all'anno [1].

Le patologie cardiovascolari possono colpire anche i neonati, i bambini e gli adolescenti, e spesso richiedono cure mediche intensive e/o interventi chirurgici. Le più comuni nei pazienti pediatrici includono i difetti cardiaci congeniti, la cardiomiopatia, l'aritmia, la stenosi aortica, la stenosi polmonare e la malattia coronarica acquisita. Secondo i dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), le anomalie cardiache congenite sono la forma più diffusa di patologia cardiaca pediatrica, colpendo circa 1 su 100 neonati a livello globale [2]. Ciò significa che ogni anno circa 1,35 milioni di neonati nati vivi nel mondo hanno una forma di malformazione cardiaca congenita. Queste patologie possono essere di origine ereditaria, derivare da infezioni contratte durante la gravidanza o da fattori ambientali come l'esposizione a sostanze tossiche. Secondo i dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità le malattie cardiache congenite sono responsabili di circa il 6% della mortalità infantile a livello globale e secondo l'American Heart Association rappresentano la causa più comune di morte legata alle malformazioni congenite nei neonati [2] [3]. Un'altra patologia particolarmente diffusa in campo pediatrico è la cardiomiopatia, malattia che provoca l'indebolimento del miocardio e una conseguente insufficienza cardiaca. Esistono diverse forme di cardiomiopatia, tra cui la cardiomiopatia dilatativa, in cui il cuore si dilata eccessivamente, perdendo la capacità contrattile. Questa è caratterizzata da una rapida evoluzione ed elevata mortalità e costituisce la principale causa di trapianto cardiaco in bambini oltre il primo anno di età. Un'altra forma di cardiomiopatia è quella ipertrofica, in cui si verifica un ispessimento del muscolo cardiaco e successivo irrigidimento che causano, anche in questo caso, una riduzione della capacità contrattile. Si verifica maggiormente nei bambini e negli adolescenti e la principale problematica è rappresentata dall'incapacità di prevedere il rischio di arresto cardiaco e la conseguente morte improvvisa. I pazienti soggetti a queste patologie vengono sottoposti a interventi chirurgici per correggere l'anomalia o, nei casi più gravi, per sostituire l'intero organo tramite trapianto di cuore. Questi interventi sono molto invasivi, complessi e ad essi sono associati molteplici fattori che possono mettere a rischio la salute del paziente. Gli approcci e le tecniche cardiocirurgiche negli ultimi anni hanno avuto un'evoluzione molto importante e ciò è stato reso possibile grazie alla crescita parallela delle tecniche ed applicazioni della circolazione extracorporea (CEC). Il

circuito di circolazione extracorporea viene utilizzato durante gli interventi chirurgici per bypassare l'azione del cuore e la ventilazione dei polmoni, garantendo così una corretta perfusione degli organi e permettendo ai chirurghi di operare sul cuore o sui polmoni in condizioni di sicurezza. La circolazione extracorporea o macchina cuore-polmone è stata introdotta per la prima volta nel 1953 da John Heysham Gibbon ed oggi è imprescindibile per la quasi totalità degli interventi cardiocirurgici. Intorno agli anni '70 e '80 è stata sviluppata la CEC pediatrica, utilizzata per la prima volta dal Dottore Robert Bartlett nel 1975 per salvare la vita di un neonato con sindrome da aspirazione di meconio durante la nascita [4]. Questo successo ha portato la diffusione di CEC pediatrica in tutto il mondo.

La macchina cuore-polmone (**Fig.1**) presenta quattro pompe:

- la pompa principale, che garantisce una circolazione continua del sangue nel circuito;
- la pompa di cardioplegia, per somministrare la soluzione di cardioplegia, che permette di arrestare temporaneamente il cuore e proteggerlo durante l'intervento chirurgico;
- la pompa Vent, che viene utilizzata per rimuovere il sangue dal ventricolo sinistro e per garantire che il cuore sia completamente vuoto durante l'intervento;
- la pompa di aspirazione, per rimuovere sangue, altri fluidi, coaguli e detriti dal sito chirurgico per garantire una maggiore visibilità e precisione durante l'intervento.

Per collegare la circolazione del paziente al circuito della CEC si utilizzano delle cannule. Il sangue venoso viene incanalato verso la macchina cuore-polmone grazie all'utilizzo di una cannula venosa, la quale può essere posizionata in diverse sedi, chiamati siti di

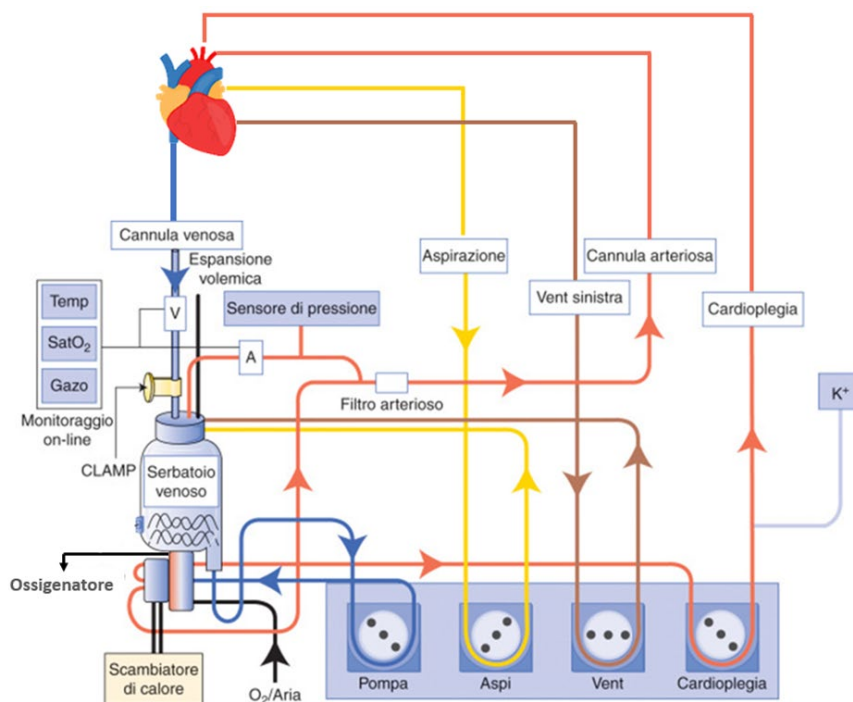


Figura 1: Circuito di circolazione extracorporea.

cannulazione venosa. Una volta drenato, viene immagazzinato in un reservoir dotato di filtri di sicurezza, che impediscono la presenza di aria e detriti all'interno del circuito. Da qui, il sangue viene inoltrato ad un ossigenatore, che funge da polmone artificiale. Gli ossigenatori più utilizzati sono quelli a membrana, costituiti da una membrana semipermeabile, che separa il sangue dall'aria, promuovendo gli scambi gassosi e riducendo al minimo il rischio di micro-emboli. La maggior parte degli ossigenatori incorpora uno scambiatore di calore che permette al sangue di mantenere la temperatura corporea. Prima di tornare nella circolazione del paziente, il sangue passa attraverso un filtro arterioso per evitare l'embolizzazione di microaggregati. La cannula arteriosa reimmetterà, infine, il sangue al paziente da diverse sedi a seconda dell'intervento chirurgico e delle necessità del paziente.

1.2. Bypass cardiopolmonare ed ECMO

I dispositivi medici più diffusi che sfruttano la circolazione extracorporea per fornire supporto cardiorespiratorio ai pazienti sono il bypass cardiopolmonare (BCP) e l'ossigenazione extracorporea a membrana (ECMO). Il BCP viene utilizzato durante interventi chirurgici a cuore aperto, in cui il cuore del paziente viene fermato e la circolazione sanguigna viene deviata attraverso un circuito esterno, come descritto nel paragrafo precedente. L'ECMO, invece, viene utilizzato principalmente come assistenza preoperatoria per pazienti con insufficienza cardiaca o polmonare grave, oppure come ausilio post-operatorio per alleggerire il carico sul cuore e sui polmoni dopo l'intervento o come terapia-ponte al trapianto. Il circuito dell'ECMO è simile ma non uguale a quello del BCP, in quanto non viene utilizzato durante gli interventi a cuore aperto, ma la sua principale funzione è quella di sostituire temporaneamente la funzione del cuore e dei polmoni, fornendo sangue ossigenato a tutti i tessuti. Infatti, non sono presenti le quattro pompe, ma solo quella principale ed è un sistema più piccolo e trasportabile [5]. Inoltre, nell'ECMO il sangue viene ossigenato utilizzando ossigeno puro, mentre nel BCP avviene attraverso il contatto con una miscela di aria e ossigeno. Quest'ultimo diffonde attraverso la membrana dell'ossigenatore e si lega alle molecole di emoglobina nel sangue, fornendo così ossigeno ai tessuti del corpo [6]. In **Fig.2** è rappresentato in maniera schematica il circuito. A differenza di quanto avviene durante gli interventi cardiaci con il bypass cardiopolmonare, che consente l'assistenza per alcune ore, i pazienti in ECMO possono essere assistiti per un periodo di tempo che va da alcuni giorni fino a diverse settimane. L'ECMO è una delle principali tecnologie utilizzate per fornire supporto cardiaco e polmonare nei soggetti pediatrici e neonatali sottoposti a intervento chirurgico per la correzione di malformazioni cardiache congenite, per consentire il recupero della funzione. L'ECMO pediatrico viene utilizzato nella fascia di età che va da 0 a 18 anni, mentre l'ECMO per adulti viene utilizzato per pazienti con età superiore. Ciò significa che l'ECMO pediatrico deve essere progettato e configurato per soddisfare le esigenze specifiche di pazienti pediatrici e neonatali, il cui peso e le dimensioni del corpo sono molto diverse da quelli degli adulti. Infatti, i componenti del circuito ECMO pediatrico sono più piccoli e leggeri rispetto a quelli dell'ECMO per adulti. In particolare:

1. Le cannule possono avere un diametro di 8-12 fr per i pazienti neonati e di 14-18 fr per i bambini, mentre le cannule per adulti possono avere un diametro di 18-28 fr.
 2. La membrana di ossigenazione può avere una lunghezza di 15-25 cm e una larghezza di 5-10 cm, mentre quella per adulti può avere una lunghezza di 35-50 cm e una larghezza di 10-20 cm.
 3. La pompa può avere un flusso di 0,2-1,5 l/min e pesare circa 1-2 kg, mentre quella per adulti può avere un flusso di 2-8 l/min e pesare circa 5-10 kg.
 4. Il reservoir può contenere 250-500 ml di sangue e 500-1000 ml di soluzione, mentre quello per adulti può contenere 1000-2000 ml di sangue e 2000-4000 ml di soluzione.
- [6] [7]

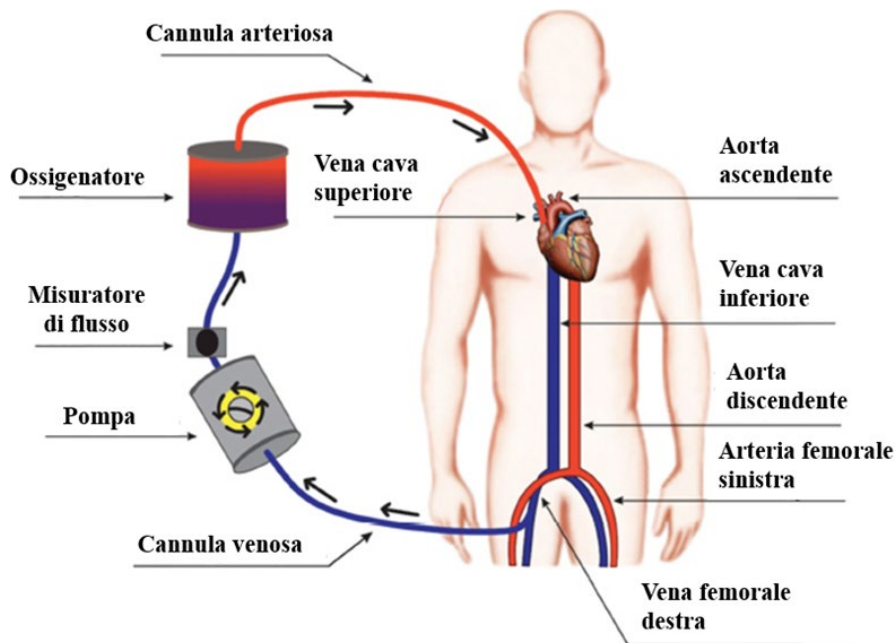


Figura 2: Circuito ECMO.

Per garantire la sicurezza e l'efficacia, il circuito di ECMO pediatrico deve possedere alcuni requisiti specifici:

- Essere realizzato con **materiali non tossici** e biocompatibili;
- Avere una **bassa resistenza** per garantire il flusso di sangue attraverso il circuito e ridurre la necessità di alte pressioni per mantenere il flusso sanguigno. Questo può essere ottenuto utilizzando tubi di diametro adeguato e minimizzando le curve del tubo;
- Avere la strumentazione adeguata a **monitorare** il flusso di sangue attraverso il circuito, la pressione sanguigna, la saturazione di ossigeno e altri parametri clinici;
- Garantire un'**ossigenazione adeguata** del sangue del paziente;
- Deve possedere un sistema di riscaldamento o raffreddamento in grado di **controllare la temperatura** del sangue per evitare ipotermia o ipertermia;
- Essere **sterile** per evitare infezioni e altre complicanze;

- Minimizzare il rischio di coagulazione, embolia ed emolisi. [8] [9] [10]

1.3. Tipologie di pompe

La pompa è uno dei componenti principali della CEC poiché è in grado di generare una pressione tale da garantire la circolazione del sangue nel circuito. Le due tipologie di pompa utilizzate principalmente in circuiti di circolazione extracorporea sono:

- pompa roller
- pompa centrifuga

Entrambe sono a flusso continuo, contrariamente al cuore che è una pompa pulsatile. La pompa roller è una pompa occlusiva, in quanto il passaggio del sangue è causato dalla compressione del tubo, generata dalla rotazione dei rulli del rotore, come mostrato in **Fig.3**.

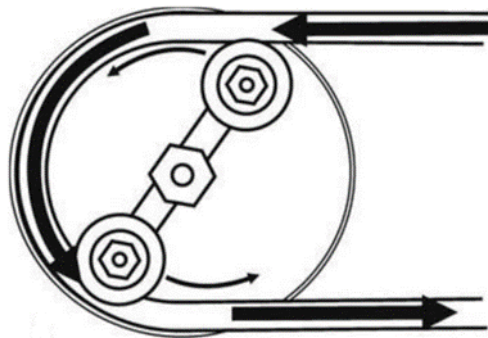


Figura 3: Pompa roller.

La caratteristica principale della pompa roller, essendo di tipo volumetrico, è la sua capacità di mantenere una portata costante indipendentemente dal carico idraulico a valle, grazie alla sua struttura meccanica. Ciò significa che, con un motore sufficientemente potente, la portata dipende solo dal volume di sangue spinto e dal numero di giri. Infatti, il motore è solitamente sovradimensionato per garantire le prestazioni desiderate. La pompa roller viene usata principalmente nel circuito del bypass cardiopolmonare. Il design, infatti, permette un utilizzo e una manutenzione semplice, poiché il tubo della pompa può essere facilmente sostituito durante l'intervento chirurgico senza la necessità di smontaggio. La pompa centrifuga, mostrata in **Fig.4**, è una pompa non occlusiva e utilizza la forza centrifuga generata dalla rotazione del rotore per spingere il sangue all'interno del circuito. Il rotore è composto principalmente dalla girante, costituita da pale che permettono l'avanzamento del sangue, e dal mozzo, che si connette all'albero motore e trasferisce il movimento rotatorio. Al contrario della pompa roller, nella pompa centrifuga la portata varia in base al carico idraulico a valle, a parità di velocità di rotazione. Con l'introduzione dei sistemi di circolazione extracorporea, come bypass cardio-polmonare ed ECMO, le prime pompe ad essere state utilizzate sono le pompe roller, per la loro capacità di fornire una portata di sangue precisa e costante.

Tuttavia, le più utilizzate oggi sono le pompe centrifughe, specialmente in circuiti di ECMO, in quanto è stato dimostrato essere più affidabili delle pompe roller, in termini di emolisi, attivazione piastrinica e formazione di bolle gassose [11] [12] [13]. In particolare,

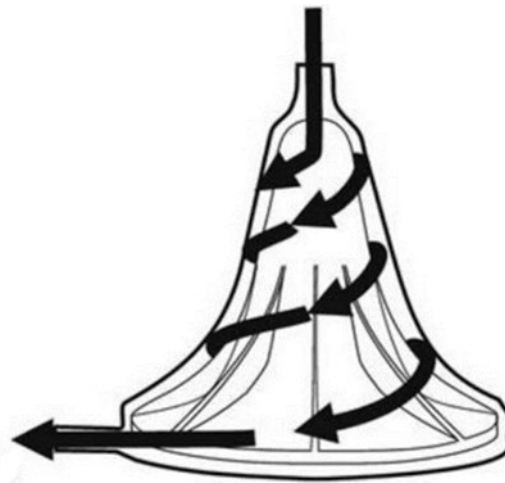


Figura 4: Pompa centrifuga.

le pompe centrifughe di ultima generazione utilizzano la levitazione magnetica per sospendere il rotore al centro della pompa senza alcun contatto meccanico (**Fig.5**). Infatti, non è l'albero motore a trasmettere il movimento alla girante, ma due magneti permanenti, uno interno e uno esterno, che vengono messi in movimento dall'interazione magnetica tra di essi. A differenza delle classiche pompe centrifughe a vortice vincolato, le pompe centrifughe a levitazione magnetica eliminano l'attrito tra le componenti mobili della pompa e riducono gli sforzi di taglio a cui sono particolarmente sensibili i globuli rossi, minimizzando il rischio di emolisi [14] [15].

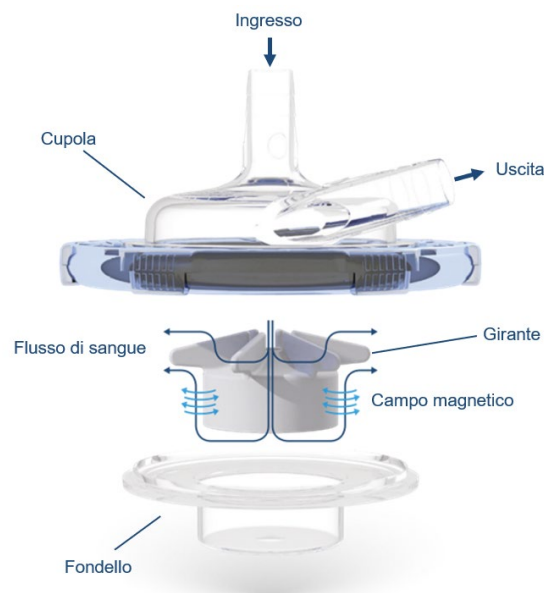


Figura 5: Pompa centrifuga a levitazione

Inoltre, non essendoci continuità tra albero motore e girante, viene impedita ogni fuoriuscita di liquido verso l'esterno. In **Fig. 6** è possibile osservare il confronto tra la

struttura delle due pompe. Se la problematica dell'emolisi viene minimizzata prediligendo pompe a levitazione magnetica, un problema irrisolto legato all'utilizzo di circuiti di circolazione extracorporea è quello della trombogenicità. Infatti, il sangue, immesso all'interno di un circuito artificiale, è esposto a condizioni non fisiologiche, che promuovono l'attivazione piastrinica e la coagulazione, in particolare quando è a contatto con la pompa.

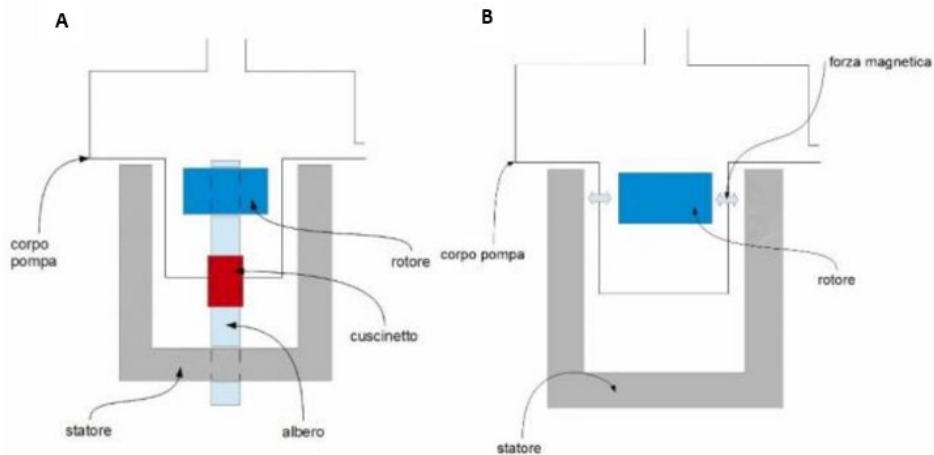


Figura 6: Pompa centrifuga a vortice vincolato (A) e pompa centrifuga a levitazione magnetica (B).

1.4. Trombogenicità

Per trombogenicità si intende la capacità del dispositivo di causare l'attivazione piastrinica e la successiva coagulazione del sangue, inducendo la formazione di trombi che possono, nei casi più gravi, trasformarsi in emboli e causare la morte del paziente. In particolare, la pompa, i tubi e i connettori sono stati individuati come i maggiori contributori alla formazione di coaguli [16]. I circuiti, infatti, espongono il sangue del paziente a condizioni non fisiologiche e a contatto con superfici artificiali che attivano le piastrine e promuovono la coagulazione. Pertanto, l'ECMO e l'BCP, richiedono protocolli rigorosi di anticoagulazione, comunemente basati sull'uso di eparina non frazionata o inibitori diretti della trombina per bilanciare il rischio di sanguinamento con quello di trombosi.

Le piastrine sono le più piccole cellule circolanti nel sangue e la loro attivazione modifica la loro forma discoidale in una forma tondeggianti (Fig.7) [17]. Le piastrine hanno un ruolo fondamentale nell'emostasi dell'organismo poiché, tramite il processo di coagulazione, contribuiscono ad un meccanismo di difesa che limita la perdita di sangue in caso di interruzione della continuità della parete vascolare dovuta a traumi o patologie [18]. La coagulazione è, quindi, un processo benefico per l'organismo se avviene in condizioni fisiologiche. Il processo di coagulazione prevede 5 fasi:

- 1) Adesione

- 2) Attivazione
- 3) Cambiamento di forma
- 4) Secrezione piastrinica
- 5) Aggregazione piastrinica

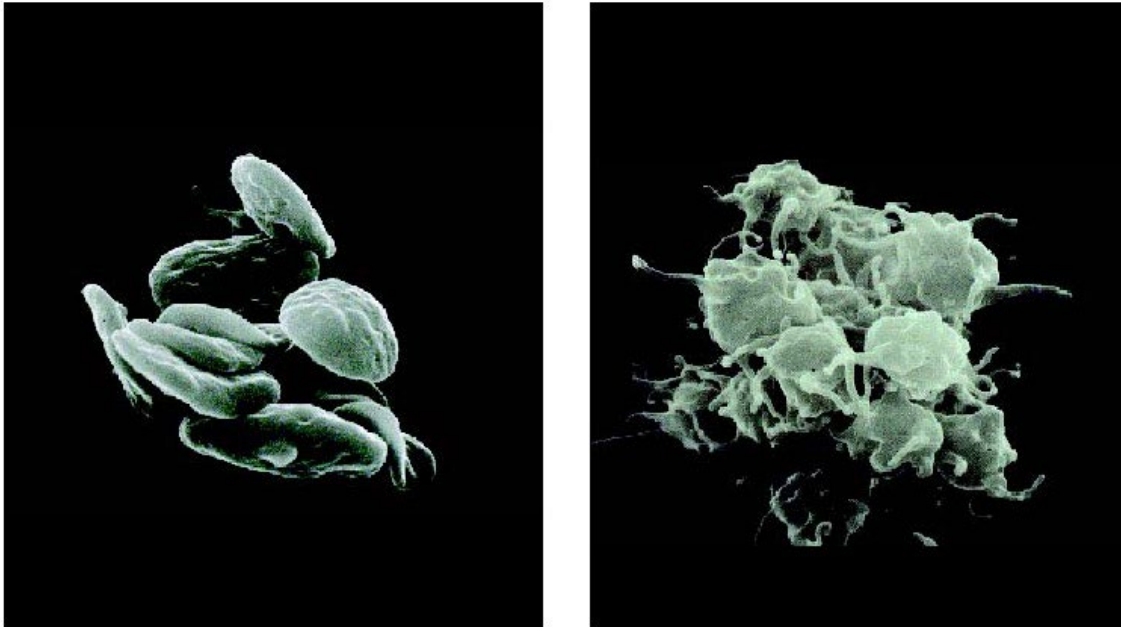


Figura 7: Piastrine quiescenti (a sinistra) e piastrine attivate (a destra).

Il processo di adesione dipende dalla presenza di integrine presenti sulla superficie delle piastrine, come l'integrina GPIa/GPIIa, che ha la capacità di legarsi al collagene. Affinché si abbia un'adesione più stabile è necessario, però, l'intervento di un complesso di adesione denominato GPIb/V/IX, formato da glicoproteine ricche di leucina. Questo ha la capacità di legare un fattore solubile, chiamato fattore di Von Willebrand, che è normalmente presente nel plasma sanguigno e costituisce un ponte tra le piastrine ed il sotto-endotelio [19]. Un ulteriore mediatore importante in questa fase è il recettore di adesione piastrinica GPVI, che legandosi al collagene attiva una serie di processi intracellulari, fondamentali per l'attivazione piastrinica e la successiva aggregazione, come l'aumento della concentrazione di calcio intracellulare [18] [20]. A seguito dell'attivazione, le piastrine cambiano forma e rilasciano mediatori chimici presenti nei loro α -granuli, come adenosina difosfato (ADP), adenosina trifosfato (ATP), serotonina e tromboxano (TXA₂), agonisti del processo di aggregazione [18]. L'aggregazione piastrinica è mediata dall'attivazione a cascata di una serie di fattori della coagulazione, che portano all'attivazione di due importanti fattori piastrinici FV e FX in FVa e FXa. Questi formano il complesso protrombinase, che permette la conversione della protrombina (FII) in trombina (FIIa). La trombina, a sua volta, catalizza la conversione del fibrinogeno in fibrina, consentendo la creazione di legami tra le piastrine adiacenti e l'endotelio sottostante, permettendo così la formazione e la crescita del trombo [17] (Fig.8). Tuttavia, anche quando non si verifica un trauma tissutale può essere indotta

l'attivazione delle piastrine in presenza di stimoli chimici e meccanici non fisiologici, che vengono identificati attraverso la triade di Virchow: la superficie di contatto, le alterazioni della composizione del sangue e le condizioni del flusso ematico [21].

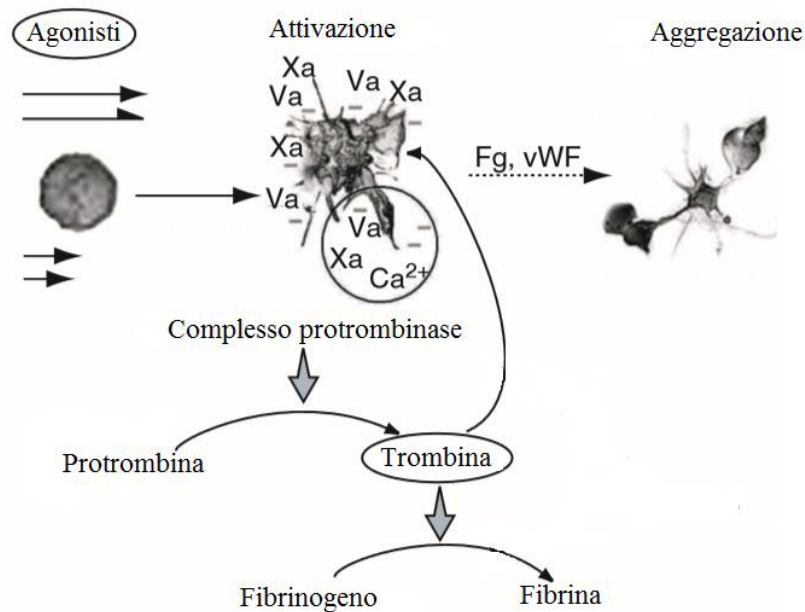


Figura 8: Cascata di coagulazione.

Il rischio trombotico associato al contatto con superfici artificiali è influenzato dalle loro proprietà chimiche e fisiche. Le superfici degli elementi del circuito, come i tubi e la pompa, possono attivare le piastrine attraverso processi di adsorbimento proteico, che possono alterare la struttura delle proteine plasmatiche e attivare i sistemi di coagulazione del sangue. Il secondo elemento della triade di Virchow è rappresentato dalle alterazioni della composizione del sangue del paziente, come l'ipercoagulazione o lo stato protrombotico. Infine, l'ultimo elemento è rappresentato dalle alterazioni locali del flusso ematico, come l'aumento o la diminuzione della velocità del flusso o l'aumento della turbolenza del sangue. I flussi non fisiologici che si generano all'interno dei dispositivi medici sono la principale causa dell'attivazione meccanica delle piastrine. Quando il sangue scorre all'interno della pompa, il flusso di sangue esercita una forza di taglio, chiamata shear stress, che può deformare le piastrine e attivarle. In vivo, il flusso fisiologico comporta livelli di sforzo di taglio variabili tra 1 e 10 dynes/cm² all'interno delle vene e tra 50 e 60 dynes/cm² nelle arterie e nelle arteriole. Sforzi di taglio che superano questi valori possono causare il distacco dei filetti fluidi del sangue e la formazione di vortici che promuovono zone di ricircolo e la conseguente attivazione piastrinica [22].

1.5. Attivazione piastrinica mediata da sforzo di taglio

Tra i fattori appartenenti alla triade di Virchow, l'alterazione del flusso ematico è quello che maggiormente determina l'effetto trombotico della pompa centrifuga nel circuito della CEC. Infatti, le pale del rotore ruotando esercitano sulle cellule del sangue uno

sforzo di taglio che supera quello fisiologico, causando l'attivazione delle piastrine. Il meccanismo biochimico alla base dell'attivazione piastrinica mediata da shear stress non è completamente compreso. Negli ultimi anni, sono state proposte due teorie che spiegano il ruolo che lo shear stress ha sul processo coagulativo. La prima è che lo sforzo di taglio aumenti l'affinità tra il fattore di von Willebrand (vWF) e i recettori sulla superficie delle piastrine, promuovendo l'adesione e l'aggregazione [23] [24]. La seconda teoria, invece, ipotizza che lo shear stress non attivi direttamente le piastrine, ma che quest'ultime vengano piuttosto attivate dagli agonisti rilasciati, principalmente ADP, conservati nei granuli intracellulari, a seguito della lisi meccanica delle cellule del sangue causata dagli sforzi di taglio.

L'attivazione piastrinica mediata da sforzo di taglio è influenzata non soltanto da agenti biochimici fisiologici, ma anche da agenti meccanici. Nello studio condotto da Hellums et al., vengono individuati due fattori responsabili dell'attivazione: l'ampiezza dello sforzo di taglio esercitato sulle piastrine e il tempo di esposizione a tale sforzo. Comunemente, queste due variabili vengono utilizzate per definire l'accumulo di stress (SA), che rappresenta l'integrale nel tempo dello sforzo di taglio applicato [25].

$$SA = \int \tau dt \quad (1.1)$$

In seguito, è stato identificato un terzo fattore che ha un impatto sull'attivazione delle piastrine soggette a shear stress. Quando si tratta di dispositivi cardiovascolari, il sangue, sottoposto ad accelerazioni e decelerazioni, subisce condizioni di flusso non fisiologiche. Questo causa una variazione nel tempo della storia di carico delle piastrine, che non si può considerare costante, ma è caratterizzata da una grande dinamicità. Pertanto, è importante considerare anche le variazioni temporali dello sforzo, che vengono comunemente indicate come Shear Rate (SR).

$$SR = \frac{d\tau}{dt} \quad (1.2)$$

Infatti, come riportato nello studio di Consolo et al. [26], valori elevati sia di SA che di SR comportano un'attivazione piastrinica maggiore rispetto al caso in cui si ha un SA elevato ma un SR basso. Questo risultato viene riportato dagli autori nei grafici in **Fig. 9**, che mostra l'andamento del PAS in funzione del tempo per due profili di shear stress emodinamico caratteristici di una valvola protesica polimerica. La curva "Original" corrisponde a valori elevati di SA e SR, mentre "Low frequency" corrisponde a valori di SA elevati e SR bassi e "Medium frequency" e "High frequency" corrispondono a valori progressivamente decrescenti di SA e crescenti di SR.

Analisi più approfondite hanno dimostrato che l'esposizione delle piastrine a stress di taglio elevati, anche per un breve periodo di tempo, può causare una sensibilizzazione, ovvero un aumento del tasso di attivazione successivo rispetto a quello delle piastrine che non sono state esposte a stress di taglio elevati iniziali. Questo è stato dimostrato nello

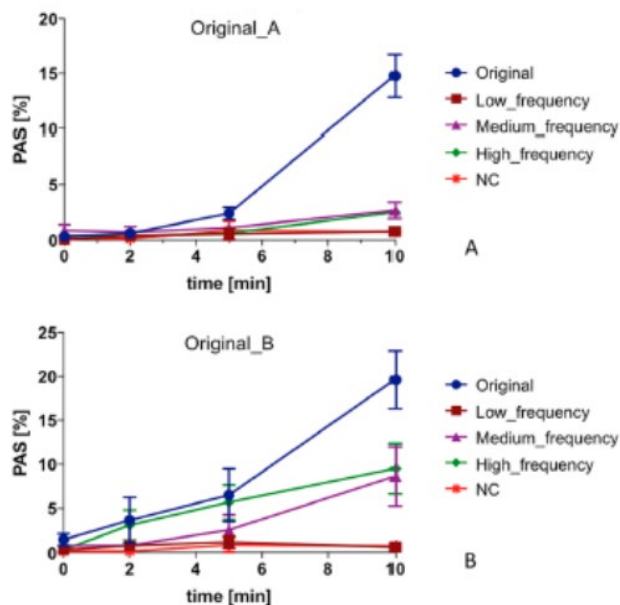


Figura 9: Andamento sperimentale del valore di PAS nel tempo di due storie di carico differenti (Original A e Original B) e delle curve ricavate dalla loro scomposizione in frequenze (Low, Medium e High Frequency) e del campione di controllo (NC).

studio sperimentale condotto da Sheriff et al. nel 2010, mettendo in evidenza che l'accumulo di stress di taglio, ovvero la quantità di stress a cui le piastrine sono esposte nel tempo, può essere un fattore chiave della sensibilizzazione [22]. In particolare, i dispositivi medici a flusso sanguigno elevato, come le pompe centrifughe, possono sottoporre le piastrine a stress di taglio estremamente elevati, fino a 8.000 dyne/cm², e a variazioni di stress di taglio elevate per brevi periodi di tempo, dell'ordine di pochi millisecondi, come quelli indotti da accelerazioni e decelerazioni del flusso. Questi stress possono attivare le piastrine e sensibilizzarle, aumentando la loro suscettibilità all'attivazione in risposta a successivi stress di taglio non patologici [27].

1.6. Problematiche legate alle pompe pediatriche

La trombogenicità è, quindi, un fenomeno strettamente legato all'utilizzo di pompe centrifughe per il sangue, in cui le piastrine sono soggette a elevati stress di taglio che ne provocano l'attivazione. Di conseguenza costituisce un rischio per pazienti adulti e pediatrici che vengono trattati con dispositivi di circolazione extracorporea. Nel caso dei pazienti neonatali, in particolare, a causa della scarsa disponibilità in commercio di pompe centrifughe progettate appositamente per uso neonatale, spesso vengono utilizzate pompe centrifughe destinate a adulti, adattando la portata e la velocità di rotazione. Tuttavia, l'utilizzo di pompe centrifughe adulte a portate inferiori rispetto alla loro portata di progettazione può causare una perdita di efficienza della pompa e, soprattutto, un aumento del rischio di eventi avversi clinicamente significativi, come la formazione di trombi e problemi neurologici [28] [29] [30]. Un'ulteriore conseguenza

dell'uso delle pompe adulte per pazienti pediatriche è l'aumento del volume di priming e quindi della diluizione del sangue del paziente. Inoltre, è stato osservato un aumento del tempo di residenza del sangue all'interno della pompa, che genera una sollecitazione più prolungata sulle piastrine, portando ad una maggiore sensibilizzazione e quindi ad una maggiore probabilità di attivazione [16]. Infine, utilizzare pompe per adulti a basse portate, può aumentare il rischio di stagnazione del sangue, favorendo la formazione di coaguli. Per questo motivo devono essere sottoposti a una terapia anticoagulante più aggressiva rispetto a pazienti adulti, con un aumento della probabilità di sanguinamento [31]. La riduzione della trombogenicità dei dispositivi medici utilizzati per il trattamento del sangue rappresenta un obiettivo importante per il miglioramento dello stato di salute dei pazienti pediatriche e neonatali e per la riduzione o totale eliminazione delle terapie anticoagulanti a cui sono sottoposti. Andando ad agire sul design e sulle prestazioni delle pompe centrifughe pediatriche è possibile raggiungere questo scopo. Le simulazioni computazionali e i test sperimentali, in questo scenario, rappresentano uno strumento fondamentale per la predizione del danno ematico.

1.7. Obiettivo della tesi

In questo contesto il seguente studio si pone l'obiettivo di caratterizzare la nuova pompa centrifuga neonatale levitazione magnetica, progettata dall'azienda Eurosets. In particolare, tramite simulazioni CFD (Computational Fluid Dynamics) si intende caratterizzare la pompa da un punto di vista fluidodinamico, confrontando tre configurazioni operative differenti. Si intende, successivamente, valutare il potenziale trombogenico della pompa neonatale dovuto all'attivazione piastrinica mediata da sforzi di taglio, tramite la determinazione dell'indice PAS (Platelets Activation State), utilizzando simulazioni CFD con un approccio di particle tracking. Inoltre, con l'obiettivo di avvalorare i concetti precedentemente esposti, si vuole simulare il comportamento della pompa adulta della stessa azienda produttrice, caratterizzata nello studio precedente di Bozzi et al. [32], e confrontare il potenziale trombogenico delle due pompe allo stesso punto di lavoro e a parità di tempo di utilizzo. Infine, si intende realizzare un setup sperimentale per la valutazione del potenziale trombogenico tramite la procedura sperimentale del PAS assay, che comprenda due circuiti per testare in parallelo la nuova pompa neonatale di Eurosets e la pompa PediVas di Abbott, pompa pediatrica più diffusa e utilizzata oggi. Questa valutazione è finalizzata a mettere in luce i punti di forza e di debolezza della nuova pompa neonatale di Eurosets, al fine di identificare eventuali aree di miglioramento e di fornire raccomandazioni su come ottimizzare le prestazioni del prodotto e garantire la massima sicurezza e affidabilità durante l'uso. Infine, i risultati della valutazione dovrebbero essere utilizzati per informare eventuali decisioni future riguardanti la progettazione, lo sviluppo e l'implementazione di pompe neonatali, al fine di migliorare la qualità dell'assistenza sanitaria per i pazienti più giovani.

2 Stato dell'arte

Il primo passo per il raggiungimento di tale obiettivo è un'approfondita ricerca e analisi della letteratura scientifica sugli studi computazionali e sperimentali della trombogenicità di pompe centrifughe a levitazione magnetica per il sangue. In questo capitolo, si intende analizzare i metodi e i risultati più recenti al fine di mettere in risalto le innovazioni e le limitazioni ancora presenti in questo ambito.

2.1. Valutazione computazionale della trombogenicità

Le simulazioni CFD risultano essere un metodo valido sia per caratterizzare la fluidodinamica di un dispositivo come la pompa, sia per valutare l'effetto che diverse geometrie e condizioni di flusso hanno sulla distribuzione di stress sulle piastrine e sul loro grado di attivazione.

Come già accennato precedentemente, per valutare il potenziale trombogenico della pompa pediatrica a levitazione magnetica di Eurosets si è scelto di utilizzare la valutazione basata sul calcolo dell'indice PAS. Questo indice viene calcolato a partire da un modello matematico introdotto per la prima volta da Soares et al. [27]. Il PAS è un indice adimensionale che varia tra 0 e 1 e che indica il grado di attivazione delle piastrine; in particolare, le piastrine inattive e quiescenti sono caratterizzate da $PAS = 0$, mentre il limite superiore $PAS = 1$ corrisponde a piastrine completamente attivate. Il modello definisce lo stato di attivazione delle piastrine come funzione del loro stato di attivazione attuale e della storia dello stress fino al tempo corrente. In particolare, tiene in considerazione la sensibilizzazione dovuta alla precedente attivazione ad alto stress di taglio, in condizioni successive a basso stress di taglio $S(PAS, SA)$, il livello corrente di stress agente sulle piastrine $F(PAS, \tau)$ e la variazione nel tempo dello stress grazie all'inclusione esplicita del contributo del tasso di carico all'attivazione delle piastrine $G(PAS, SR)$. In tale modello viene considerato lo stress (τ) come fattore scatenante per l'attivazione delle piastrine. Lo stress è un tensore costituito da sei componenti indipendenti e simmetriche. Una metodologia comune utilizzata negli studi CFD del danneggiamento del sangue prevede la riduzione degli stati di stress tridimensionali in uno dei suoi invarianti scalari. Come suggerito da Bludszuweit [33], le componenti del tensore dello stress lungo le traiettorie delle particelle all'interno del device, ovvero la storia di stress agente sulle piastrine, sono state estratte per ogni particella e combinate in un singolo valore di sforzo scalare τ , riportato nell'equazione (2.1).

$$\tau = \left[\frac{1}{12} (\tau_{ii} - \tau_{jj})^2 + \frac{1}{2} \tau_{ij}^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.1)$$

Uno dei principali riferimenti per lo sviluppo del seguente progetto è lo studio realizzato da Bozzi et al. [32] che mira a valutare le prestazioni idrodinamiche e il potenziale trombogenico di due prototipi di pompe centrifughe adulte a levitazione magnetica dell'azienda Eurosets. I due dispositivi differiscono per la configurazione dell'impeller, 6 pale e 12 pale (**Fig. 10**), e sono stati progettati per essere utilizzati nei circuiti di bypass cardiopolmonare durante l'intervento chirurgico a cuore aperto e nell'ossigenazione extracorporea a membrana per supportare i pazienti con grave insufficienza cardiaca o respiratoria. Il flusso sanguigno all'interno delle pompe è stato modellato utilizzando la simulazione numerica diretta, tramite il software Ansys Fluent. Sono state fissate le condizioni al contorno in termini di profilo di velocità in ingresso e pressione costante in uscita e la condizione di non scivolamento alle pareti. Il sangue è stato assunto come fluido newtoniano. Per riprodurre l'interazione tra parte rotante e statica della pompa è stato utilizzato il modulo sliding mesh, in cui sono state costruite una griglia rotante adesa all'impeller e una seconda griglia stazionaria adesa all'housing della pompa. Per simulare la presenza delle piastrine all'interno del flusso sanguigno, il fluido è stato seminato numericamente con una fase discreta, il cui stato di attivazione è stato calcolato considerando la storia di stress agente lungo le rispettive linee di flusso, tramite il metodo del "Lagrangian Particle Tracking", per poi effettuare il calcolo dell'indice PAS. I risultati mostrano che la pompa a 6 pale presenta aree di stagnazione più piccole, livelli di stress più bassi e valori di PAS minori, il che si riflette su un potenziale trombogenico più basso (**Fig.11**). Lo studio di Bozzi et al. fornisce un'analisi del potenziale trombogenico della pompa adulta, realizzata dalla stessa azienda produttrice della pompa neonatale in esame nel presente studio, utile non solo a confermare quanto l'utilizzo di un'impeller a 6 pale possa migliorare la performance della pompa, ma soprattutto come confronto per la successiva analisi della pompa neonatale.

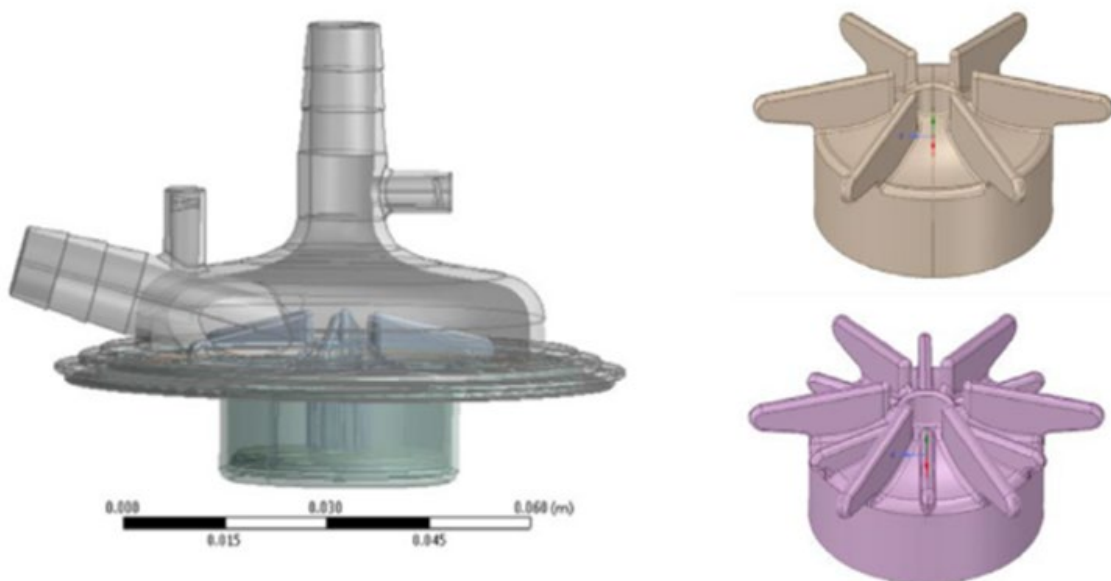


Figura 10: Geometria pompa adulta 6 pale (in alto a destra) e 12 pale (in basso a destra).

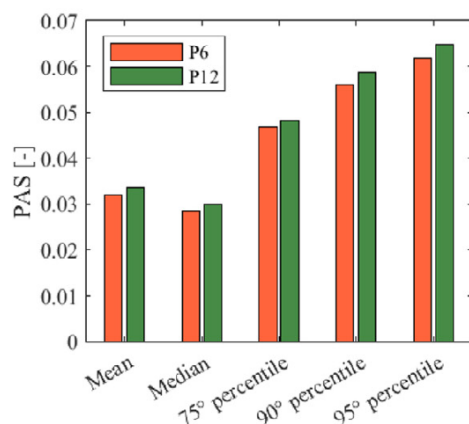


Figura 11: valori di PAS per la pompa a 6 e 12 pale.

Un ulteriore esempio di valutazione computazionale di pompe centrifughe per il sangue tramite il calcolo del PAS è riportato nello studio di Fiusco et al. [16]. Gli autori hanno valutato le proprietà trombogeniche di due pompe a levitazione magnetica per ECMO progettate per uso neonatale (PediVas) e adulto (CentriMag), mediante simulazioni computazionali fluidodinamiche in diversi scenari di flusso. In particolare, per confrontare le prestazioni della pompa pediatrica e pompa adulta, sono state simulate 3 condizioni operative:

Tabella 1: Condizioni operative di simulazione per la PediVas e la CentriMag.

	Portata in ingresso [l/min]	Velocità di rotazione [rpm]
CentriMag in modalità adulto	4	2500
CentriMag in modalità bambino	0,3	2000
PediVas in modalità bambino	0,3	3000

Per effettuare le analisi CFD, gli autori hanno applicato il metodo dei volumi finiti implicito per risolvere le equazioni di Navier Stokes in 3D. Sono state impostate una pressione e una velocità costante come condizioni al contorno ed il fluido è stato modellato come newtoniano. Anche in questo caso per la costruzione della griglia di calcolo è stato utilizzato il modulo sliding mesh e l'approccio lagrangiano per calcolare lo stress agente sulle piastrine seminate nel fluido. Sono state analizzate le distribuzioni statistiche del PAS delle piastrine all'interno delle pompe (**Fig. 12**), mostrando che la pompa pediatrica determina una maggiore attivazione delle piastrine. I risultati sono giustificati dalla presenza di un reflusso all'ingresso, che causa un movimento retrogrado delle piastrine, contribuendo ad un leggero aumento del potenziale trombogenico a causa di un maggiore tempo di residenza all'interno della pompa e a un maggiore sforzo di taglio per un periodo prolungato (**Fig.13**).

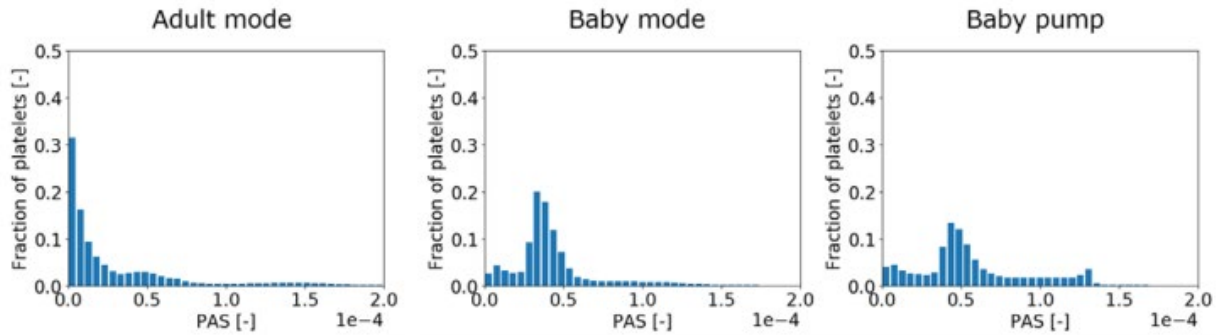


Figura 12: Frazione di piastrine in funzione del PAS: CentriMag in modalità adulta (sinistra), in modalità bambino (centro) e PediVas in modalità bambino (destra).

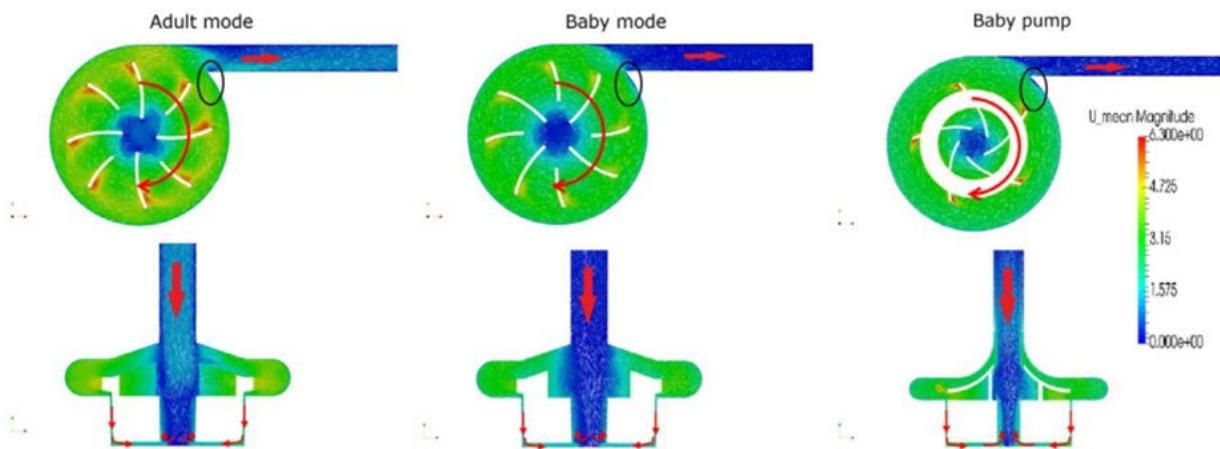


Figura 13: Campo di moto di CentriMag in modalità adulto (sinistra), in modalità bambino (centro) e PediVas in modalità bambino (destra).

PediVas e CentriMag mostrano risultati comparabili in termini di trombogenicità; un'ottimizzazione del design è, quindi, necessaria al fine di poter ridurre la presenza del flusso retrogrado e poter confermare che l'utilizzo di una pompa pediatrica nella sua condizione operativa di progetto generi un minore rischio di formazione di trombi, rispetto alla pompa adulta in condizioni pediatriche.

Risulta, quindi, di particolare importanza effettuare valutazioni computazionali per evidenziare quali sono i punti di debolezza del dispositivo e ottimizzarne il design per minimizzare i fattori alla base dell'attivazione piastrinica. Questo è confermato anche dallo studio di Tompkins et al. [28], che hanno sviluppato due modelli computazionali di due pompe a levitazione magnetica (pompa V1 e pompa V2) con design diverso (Fig.14). Anche in questo caso, le due pompe sono state valutate e confrontate tramite simulazioni numeriche. Il design differisce sia per la configurazione dell'impeller, che per la pompa stessa; infatti, rispetto alla pompa V1, la pompa V2 è caratterizzata da un impeller con pale più estese e più alte e da un pilastro al centro del corpo. Il design della pompa V2 contribuisce sia a ridurre il volume di riempimento, fondamentale nel caso dei pazienti pediatrici, sia a migliorare le caratteristiche fluidodinamiche.

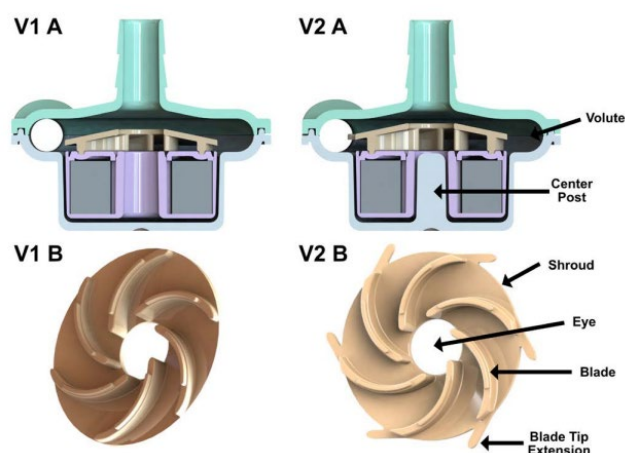


Figura 14: Design della pompa V1 (sinistra) e V2 (destra).

2.2. Valutazione sperimentale della trombogenicità

Per avere una caratterizzazione completa della pompa è utile condurre test sperimentali, che possano confermare o smentire i risultati computazionali. Dunque, in vista della valutazione sperimentale della pompa neonatale di Eurosets, nel seguente capitolo vengono analizzati alcuni degli studi sperimentali maggiormente rilevanti per la costruzione del set-up sperimentale e per il metodo di valutazione del potenziale trombogenico della pompa.

Sobieski et al. [34] nel loro studio offrono un primo esempio di set-up sperimentale per il confronto di due pompe centrifughe, CentriMag e RotaFlow, in termini di trauma ematico. Vengono esaminati campioni di sangue bovino fresco e intero prelevato entro 24 ore dall'avvio delle procedure di test. Il sangue è stato prelevato da un singolo animale donatore, prefiltrato per rimuovere coaguli e detriti e diluito per raggiungere un ematocrito (Hct) del $25 \pm 3\%$. Successivamente è stata aggiunta eparina per mantenere un tempo di coagulazione attivato superiore a 300 s, in conformità agli standard FDA e ISO 7199. Il pool di sangue è stato utilizzato per il test accoppiato simultaneo di entrambi i dispositivi. Infine, i campioni di sangue sono stati testati per valutare il livello di emolisi e il livello di attivazione delle piastrine: in particolare, tramite uno strumento che sfrutta l'elettroforesi capillare vengono quantificati Htc, numero di piastrine, globuli rossi e globuli bianchi; mentre con il plasmafotometro viene misurata l'emoglobina libera nel plasma. Il set-up all'interno del quale è stato fatto fluire il sangue presenta la configurazione in **Fig.15**. Il circuito utilizzato, sia per RotaFlow che per CentriMag, è costituito da 75 cm di tubo Tygon con diametro di 3/8", un reservoir da 1 L con una porta di campionamento. Tra il reservoir e la pompa viene posizionato un filtro per evitare che detriti entrino nella pompa del sangue e influiscano negativamente sull'emolisi. All'ingresso e all'uscita della pompa sono presenti dei sensori per misurare la differenza di pressione attraverso il dispositivo e un misuratore di flusso per misurare la portata in uscita. L'intero circuito è posizionato in una vasca d'acqua a temperatura controllata per

mantenere la temperatura del sangue a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, come raccomandato dalla FDA. Il volume di riempimento totale del circuito è di 700 ml. I risultati dello studio indicano che entrambe le pompe hanno causato un certo grado di emolisi e attivazione delle piastrine, ma la RotaFlow ha mostrato livelli significativamente più bassi rispetto a CentriMag.

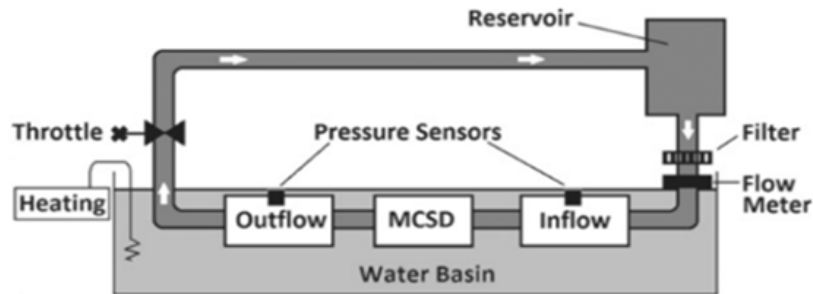


Figura 15: Configurazione del circuito utilizzato nello studio sperimentale di Sobieski et al.

Un secondo esempio di set-up sperimentale è fornito da Shigang Wang et al. [35]: in questo caso viene realizzato un circuito di ECMO pediatrico per testare le prestazioni della pompa pediatrica PediVas e delle pompe adulte CentriMag e Rotaflow. Il circuito è mostrato in Fig.16.

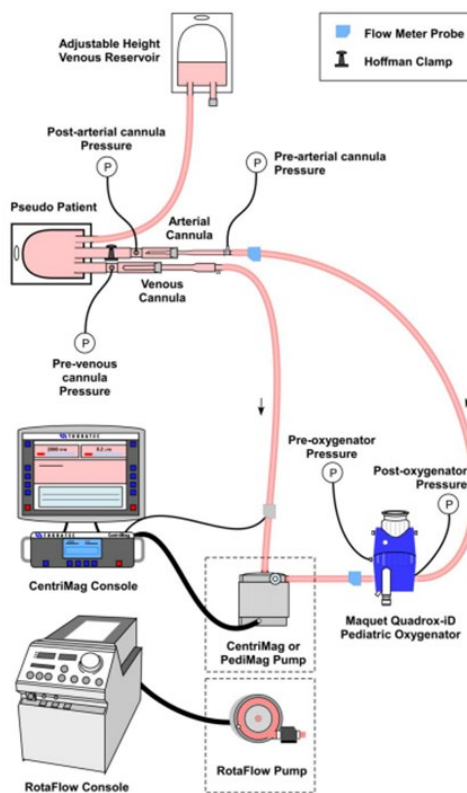


Figura 16: Circuito ECMO per la valutazione fluidodinamica di CentriMag, Rotaflow e PediVas.

Presenta due reservoir uno che simula il paziente e un reservoir venoso regolabile in altezza, cannule arteriose e venose, linee arteriose e venose, un ossigenatore e la pompa. Sono presenti sensori di pressione in uscita e in entrata dal reservoir del paziente e un misuratore di flusso. Viene utilizzata una soluzione di 500 ml Ringer lattato con globuli rossi umani, ottenendo un Htc del 35%. La temperatura è mantenuta costante e pari a 36°C. La pressione post-cannula arteriosa, in entrata al paziente, viene mantenuta costante a 60 mmHg con il clamp di Hoffman; mentre la pressione pre-cannula venosa, ovvero il precarico, viene mantenuta costante a 10 mmHg. I test vengono effettuati sulle tre pompe utilizzando tre circuiti, che differiscono per la dimensione delle cannule, la velocità di rotazione della pompa e la portata, come è riportato in **Tab. 2**.

Tabella 2: Condizioni operative e dimensioni delle cannule nei test riprodotti da Shigang Wang et al

	Diametro cannula arteriosa/venosa [Fr]	Velocità di rotazione con incr. di 1000 rpm	Range di portata con incr. di 200 ml/min
CIRCUITO A	8/18	1000 - 5000	200 – 800
CIRCUITO B	10/20	1000 - 5000	200 – 1600
CIRCUITO C	12/22	1000 - 5000	200 – 2400

Per l'analisi sperimentale dell'attivazione piastrinica, tramite PAS assay, viene preso come riferimento lo studio di Consolo et al. [36]. Gli autori hanno realizzato un set-up sperimentale per la quantificazione dell'attivazione piastrinica causata dall'utilizzo di dispositivi per il ricircolo del sangue in CEC neonatali, tramite il PAS assay. Questa procedura consente di misurare la tendenza pro-trombotica delle piastrine attivate, ovvero l'attività pro-coagulante delle piastrine, rilevando il tasso di produzione di trombina, senza indurre l'aggregazione o la formazione di coaguli durante il test. Nonostante la generazione di trombina rappresenti un potente indicatore dell'attivazione delle piastrine in risposta a diversi agonisti biochimici e meccanici, la trombina prodotta ha un effetto di feedback positivo sull'attivazione delle piastrine. Per eliminare il feedback, viene acetilata la protrombina affinché non si determini un ulteriore incremento del livello di attivazione delle piastrine. Questo è necessario al fine di ottenere una valutazione diretta e unica del legame tra sollecitazione subita dalle piastrine e il loro livello di attivazione. I primi a introdurre la tecnica dell'acetilazione della protrombina per inibire la sua azione retroattiva sull'attivazione delle piastrine sono stati Jesty et al. nello studio in vitro condotto nel 1999 [37]. Nel 2015 Valerio et al. [38] hanno pubblicato uno studio sull'utilizzo del PAS assay come mezzo per rilevare un'attività piastrinica alterata in pazienti trattati con VAD. L'innovazione introdotta da Consolo et al. nel 2016 consiste nell'applicare la stessa procedura sperimentale per i dispositivi di circolazione extracorporea. In particolare, il circuito del test sperimentale prevede: una pompa roller, che mantiene una portata di 0,5 l/min; un ossigenatore pediatrico, a cavallo del quale sono

posizionati due sensori di pressione; un misuratore di flusso; un reservoir costituito da una provetta Falcon da 50 ml con la soluzione contenente le piastrine, immerso in un bagno d'acqua per mantenere la temperatura a 37°C durante il test e un sistema di acquisizione dei dati per monitorare la portata e la caduta di pressione a cavallo dell'ossigenatore (Fig.17). Il volume di priming totale del sistema risulta pari a 95 ml.

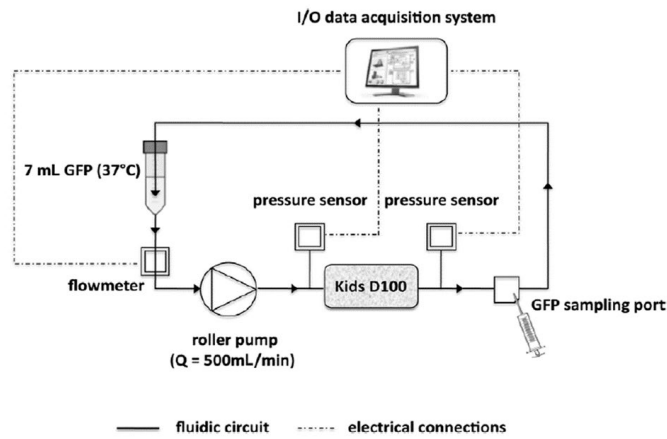


Figura 17: configurazione del circuito utilizzato per il test sperimentale nello studio di Consolo et al.

3 Materiali e Metodi

Nel seguente capitolo vengono descritte le principali fasi che portano alla realizzazione di un modello computazionale che possa riprodurre in modo preciso l'emodinamica all'interno della pompa centrifuga neonatale a levitazione magnetica dell'azienda Eurosets. Inoltre, viene illustrata la realizzazione di un set-up sperimentale che riproduce le reali condizioni di utilizzo, al fine di valutarne il potenziale trombogenico tramite test in vitro.

3.1. Studio Computazionale

Lo studio computazionale si concentra sulla valutazione delle prestazioni del dispositivo, analizzando le caratteristiche fluidodinamiche e valutando il potenziale trombogenico. In particolare, vengono considerate tre diverse condizioni operative per la pompa neonatale, al fine di valutare l'impatto di diversi fenomeni fluidodinamici sulle piastrine. Inoltre, come già menzionato in precedenza, viene effettuato un confronto tra la pompa neonatale e la pompa adulta sia in termini di fluidodinamica che di attivazione piastrinica, per evidenziare i pro e i contro nell'impiego di una pompa progettata specificatamente per i neonati.

Di seguito viene riportata la semplificazione della geometria e la determinazione del dominio fluido; successivamente, la creazione di una griglia adeguata al raggiungimento di risultati accurati e infine i parametri per il set-up delle simulazioni.

3.1.1. Geometria del dominio fluidodinamico

Semplificazione della geometria

Il modello fluidodinamico è stato realizzato semplificando, in alcune parti, la geometria originale della pompa, che è stata fornita dall'azienda produttrice, sottoforma di file .STP. A tale fine il disegno tecnico della pompa è stato importato e processato all'interno del Software 3D CAD SpaceClaim (ANSYS 22.2). Nel disegno costruttivo iniziale la pompa neonatale è costituita da quattro corpi (**Fig. 18**):

1. **Girante:** è posizionata al centro della voluta della pompa ed è composta da 6 pale radiali che, ruotando, indirizzano il flusso verso il tubo di uscita. Al di sotto del piano su cui giacciono le pale, si sviluppa una cassa di forma cilindrica all'interno della quale è presente il magnete, come si può notare in **Fig.19**. Ai capi della cassa sono posizionate due guarnizioni, una superiore che si interpone tra le pale e il magnete e una inferiore tra il magnete e il tappo della girante. Infine, è presente un foro passante lungo l'asse di rotazione, denominato "washout hole", che permette al fluido di generare dei flussi secondari, promuovendo l'eliminazione delle zone di stagnazione.

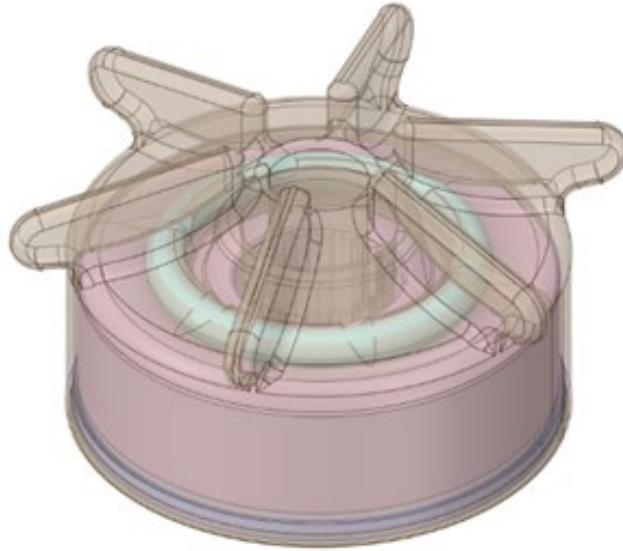


Figura 18: Componenti interne della girante: magnete (in rosa), guarnizione (in verde), tappo della girante (in viola).

2. **Cupola:** racchiude il volume di fluido circostante alle pale della girante. È la componente superiore della voluta e da essa si sviluppano, al centro, il condotto di ingresso in direzione assiale e, lateralmente e inclinato verso l'alto, il condotto di uscita in direzione tangenziale.
3. **Fondello:** parte inferiore della voluta, al suo interno è contenuta la base della girante.
4. **Guarnizione:** posizionata nella zona di contatto tra cupola e fondello.

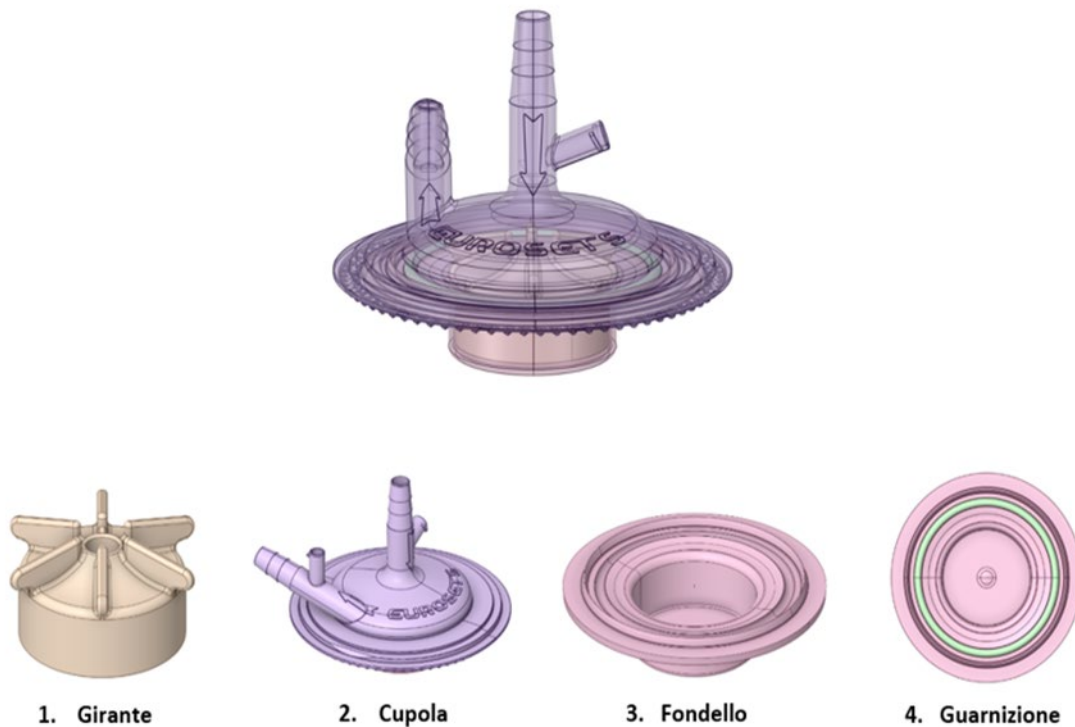


Figura 19: Geometria e componenti della pompa neonatale.

Il processo di semplificazione del disegno tecnico consiste nelle seguenti fasi:

- Eliminazione delle 3 guarnizioni e del magnete, componenti non direttamente a contatto con il sangue, quindi non necessarie per la determinazione del dominio fluido.
- Eliminazione degli strati più esterni della geometria, non a contatto con il sangue.
- Eliminazione dei condotti secondari presenti sui tubi di inlet e outlet e ripristino della continuità delle pareti.
- Unione della cupola e del fondello in corrispondenza della guarnizione.
- Chiusura del fondo della girante ed eliminazione del tappo.

A seguito del lavoro di semplificazione del dominio, la pompa neonata è costituita da due solidi separati:

1. **Case:** solido ottenuto dall'unione di fondello e cupola.
2. **Girante:** solido contenuto all'interno del case.

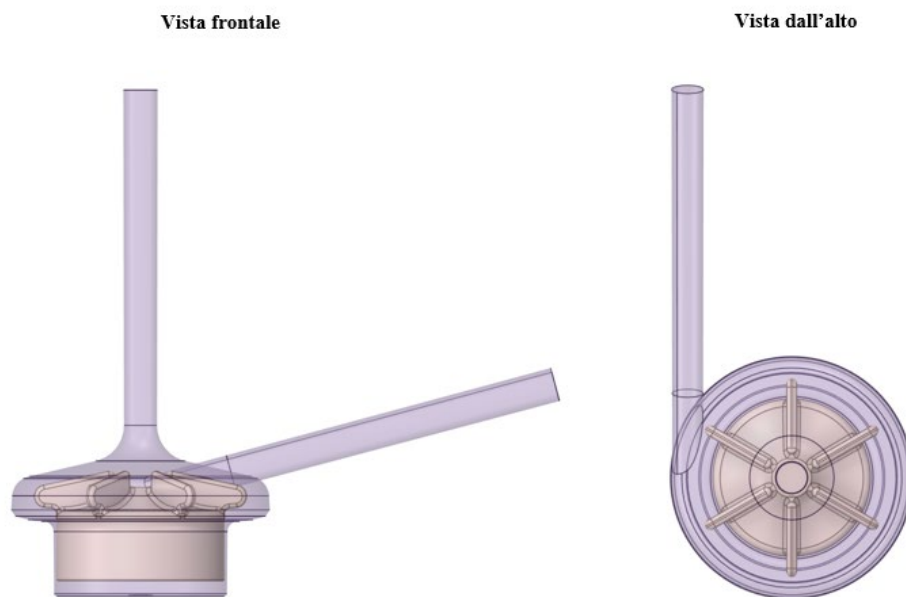


Figura 20: Geometria semplificata: Case (viola) e Girante (beige).

Conclusa la semplificazione della geometria vengono attuate due ulteriori modifiche:

- Alzare la girante di 2 mm rispetto al disegno originale: sperimentalmente è stato osservato che, durante la rotazione, essa si solleva di 2 mm rispetto alla condizione di riposo;
- Allungare i condotti di entrata e uscita di una lunghezza pari a 10 volte il diametro, in modo da avere un flusso sviluppato in ingresso e in uscita dal case della pompa.

Determinazione del dominio fluido

Per simulare l'interazione tra la componente rotante e quella statica nella pompa, viene utilizzato il modulo sliding mesh presente in Ansys Fluent. Questo metodo consente di separare il dominio fluido in diverse zone che si muovono relativamente l'una rispetto all'altra, senza alcun cambiamento di forma all'interfaccia e senza compenetrazioni tra le varie parti. È necessario definire un'interfaccia tra due pareti di volume adiacenti in movimento relativo, per consentire lo scambio dei dati fluidodinamici tra due superfici con mesh non conforme, fornendo una soluzione accurata e tempo-variante per domini a riferimento mobile. Nel presente studio si suddivide il dominio fluido in due macro-parti:

- **Rotore:** volume fluido in rotazione, circostante la girante.
- **Statore:** volume fluido statico, contenuto all'interno del case della pompa.

Al fine di assicurare la continuità della mesh all'interfaccia tra i corpi appartenenti alla stessa parte (rotore o statore), viene attivata l'opzione Shared Topology in SpaceClaim. Per ottenere le due componenti del dominio fluido viene utilizzato un altro tool di Ansys, il software 3D CAD Design Modeler. Il primo passo è la costruzione di un nuovo solido che racchiude la girante e il fluido immediatamente circostante ad essa. Per garantire che il solido non fuoriesca dal case, questo viene realizzato dalla composizione di due cilindri e un tronco di cono, come mostrato in **Fig.21**.

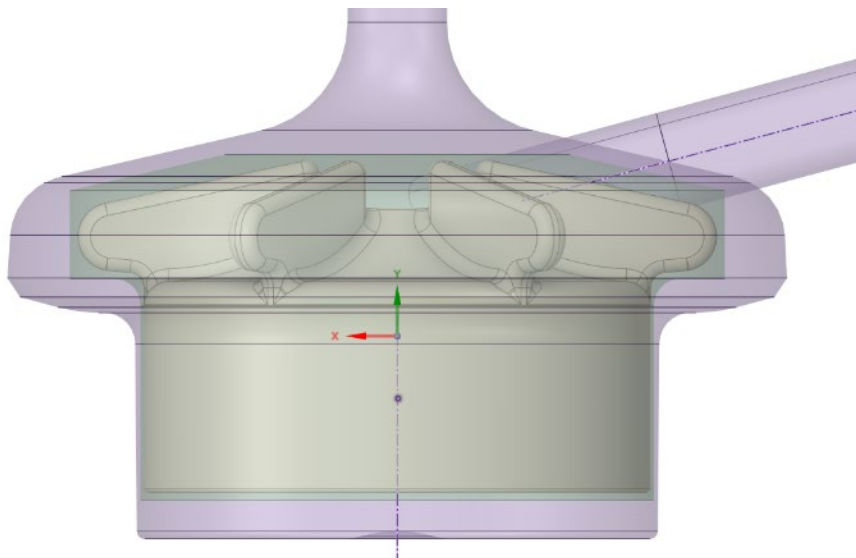


Figura 21: Rappresentazione del solido per la creazione del dominio fluido (in verde).

Successivamente vengono eseguite due operazioni booleane:

- 1) Sottrazione del volume del solido dal volume del case, con conservazione del volume.
- 2) Sottrazione del volume della girante dal volume del solido, senza conservazione del volume (esclusione della girante dal dominio fluido).

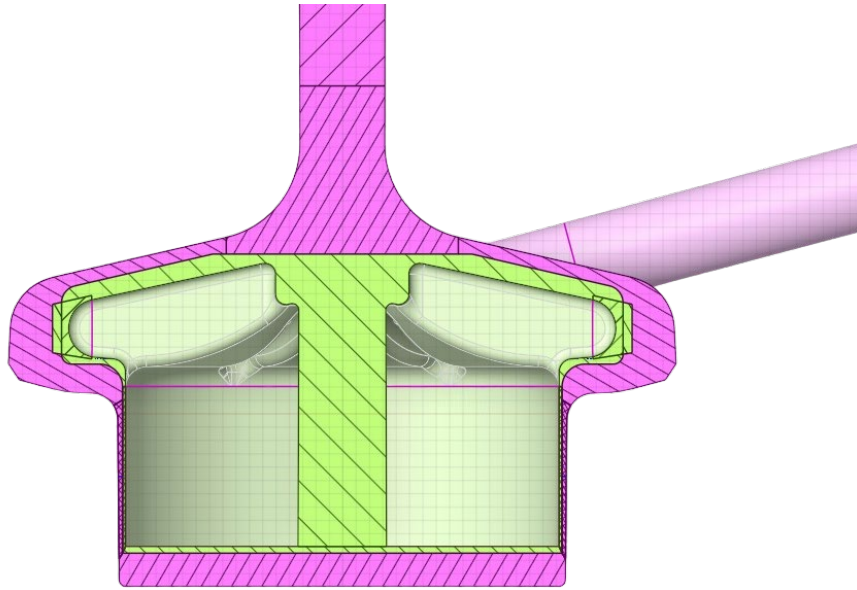


Figura 22: Suddivisione del dominio fluido in rotore (verde) e statore (viola)

3.1.2. Mesh

Creazione della griglia di calcolo

Per la costruzione di una griglia adeguata alla discretizzazione della pompa neonatale viene preso come riferimento lo studio precedentemente condotto da Bozzi et al. [32] sulla valutazione computazionale della pompa centrifuga adulta prodotta da Eurosets. In quest'ultimo caso viene utilizzata una mesh composta da elementi con dimensione pari a $300\ \mu\text{m}$, con un infittimento nelle zone di maggiore turbolenza con elementi di dimensione di $140\ \mu\text{m}$. In particolare, vengono scelti elementi esaedrici per la parte inferiore del device e elementi di forma tetraedrica per le restanti parti. Viste le similitudini tra le geometrie delle due pompe, è stata effettuata una prima simulazione adattando la mesh della pompa adulta a quella neonatale. Tuttavia, dai risultati è emerso che i valori di caduta di pressione a cavallo della pompa si discostavano più del 10% rispetto ai dati sperimentali forniti dall'azienda produttrice. Pertanto, la dimensione degli elementi viene ridotta del 10% rispetto a quella iniziale. Vengono, quindi, utilizzati elementi di forma esaedrica di $270\ \mu\text{m}$, invece di $300\ \mu\text{m}$, per discretizzare la parte inferiore della pompa, ovvero il fondello e i laterali dello statore e rotore. L'utilizzo di esaedri ha permesso di introdurre almeno cinque strati di elementi nelle zone di fluido più sottili di entrambi i corpi (**Fig. 23**). La zona superiore del device, invece, è discretizzata con elementi di forma tetraedrica. Le zone di fluido dello statore e del rotore lontane dai picchi di velocità, causati dalla rotazione delle pale, sono discretizzate con elementi di dimensione pari a $270\ \mu\text{m}$.

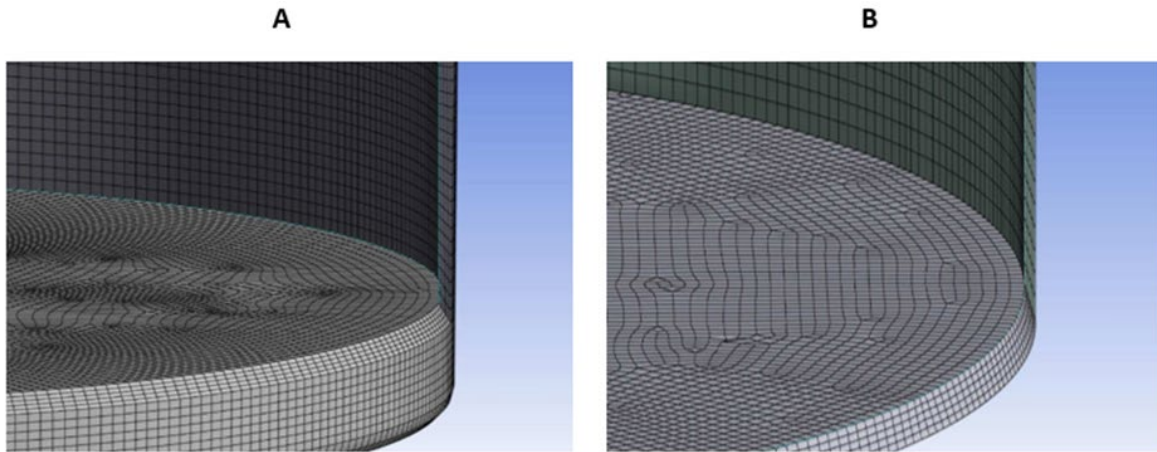


Figura 23: Dettaglio della mesh: A) Fondello e laterale statore. B) Fondello e laterale rotore.

Mentre, le zone di fluido caratterizzate da maggiori turbolenze, ovvero all'estremità delle pale della girante, sono discretizzate utilizzando elementi tetraedrici di dimensione pari a 126 μm . In **Fig. 24** è possibile apprezzare la differenza tra la dimensione degli elementi nella zona di fluido all'estremità delle pale e quella nella restante parte.

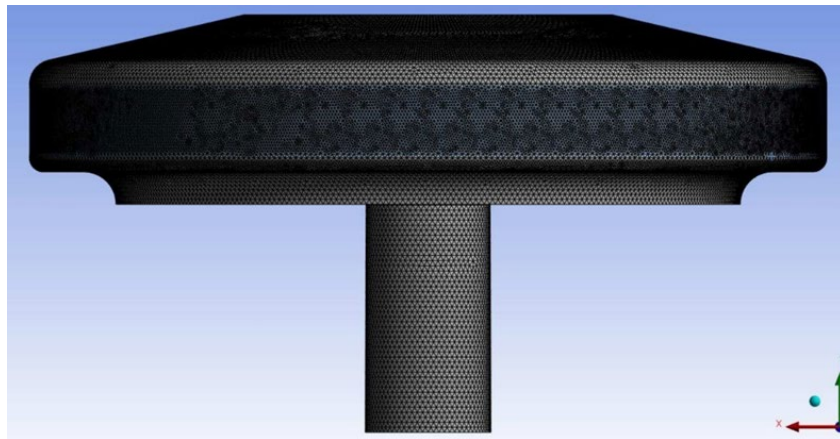


Figura 24: Mesh dell'impeller con infittimento nella zona centrale in prossimità dell'estremità delle pale.

La mesh così realizzata, all'interno del modulo di meshing del software ANSYS 22.2, presenta 15.665.484 elementi e 3.277.170 nodi.

Analisi della costante di Reynolds

Al fine di confermare le scelte effettuate sulla dimensione degli elementi della griglia di calcolo viene condotta un'analisi della costante di Reynolds. La costante di Reynolds (Re) è un numero adimensionale che caratterizza il flusso di un fluido e dipende da velocità, densità e viscosità del fluido e dalla dimensione caratteristica del dispositivo. La costante di Reynolds viene calcolata utilizzando la formula:

$$Re = \frac{(\rho \cdot v \cdot L)}{\mu}$$

(3.1)

dove:

ρ è la densità del fluido,

v è la velocità del fluido,

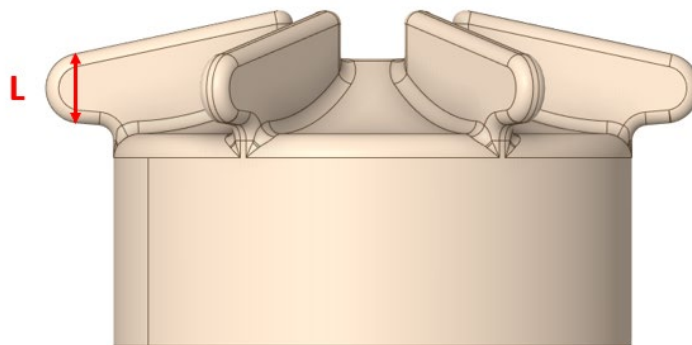
L è una dimensione caratteristica del dispositivo

μ è la viscosità dinamica del fluido.

La costante di Reynolds fornisce informazioni sul regime di flusso del fluido. I tre regimi principali sono:

1. Regime di flusso laminare ($Re < 2500$): il flusso è ordinato e gli strati di fluido si muovono paralleli e senza mescolarsi. In questo regime, la viscosità del fluido prevale sulle forze inerziali.
2. Regime di transizione ($2500 < Re < 3500$): il flusso è in transizione tra laminare e turbolento. In questa regione, il flusso può essere instabile e può verificarsi la formazione di vortici localizzati.
3. Regime di flusso turbolento ($Re > 3500$): il flusso è caratterizzato da movimenti caotici e irregolari. In questo regime, le forze inerziali prevalgono sulla viscosità del fluido.

La conoscenza del regime di flusso consente di determinare il livello di turbolenza massimo presente nel dispositivo e di stabilire i criteri di infittimento degli elementi della griglia. Per il calcolo del numero di Reynolds, viene estratta la velocità a seguito di una simulazione preliminare, utilizzando la mesh precedentemente descritta, una velocità di rotazione del rotore di 3500 rpm, un flusso di massa in ingresso pari a 0,0883 kg/s e una pressione statica in uscita pari a 0 Pa. Il sangue viene modellato come un fluido Newtoniano, con viscosità $\mu = 0,003$ Pa·s e densità $\rho = 1060$ kg/m³. In particolare, la velocità utilizzata è ottenuta come la media dei 100 valori più elevati estratti dalle celle in corrispondenza delle estremità delle pale del rotore. Per la lunghezza caratteristica, invece, viene considerata l'altezza della pala del rotore uguale a 4,3 mm, anche in questo caso in corrispondenza dei picchi di velocità, poiché in questo punto la pala urta contro il fluido, modificando il suo moto e causando dei vortici di dimensione direttamente proporzionale alla lunghezza caratteristica scelta. Con questi dati si ottiene un numero di Reynolds di 13.700, identificando il flusso come turbolento.



25: Lunghezza caratteristica del dispositivo per il calcolo del numero di Reynolds.

Scala di Kolmogorov e scala di Taylor

Per la modellazione numerica dei flussi turbolenti è importante valutare la scala di Kolmogorov che, indicata come η , rappresenta la dimensione caratteristica delle strutture turbolente più piccole presenti in un flusso. Queste strutture sono conosciute come "vortici di Kolmogorov" o "vortici dissipativi". Nel campo di flusso dietro le pale, la scala di Kolmogorov è calcolata secondo l'equazione (3.2), dove L è la lunghezza caratteristica, ottenendo un valore di η pari a $3,4 \mu\text{m}$.

$$\eta = L \cdot (\text{Re})^{-\frac{3}{4}} \quad (3.2)$$

I vortici di Kolmogorov sono responsabili della dissipazione dell'energia turbolenta. Di conseguenza, tale analisi è importante perché fornisce una stima della dimensione più piccola a cui il flusso turbolento può dissipare l'energia.

A differenza dei vortici di Kolmogorov, i vortici di Taylor sono quelli che dominano le caratteristiche di flusso su una scala più ampia. La scala di Taylor, indicata con λ , viene calcolata dall'equazione seguente:

$$\lambda = L \cdot \left(\frac{10}{\text{Re}}\right)^{0,5} \quad (3.3)$$

A questa scala, l'energia viene trasferita dalle grandi strutture coerenti alle strutture più piccole, fino ad arrivare alla scala di Kolmogorov, dove avviene la dissipazione dell'energia. Utilizzando il valore di Re calcolato precedentemente e la lunghezza caratteristica scelta per la pompa neonatale, si ottiene un valore di λ pari a $115,6 \mu\text{m}$.

Nel presente studio le simulazioni vengono condotte con la DNS (Direct Numerical Simulation), un metodo di simulazione computazionale in cui le equazioni di Navier-Stokes, che descrivono il comportamento dei fluidi, vengono risolte direttamente senza alcuna approssimazione o modello di turbolenza. Ciò significa che tutte le scale di lunghezza e tempo del flusso turbolento sono risolte direttamente, inclusi i dettagli più piccoli delle strutture turbolente. L'utilizzo della DNS comporta quindi un costo computazionale elevato in quanto, richiede una griglia adeguata a simulare il flusso senza modelli di turbolenza, ovvero con una risoluzione dell'ordine della scala di Kolmogorov. Tuttavia, un infittimento della mesh fino alla microscala di Kolmogorov comporterebbe dei costi computazionali insostenibili per le risorse a disposizione ed è inoltre stato dimostrato che non è necessario arrivare fino al livello della scala dissipativa per ottenere dei risultati accurati [39] [40] [41] [42].

Di conseguenza, in questo studio, si sceglie un compromesso tra accuratezza e costo computazionale, ritenendo accettabili le dimensioni scelte per gli elementi della griglia,

poiché confrontabili con l'ordine di grandezza della scala di Taylor, costruendo comunque una griglia in grado di catturare le caratteristiche del flusso turbolento a diverse scale spaziali.

Qualità della mesh

Al fine di valutare la qualità della mesh vengono considerati tre parametri adimensionali:

1. Aspect Ratio (AR)

È la misura dell'allungamento di una cella. L'aspect ratio viene calcolato come rapporto tra il valore massimo e il valore minimo delle seguenti distanze: la distanza tra il centro della cella e il centro della faccia e la distanza tra il centro della cella e i nodi. Un AR = 1 corrisponde al valore ottimale, mentre aspect ratio elevati possono causare problemi di convergenza e di stabilità nella simulazione.

2. Orthogonal Quality (OQ)

Per determinare l'orthogonal quality devono essere calcolate, per ogni faccia i di una data cella, le seguenti grandezze:

- a) Il prodotto scalare normalizzato tra il vettore area di una faccia e il vettore dal centroide della cella al centro di quella stessa faccia;

$$OQ = \frac{\vec{A}_i \cdot \vec{f}_i}{|\vec{A}_i| |\vec{f}_i|}$$

- b) Il prodotto scalare normalizzato tra il vettore area di una faccia e il vettore dal centroide della cella al centroide della cella adiacente. (3.4)

L'orthogonal quality è definita come il valore minimo tra le due grandezze ottenute per tutte le facce da cui è composta la cella. Valori tendenti a 0 indicano una bassa qualità della mesh; valori tendenti a 1 indicano un'ottima qualità.

3. Skewness

È definita come il discostamento tra la forma della cella e la forma di una cella equilatera ideale di volume equivalente. Le celle altamente distorte possono ridurre la precisione e destabilizzare la soluzione. Il valore 0 indica una cella equilatera mentre il valore 1 indica una cella degenera quasi complanare. Per celle di qualsiasi forma, la misurazione della skewness si basa sul metodo della deviazione dell'angolo normalizzato.

$$Skewness = \max \left[\frac{\theta_{max} - \theta_e}{180 - \theta_e}, \frac{\theta_e - \theta_{min}}{\theta_e} \right] \quad (3.5)$$

- θ_{max} = angolo più ampio nella cella

- θ_{\min} = angolo più stretto nella cella
- θ_e = angolo per una cella equilatera (60 per triangolo, 90 per quadrato)

3.1.3. Simulazione fluidodinamica

Al fine di caratterizzare la fluidodinamica della pompa vengono effettuate tre simulazioni in condizioni operative differenti, indicate dall'azienda e riportate in **Fig. 26**. In questa trattazione vengono associate delle sigle ai tre punti di lavoro della pompa neonatale, rispettivamente NB_PL1, NB_PL2, NB_PL3 (NB_PL = punto di lavoro della pompa New Born), riportate in **Tab. 3**.

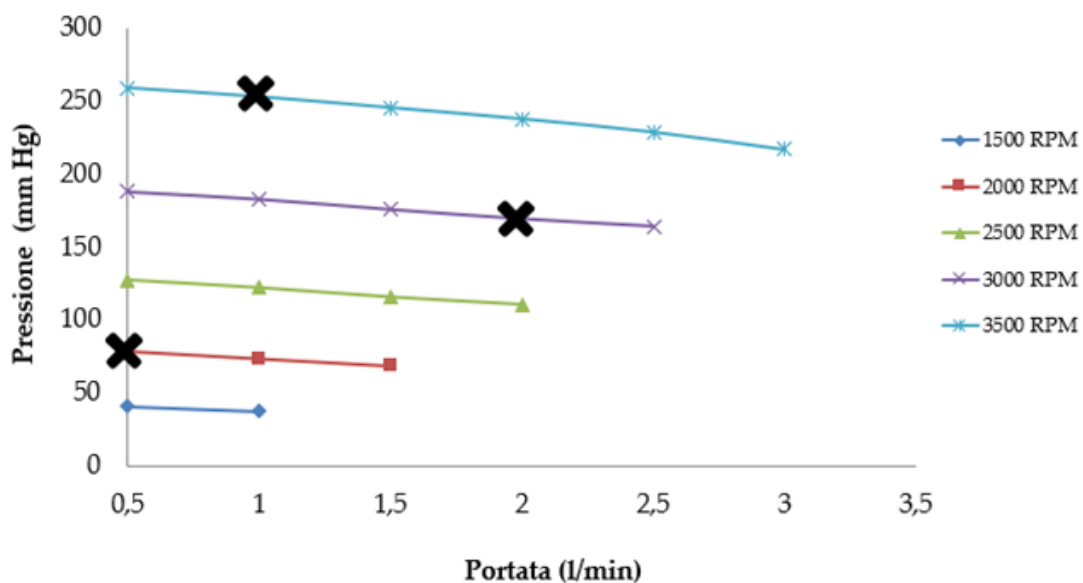


Figura 26: Curve prevalenza-portata fornite dall'azienda.

Come già accennato le simulazioni 3D tempo varianti vengono effettuate utilizzando il software ANSYS Fluent 22.2. con un approccio DNS, sfruttando il modello viscoso laminare, senza l'introduzione di modelli di turbolenza. Il sangue è modellato come un fluido Newtoniano, con viscosità $\mu = 0,003$ Pa·s e densità $\rho = 1060$ kg/m³. In accordo con il modello sliding mesh, viene impostata la velocità di rotazione attorno all'asse verticale della girante nelle zone di fluido del rotore; al contrario, il dominio fluido dello statore viene mantenuto stazionario. Come condizioni al contorno sono fissate, in uscita dalla pompa, una pressione costante pari a zero e in ingresso, una portata massica di sangue costante. Lo schema numerico scelto è l'algoritmo di accoppiamento Pressione-Velocità SIMPLE, con una discretizzazione spaziale Upwind del secondo ordine ed una formulazione non stazionaria implicita del secondo ordine. I residui per l'equazione di continuità e per le velocità in direzione x , y , z sono settati a 10^{-5} e un numero di iterazioni/time step pari a 200, per assicurare la convergenza della soluzione. Gli under-relaxation factors vengono impostati con i seguenti valori: 0,3 per la pressione e 0,7 per la quantità di moto. La durata del time step è determinata come l'arco di tempo necessario alla girante a compiere una rotazione di 2 ad una velocità di rotazione rispettivamente di

2500, 3000 e 3500 rpm. Per ottenere risultati attendibili, vengono simulati almeno 4 giri della pompa per ognuna delle tre condizioni operative.

Oltre a valutare la pompa neonatale nei tre punti di lavoro, è di particolare interesse simulare il comportamento della pompa centrifuga adulta, della stessa azienda produttrice. Nel 2020, infatti, è stata effettuata da Bozzi et al. [32] la valutazione computazionale della pompa centrifuga adulta di Eurosets. Gli autori hanno analizzato la fluidodinamica della pompa e il suo effetto trombogenico sul sangue, alla portata di 2, 5, e 8 l/min e una velocità di rotazione della pompa rispettivamente pari a 2500, 3500 e 4500 rpm.

Per mettere in evidenza quale sia la configurazione che fornisca risultati migliori in termini di trombogenicità la pompa neonatale, in configurazione NB_PL1 viene confrontata con la pompa adulta al punto di lavoro A_PL1 (A_PL = punto di lavoro della pompa adulta) (Tab. 3). Dalle curve prevalenza-portata fornite dall'azienda per la pompa adulta viene ricavato, tramite interpolazione, il valore di velocità di rotazione che corrisponde alla condizione sopracitata, ottenendo 2280 rpm (Fig. 27).

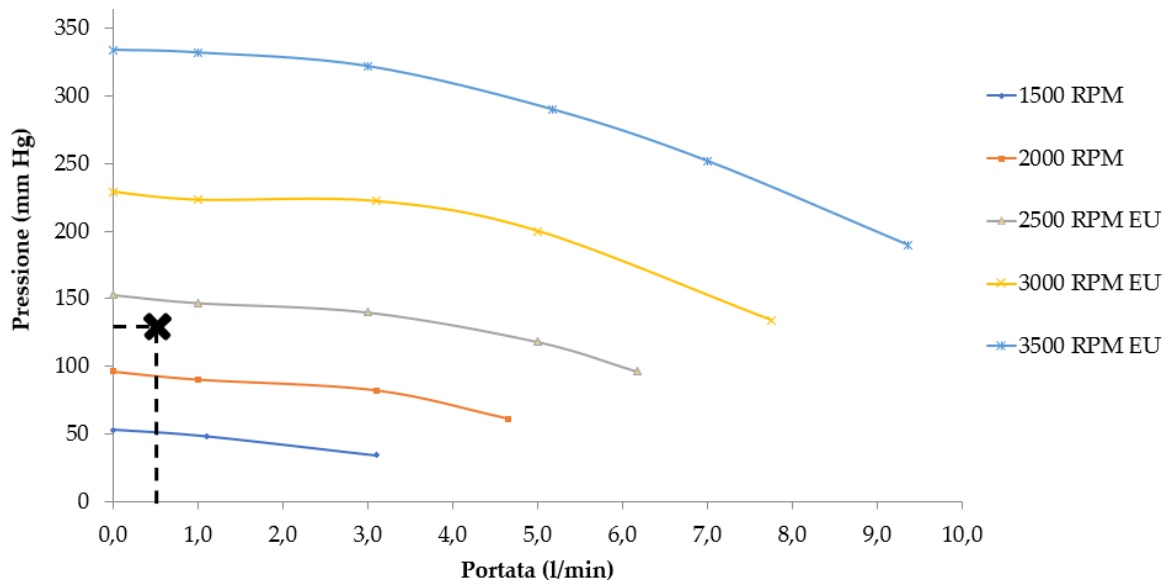


Figura 27: Curve prevalenza-portata per la pompa adulta fornite dall'azienda.

Per la discretizzazione della pompa adulta è stata utilizzata la mesh utilizzata nel modello computazionale realizzato da Bozzi et al. [32], composta da elementi esaedrici nella zona inferiore e laterale del dispositivo ed elementi tetraedrici nella zona superiore, di dimensione pari a 140 μm in prossimità delle pale e 300 μm nel resto del dominio. I parametri di simulazione sono gli stessi descritti precedentemente, eccetto per il time step pari a 0,000146 s (calcolato con le stesse modalità utilizzate per la pompa neonatale) e il numero di iterazioni/time step scelto pari 150.

In ogni simulazione viene impostato un report automatico che genera un file di testo con i valori di pressione statica media nella superficie di ingresso della pompa ad ogni time step. Successivamente, la media dei valori di caduta di pressione tra ingresso e uscita della pompa centrifuga viene comparata con il valore medio di caduta di pressione

sperimentale, indicato in **Fig. 26** e **Fig. 27** rispettivamente per la pompa neonatale e adulta.

Tabella 3: parametri di simulazione per NB_PL1, NB_PL2, NB_PL3, A_PL1

	NB_PL1	NB_PL2	NB_PL3	A_PL1
Velocità di rotazione [rpm]	2500	3000	3500	2280
Portata in ingresso [kg/s]	0,00883	0,03530	0,01767	0,00883
Pressione in uscita [Pa]	0	0	0	0
Tempo di rivoluzione [s]	0,024	0,02	0,0171	0,0263
Time step [s]	$1,34 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	$9,52 \cdot 10^{-5}$	$1,46 \cdot 10^{-4}$

3.1.4. Stima dell'attivazione piastrinica

Particle tracking

Per valutare l'attivazione piastrinica della pompa New Born di Eurosets, vengono condotte delle simulazioni attraverso l'approccio del particle tracking. Questo metodo permette di calcolare le traiettorie di una fase discreta, iniettata all'interno della fase continua, utilizzando una formulazione lagrangiana. In questo studio la fase discreta è rappresentata da particelle sferiche di densità pari a quella del sangue e di diametro pari a $3 \mu\text{m}$, che simulano le piastrine. Il moto e la traiettoria delle particelle sono influenzati dalla fase continua, ma le piastrine non influenzano il comportamento di essa. Le simulazioni del particle tracking sono condotte tramite Ansys Fluent 22.2, nelle condizioni fluidodinamiche riportate sopra. Come discusso in precedenza, per simulare il flusso turbolento all'interno della pompa si è scelto di non utilizzare modelli di turbolenza, bensì la DNS, in quanto i modelli di turbolenza potrebbero introdurre semplificazioni e approssimazioni che possono influire sulla precisione delle traiettorie delle particelle, compromettendo i risultati del particle tracking. D'altro canto, la DNS fornisce informazioni precise sulle velocità e le fluttuazioni del flusso che influenzano il movimento delle particelle. Per il particle tracking viene utilizzato il "Discrete Phase Model", che permette di selezionare un "Unsteady Tracking", in modo che la traiettoria delle particelle avanzi ad ogni time step insieme alla simulazione tempo variante della

fase continua. Per simulare la forza di trascinamento della fase fluida, al quale sono sottoposte le piastrine all'interno del device, viene selezionata la "Spherical Drag Law" tra i parametri di trascinamento. L'iniezione delle particelle è stata definita tramite un file .inj, ottenuto da uno specifico tool di Matlab, che riporta per ogni particella le seguenti caratteristiche:

1. Posizione iniziale (coordinate x,y,z)
2. Velocità (u,v,w)
3. Diametro della paricella (d_p)
4. Temperatura della particella (T_p)
5. Mass Flow Rate

Il tool di Matlab definisce un pattern circolare per il posizionamento delle particelle su una sezione a valle dell'inlet definita nel file (**Fig. 28**). Questo permette di distribuire in maniera uniforme le piastrine sulla superficie ed evitare un accumulo di particelle a contatto con le pareti del condotto, come spesso accade utilizzando l'approccio di iniezione standard messo a disposizione da Ansys Fluent.

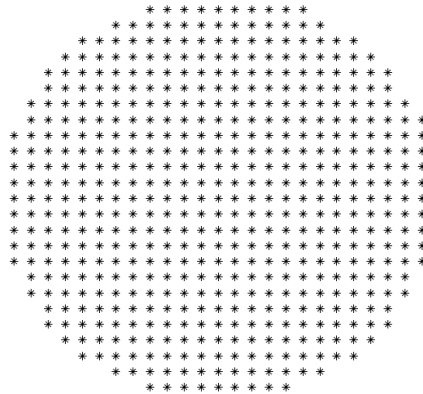


Figura 28: Pattern circolare di posizionamento delle particelle.

In tutte le simulazioni vengono iniettate 521 particelle con una sola iniezione. Per la fase discreta, vengono imposte le seguenti condizioni al contorno:

- *escape* sulle superfici di Inlet e di Outlet;
- *reflect* su tutte le altre pareti.

Estrazione dei dati

Un report automatico viene impostato all'interno di ogni simulazione in modo da ottenere un file di testo contenente i dati relativi a ogni particella rilasciata nel dominio in termini di:

1. ID della particella
2. Posizione in x, y, z
3. Scalar Stress

4. Tempo di residenza

Il file contenente la storia delle particelle viene successivamente processato tramite un codice all'interno del software Python. In particolare, vengono eliminati tutti i contributi di scalar stress agenti sulle particelle dovuti al loro passaggio nel tratto finale del tubo di inlet imponendo l'inizio della loro sollecitazione da quando entrano all'interno della voluta e inoltre, vengono rimossi i contributi di stress dati dal passaggio nell'outlet. Infine, viene costruita la matrice dei valori dello scalar stress per ogni particella in funzione del tempo. Tramite lo script Python vengono, inoltre, calcolate ed estratte due variabili di interesse:

1. Stress Accumulation (SA)
2. Shear Rate (SR)

Queste vengono discretizzate secondo i seguenti schemi:

$$SA = \sum_{i=1}^N \tau_i \cdot \Delta t \quad (3.6)$$

$$SR = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|\tau_{i+1} - \tau_i|}{\Delta t} \quad (3.7)$$

Calcolo del PAS

L'attivazione piastrinica dovuta alla circolazione del sangue all'interno della pompa centrifuga è valutata tramite il calcolo del Platelet Activation State (PAS). Il modello descrive la relazione tra le storie di carico dello stress delle piastrine, espresso dai valori dello scalar stress nel tempo, e l'evoluzione dell'attivazione piastrinica. Le componenti del tensore dello stress lungo le traiettorie, cioè le storie di stress delle piastrine, sono estratte per ogni particella e combinate in un unico valore scalare τ , chiamato scalar stress, seguendo la metodologia di Bludszuweit [33] (**eq. 2.1**).

Lo scalar stress $\tau(t)$ è utilizzato per calcolare lo stato di attivazione piastrinica, tramite il PAS, secondo il modello proposto da Soares et al. [27] e successivamente raffinato da Consolo et al. [26]. Questo modello valuta il PAS risolvendo la seguente equazione differenziale:

$$\frac{dPAS(t)}{dt} = K_0[PAS, \tau^{(t)}(s)](1 - PAS) \quad (3.8)$$

$$K_0[PAS, \tau^{(t)}(s)] = S(PAS, SA) + F(PAS, \tau) + G(PAS, SR) \quad (3.9)$$

con:

- K_0 il tasso di attivazione piastrinica indotta dallo stress meccanico quando il $PAS = 0$;
- $\tau^{(t)}(s)$ la storia dello shear stress della piastrina fino all'istante di tempo t ;

L'attivazione indotta dallo stress, inoltre, è guidata da tre fattori:

$$S(PAS, SA) = S_r \cdot PAS \cdot SA \quad (3.10)$$

$$F(PAS, \tau) = C^{\frac{1}{\beta}} \cdot \beta \cdot PAS^{\frac{\beta-1}{\beta}} \cdot \tau^{\frac{\alpha}{\beta}} \quad (3.11)$$

$$G(PAS, \dot{\tau}) = C_r^{\frac{1}{\delta}} \cdot \delta \cdot PAS^{\frac{\delta-1}{\delta}} \cdot |SR|^{\frac{\gamma}{\delta}} \quad (3.12)$$

con C , α , β , C_r , δ e γ costanti del modello riportate in **Tab.4**. In questo studio i valori del PAS sono calcolati utilizzando le costanti di Consolo.

Tabella 4: Costanti di Soares e Consolo.

	S_r	C	α	B	C_r	γ	δ
Soares	$1,5701 \text{ e}^{-7}$	$1,4854 \text{ e}^{-7}$	1,4854	1,4401	$1,3889 \text{ e}^{-4}$	0,5720	0,5125
Consolo	$1,5701 \text{ e}^{-7}$	$1,4854 \text{ e}^{-7}$	0,71825	0,72005	$2,78 \text{ e}^{-5}$	0,75	0,5125

Il primo termine $S(PAS, SA)$ tiene conto della sensibilizzazione piastrinica, che è dipendente dal corrente livello di attivazione piastrinica e dallo stress accumulation dell'intera storia di carico SA , definito dall'equazione (1.1). Il secondo ed il terzo termine dell'equazione (3.9), $F(PAS, \tau)$ e $G(PAS, SR)$, forniscono un contributo non lineare di attivazione e dipendono rispettivamente dal corrente livello di stress e dallo stress rate SR , definito dell'equazione (1.2).

Il file di testo contenente la storia completa di carico delle particelle, viene processato da tre moduli Matlab, permettendo la risoluzione delle equazioni differenziali associate al modello PAS descritto precedentemente. In questo modo, è possibile ottenere per ogni particella iniettata all'interno del dominio l'indice PAS, in particolare vengono estratti la media, la mediana e il 90 percentile.

A causa dell'elevato costo computazionale richiesto e della necessità di simulare le diverse condizioni di utilizzo in parallelo, le simulazioni per la pompa neonatale sono eseguite fino a 0,7 s di utilizzo, corrispondenti a 29 giri per NB_PL1, 35 giri per NB_PL2 e 41 giri per NB_PL3; mentre per la pompa adulta fino a 0,5 s, corrispondenti a 19 giri. Tutte le simulazioni numeriche vengono effettuate sulla macchina Intel® Xeon® Gold 6148 con 64.4 GB RAM da 40 core.

3.2. Studio sperimentale

L'attivazione piastrinica causata da dispositivi esterni a contatto con il sangue può essere valutata anche sperimentalmente tramite la procedura del PAS assay. Il PAS assay è un test chimico in grado di misurare la quantità di trombina prodotta dalle piastrine e di correlarla con il loro livello di attivazione. Questo permette di stimare il rischio di trombosi associato al dispositivo in modo da rendere il suo utilizzo più sicuro. Nel presente studio viene costruito il circuito per testare sperimentalmente in parallelo il potenziale trombogenico delle pompe centrifughe a levitazione magnetica New Born di Eurostes e PediVas di Abbott tramite il PAS assay, in modo da confrontare le caratteristiche della nuova pompa neonatale con quella della pompa pediatrica più utilizzata e diffusa in commercio oggi.

Nel seguente capitolo viene descritta la procedura del PAS assay e vengono riportate le diverse fasi che portano allo sviluppo di un circuito in grado di simulare le reali condizioni di utilizzo delle pompe in esame e garantire affidabilità e sicurezza durante tutta la durata dell'esperimento, rispettando i seguenti requisiti:

1. Basso volume di priming
2. Assenza di bolle
3. Strumenti di monitoraggio dei parametri di flusso
4. Facilità di utilizzo
5. Facilità di montaggio e smontaggio

3.2.1. PAS assay

Il PAS assay ha come obiettivo la valutazione del livello di attivazione delle piastrine a seguito della loro stimolazione. Nel presente lavoro si vuole valutare l'attivazione indotta dalla circolazione delle piastrine all'interno del circuito realizzato per replicare la circolazione extracorporea neonatale. Il PAS assay prevede diversi step:

1. Estrazione del PRP (Platelets Rich Plasma);
2. Estrazione del GFP (Gel Filtered Platelets);
3. Conta piastrinica;
4. Preparazione del campione per l'esperimento;
5. Stimolazione ed incubazione;
6. Sonicazione e lettura spettrofotometrica.

1. Estrazione del PRP

La prima fase del test prevede l'isolamento delle piastrine dalle altre componenti del sangue. Il sangue fresco intero, infatti, prelevato generalmente da ovini poche ore prima dell'esperimento, viene suddiviso in parti da 30 ml e immesso all'interno di Falcon da 50 ml che vengono centrifugate per separare il plasma ricco di piastrine (PRP) dalle cellule del sangue (**Fig. 29**). Il PRP è poi aspirato delicatamente, in modo da non sollecitare le

piastrine ed indurne l'attivazione, tramite l'utilizzo di una pipetta di Pasteur e versato in una nuova Falcon conica da 15 ml.

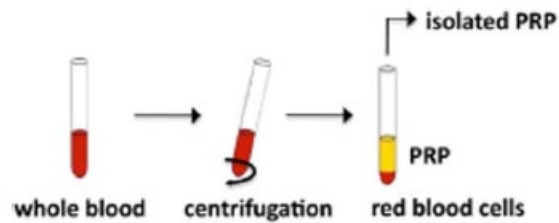


Figura 29: Rappresentazione schematica dell'estrazione del PRP.

2. Estrazione del GFP

Per estrarre le piastrine dal plasma bisogna eliminare dal PRP tutte le componenti proteiche. Questo viene fatto utilizzando un sistema di estrazione composto da tre elementi: la colonna, il gel per la filtrazione e le pompe peristaltiche. La soluzione ottenuta, contenente solo piastrine, prende il nome di Gel Filtered Platelets (GFP) (**Fig. 30**).

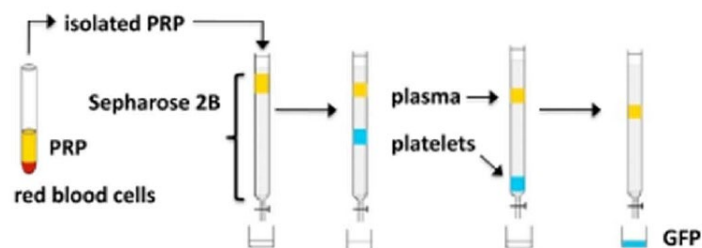


Figura 30: Rappresentazione schematica dell'estrazione del GFP.

La colonna è costituita da un cilindro in vetro e viene riempita con il gel Sepharose 2B, un gel costituito da sferette di agarosio (beads) con diametro tra 60 e 200 μm che, trattenendo le proteine plasmatiche presenti nel PRP, permettono il passaggio e la raccolta delle piastrine, le quali raggiungono l'uscita della colonna più rapidamente delle proteine (**Fig. 31**). La colonna ha due tappi, uno superiore e uno inferiore, entrambi dotati di un foro a cui è collegato un tubo in teflon che funge da canale fluidico di comunicazione tra l'interno e l'esterno della colonna. La soluzione di PRP viene inserita tramite il tappo superiore, mentre il GFP viene collezionato attraverso il tappo inferiore, dove è presente una membrana porosa in nylon (Woven mesh, Spectra/Chrom) con porosità di 10 μm per impedire la fuoriuscita del gel e consentire la raccolta del GFP. Quando la colonna non è utilizzata, essa viene riempita con sodio azide (SAz) allo 0,05% in acqua bidistillata (ddH₂O), che funge da battericida per prevenire la formazione di batteri nelle beads. Tuttavia, prima di processare il PRP, il SAz deve essere eliminato perché tossico per le piastrine. Per il lavaggio delle beads viene utilizzato il Platelet Buffer (PB9 1x) in ddH₂O, che è una soluzione tampone che mantiene le piastrine a pH fisiologico (7,4), condizione necessaria affinché le piastrine possano svolgere

correttamente la loro funzione. Le pompe peristaltiche sono collegate al canale di ingresso della colonna e vengono utilizzate per infondere le soluzioni di SAz per il lavaggio della colonna e di PB per la conservazione delle beads. In particolare, il PB 1x viene messo all'interno di un becher in cui è immerso il tubo in teflon collegato alla pompa peristaltica e al tappo di ingresso della colonna, affinché possa infondere al suo interno.



Figura 31: Sistema di estrazione del GFP: tre colonne riempite con gel di agarosio e tre pompe peristaltiche.

Prima di inserire il PRP all'interno delle colonne è necessario verificare se tutta la SAz sia stata eliminata e sostituita dal PB. Questa verifica viene eseguita con il rifrattometro (**Fig.32**), uno strumento ottico che misura l'indice di rifrazione (IR), specifico di ogni soluzione, e lo esprime in gradi Brix.



Figura 32: Rifrattometro 101 ATC di Sper Scientific.

Per misurare l'IR, viene depositata una piccola goccia della soluzione di interesse sul prisma del rifrattometro. L'IR del SAz ha valore zero, mentre quello del PB 1x è di 1,5. Nel momento in cui il valore dell'IR restituito dal rifrattometro è di 1,5, si può procedere alla filtrazione del PRP. Per verificare che il SAz sia stato completamente rimosso dalla colonna e sostituito con il PB 1x, la procedura viene ripetuta circa ogni 10 minuti durante l'esperimento. Il PRP viene prelevato dalla Falcon con una pipetta di Pasteur e versato delicatamente all'interno della colonna a parete, per evitare l'attivazione delle piastrine dovuta all'impatto sulla superficie delle beads. Durante il processo di filtrazione, viene monitorata la densità delle gocce che fuoriescono dalla colonna dal tappo inferiore.

Quando le piastrine iniziano a uscire dalla colonna, si può facilmente distinguere la diffusione delle particelle all'interno del becher contenente l'acqua: la goccia contenente le piastrine appare più opaca e densa rispetto all'acqua. Nel momento in cui viene vista la prima goccia contenente piastrine, che risulta più densa e opaca, si inizia a collezionare il GFP all'interno di una Falcon da 15 ml. Il volume di GFP raccolto deve essere pari al volume di PRP filtrato. Una volta terminata la raccolta, la Falcon contenente il GFP viene messa su uno shaker basculante in attesa di procedere alle fasi successive del test. La procedura di filtrazione permette di ottenere il campione piastrinico desiderato, che verrà utilizzato per il PAS assay.

3. Conta piastrinica

La conta delle piastrine nel GFP viene effettuata tramite un contatore di particelle, strumento che consente di contare particelle di dimensioni note sospese in una soluzione elettrolitica. Per eseguire la conta delle piastrine con il Coulter Particle Counter (**Fig.33**), vengono prelevati 10 μ l di GFP dalla Falcon e inseriti in una coulter cup contenente 10 ml di soluzione isotonica (soluzione fisiologica di NaCl al 0,9%, utilizzata come soluzione elettrolitica). Durante la lettura, la macchina aspira dalla cup un volume di soluzione (Volume Metered) pari a 100 μ l e restituisce il valore delle piastrine contate all'interno di tale volume. Per ottenere la concentrazione di piastrine espressa in piastrine/ μ lGFP, il risultato ottenuto deve essere moltiplicato per 10.



Figura 33: Coulter Particle Counter.

4. Preparazione del campione

Per eseguire il PAS assay, è necessario preparare un campione piastrinico che venga sottoposto alla successiva stimolazione all'interno del circuito. Questo campione viene preparato in modo da avere una concentrazione piastrinica di 20×10^3 piastrine/ μ l all'interno del circuito. Per raggiungere questa concentrazione, il GFP viene diluito con una soluzione di Platelet Buffer 1x (PB 1x) e CaCl_2 50 mM. Il volume di campione finale

da preparare è stabilito in base allo specifico esperimento da condurre. Le quantità di GFP, PB 1x e CaCl₂ 50 mM per la preparazione del campione vengono calcolate in base alle formule riportate in **Tab. 5**.

Tabella 5: Equazioni per la determinazione del volume del campione finale.

Volume di priming [ml]	Volume GFP [ml]	Volume CaCl ₂ 50 mM [ml]	Volume PB 1x [ml]
X	$\frac{20 \times 10^3}{\text{piastrine}/\mu\text{l}} \cdot X$	$0,06 \cdot X$	$X - Vol_{GFP} - Vol_{CaCl_2}$

5. Stimolazione ed incubazione

Il campione viene fatto circolare all'interno del circuito per 120 minuti, simulando il reale tempo di utilizzo della pompa. Durante la prova vengono effettuati dei prelievi a tempi differenti per valutare l'evoluzione dello stato di attivazione delle piastrine. Ad ogni tempo prestabilito viene prelevato un volume di 25 μl e viene inserito all'interno di Eppendorf contenenti 70 μl di una soluzione, precedentemente incubata per 10 min a 37°C, costituita da:

- Ac-FII+HBS:BSA-PEG: 25 μl FII + 300 μl HBS:BSA-PEG
- 1.5 ml di HBS:BSA
- 300 μl di CaCl₂

In particolare, l'Ac-FII è necessaria per eliminare il meccanismo di feedback positivo fisiologico.

Successivamente vengono aggiunti 5 ml di FXa costituito da:

- 196 μl di HBS:BSA-PEG + 4 μl FX

che permette la generazione il complesso protrombinase. Infine, il campione ottenuto viene incubato per ulteriori 10 minuti a 37°C.

6. Sonicazione e lettura spettrofotometrica

Dopo la fase di incubazione, vengono prelevati 10 μl da ogni campione e vengono posti in un pozzetto dello spettrofotometro, strumento che misura l'assorbimento di radiazioni elettromagnetiche monocromatiche nel campo del visibile o dell'ultravioletto da parte di molecole. Lo strumento viene caricato precedentemente con una soluzione chiamata Well, che contiene CH-TH, cromoforo utilizzato per quantificare l'attivazione piastrinica generata dalle sollecitazioni prodotte sulle piastrine, disciolto in una soluzione di NaCl

0.15 M. Quando le piastrine producono trombina in seguito alla loro attivazione, il cromoforo emette un'onda luminosa la cui assorbanza viene misurata alla lunghezza d'onda di 405 nm dallo spettrofotometro. La soluzione Well contiene anche HBS:BSA + EDTA 5 mM, che ferma la reazione di conversione del FII in FIIa durante la lettura in spettrofotometria, grazie al sequestro del Ca^{2+} da parte dell'EDTA. In questo modo, viene rilevata solo la trombina generata durante i dieci minuti di incubazione nel bagno termostato a 37°C. L'analisi spettrofotometrica consente di quantificare l'attivazione piastrinica dei campioni stimolati, rilevando la variazione del valore di assorbanza del campione ai diversi intervalli di tempo. La pendenza della curva ottenuta rappresenta la variazione di assorbanza e fornisce un indice della quantità di trombina prodotta dal campione piastrinico, ovvero del livello di attivazione del campione in esame.

Al tempo zero e alla fine dell'esperimento vengono inoltre attuati due prelievi di campioni piastrinici dal circuito che, prima di essere analizzati nello spettrofotometro, vengono sonicati. La procedura viene effettuata tramite il sonicatore a sonda (**Fig.34**), che utilizza onde di espansione e compressione ad alta frequenza (dell'ordine delle decine di kHz) per attivare le piastrine. Quando gli ultrasuoni si propagano nei liquidi, possono creare le condizioni favorevoli per la cavitazione, un fenomeno fisico in cui le bolle di gas presenti nel liquido vengono soggette a compressione e successivo collasso violento. Tale processo induce un elevato livello di attivazione delle piastrine. Questa procedura consente di valutare il massimo livello di attivazione meccanica ottenibile, al fine di confrontarlo con il livello di attivazione indotto dal solo circuito. Il valore di attivazione ottenuto dal campione a seguito dell'esperimento, infatti, viene normalizzato rispetto al massimo valore ottenuto tra i due campioni sonicati o rispetto alla media dei due e viene poi espresso in percentuale.



Figura 34: Sonicatore a sonda.

3.2.2. Set-up sperimentale per il dimensionamento del post carico

L'obiettivo dello studio, come già menzionato, è la realizzazione del circuito per testare in parallelo, tramite la procedura del PAS assay appena descritta, la pompa New Born di Eurosets e la PediVas di Abbott alla stessa condizione operativa, riportata in **Tab. 6**.

Al fine di effettuare il test nelle condizioni desiderate, viene svolta un'analisi preliminare per determinare il post carico da utilizzare. Se si desidera ottenere una portata di 1 l/min, fissando la velocità di rotazione a 3500 rpm e 4000 rpm, bisogna realizzare un circuito che fornisca un carico idraulico a valle della pompa di 250 mmHg. La prima scelta che viene fatta è l'elemento da utilizzare come post-carico: diversi studi in cui viene replicato il circuito ECMO utilizzano l'ossigenatore, ma il riempimento di un circuito di questo tipo comporta un volume di priming di circa 200/300 ml. In questo studio, al contrario, uno dei requisiti è minimizzare il volume di priming in modo da utilizzare un'unica sacca di sangue su entrambi i circuiti. Se il priming fosse elevato non si avrebbero abbastanza piastrine da inserire in entrambi i flow loop. Per questo motivo come post carico si sceglie di utilizzare dei tubi dal diametro di 3,5 mm e lunghezza di 217 cm, dimensione ottenuta dal calcolo analitico considerando la portata e il ΔP desiderato. Il test preliminare determina, quindi, se la lunghezza stimata analiticamente garantisce il ΔP desiderato.

Tabella 6: Condizioni operative per il test sperimentale per New Born e PediVas

	Portata [l/min]	Velocità di rotazione [rpm]	ΔP [mmHg]
New Born	1	3500	250
PediVas	1	4000	250

Al fine di dimensionare i tubi di post carico viene effettuato un test preliminare con un circuito (**Fig 35**) costituito da:

- Tubo da 1/4'' di lunghezza 80 cm
- Tubo di post carico di lunghezza 217 cm
- Bobina con diametro di 21 mm
- Pompa roller a immersione
- Reservoir
- Flussimetro (Transonic)
- Manometro (SMC ZSE30AF)
- Connettore 1/4'' - 1/4''
- Connettore 1/4'' - 3,5 mm
- 1 rubinetto a 2 vie Luer Lock (LL)

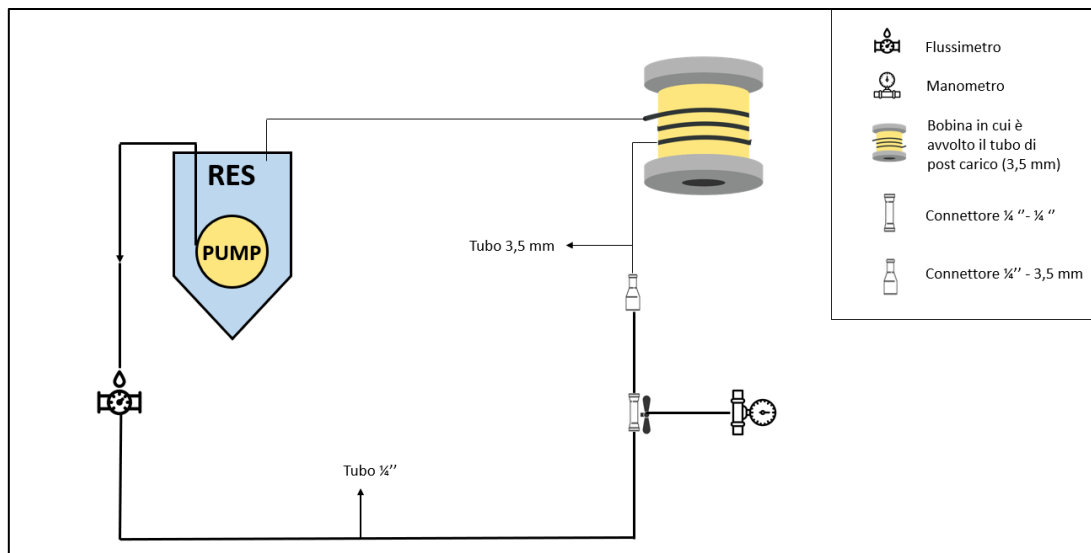


Figura 35: Elementi del circuito realizzato per il dimensionamento dei tubi di post carico.

Il reservoir viene riempito con acqua distillata e al suo interno viene posizionata una pompa roller ad immersione, di cui viene variata la portata tramite un regolatore di tensione. All'outlet della pompa viene inserito il tubo da 1/4" sul quale viene posizionato il flussimetro in modo da monitorare la portata. All'estremità opposta del tubo viene posizionato un connettore 1/4" - 1/4" con attacco per rubinetto LL a 2 vie sul quale verrà inserito il manometro. Il tubo da 1/4" viene poi collegato al tubo di post-carico tramite il connettore 1/4" - 3,5 mm. Per rendere il circuito più maneggevole e meno ingombrante il tubo di post-carico viene avvolto in una bobina posizionata in modo tale da poter poi inserire l'estremità finale del tubo di post-carico all'interno del reservoir contenente l'acqua. In questo modo, essendo l'estremità del tubo a pelo libero, e quindi a pressione atmosferica, sul manometro viene visualizzato direttamente il valore di caduta di pressione a cavallo del tubo post-carico. Il test viene ripetuto due volte e prevede il calcolo della caduta di pressione a cavallo del post carico al variare della portata. In particolare, viene letto sul manometro il valore di ΔP per portate crescenti da 0,1 a 1,2 l/min con un incremento di 0,1 l/min. Per poter valutare la caduta di pressione dovuta esclusivamente ai tubi di post-carico è necessario sottrarre il contributo di resistenza dovuto alla presenza del connettore 1/4" - 3,5 mm in ingresso al tubo di post-carico, posizionato dopo il manometro. Per questo, analiticamente viene calcolata la perdita di carico concentrata come:

$$\Delta P_c = \frac{\alpha \cdot \rho \cdot v^2}{2} \quad (3.13)$$

con:

α un coefficiente che dipende dal tipo di discontinuità

ρ la densità del fluido

v la velocità media in ingresso al tubo di post-carico

Oltre a valutare sperimentalmente il valore del post carico, viene calcolata anche analiticamente la caduta di pressione ad ogni punto di lavoro del test. In particolare, le perdite di carico distribuite in un condotto cilindrico vengono calcolate come:

$$\Delta P_d = f(Re) \frac{\rho \cdot v^2 \cdot l}{2 \cdot D_c} \quad (3.14)$$

con:

$f(Re)$ il fattore di attrito

ρ la densità del fluido

v la velocità media del fluido

l la lunghezza del condotto

D_c la dimensione caratteristica

In particolare, si può osservare che il fattore di attrito dipende dalla costante di Reynolds, che viene calcolata per stabilire il regime di flusso ad ogni portata, secondo l'equazione (3.1). In base al valore ottenuto, il fattore di attrito viene calcolato come:

$$\begin{cases} \frac{64}{Re} & \text{Laminare } (Re < 2500) \\ 0,316 \cdot Re^{-\frac{1}{4}} & \text{Turbolento } (Re > 3500) \end{cases} \quad (3.15)$$

Calcolando così, infine, il valore delle perdite di carico distribuite ad ogni portata imposta.

3.2.3. Set-up sperimentale per il test del PAS assay

Dopo aver effettuato il test preliminare per il dimensionamento dei tubi di post carico e determinato la lunghezza corretta dei tubi da utilizzare, vengono costruiti in parallelo due circuiti per il test di valutazione dell'attivazione piastrinica della pompa New Born di Eurosets e di PediVas di Abbott. I circuiti realizzati presentano gli stessi componenti, eccetto per le console che sono specifiche per ogni pompa. Ogni circuito è composto da:

- Pompa
- Console

- Bobina di diametro 21 mm
- Tubi con diametro 1/4" di lunghezza: 4,5 cm, 9 cm, 9 cm, 11 cm, 12,5 cm
- 1 tubo di post carico con diametro 3,5 mm di lunghezza 217 cm
- Flussimetro (Transonic)
- 2 manometri (SMC ZSE30AF)
- 3 siringhe da 20 ml
- 1 connettore 1/4" – 1/4"
- 2 connettori 1/4" – 3,5 mm
- 1 rubinetto a 3 vie Luer Lock (LL)
- 2 rubinetti a 2 vie Luer Lock (LL)

La realizzazione del circuito definitivo è preceduta da una fase di riempimento e di rimozione delle bolle, tramite un circuito secondario (Fig. 36), in cui sono presenti i seguenti elementi aggiuntivi:

- Reservoir
- 1 tubo con diametro 3/8" di lunghezza 7 cm
- 1 connettore 3/8" – 1/4"
- 2 clamp

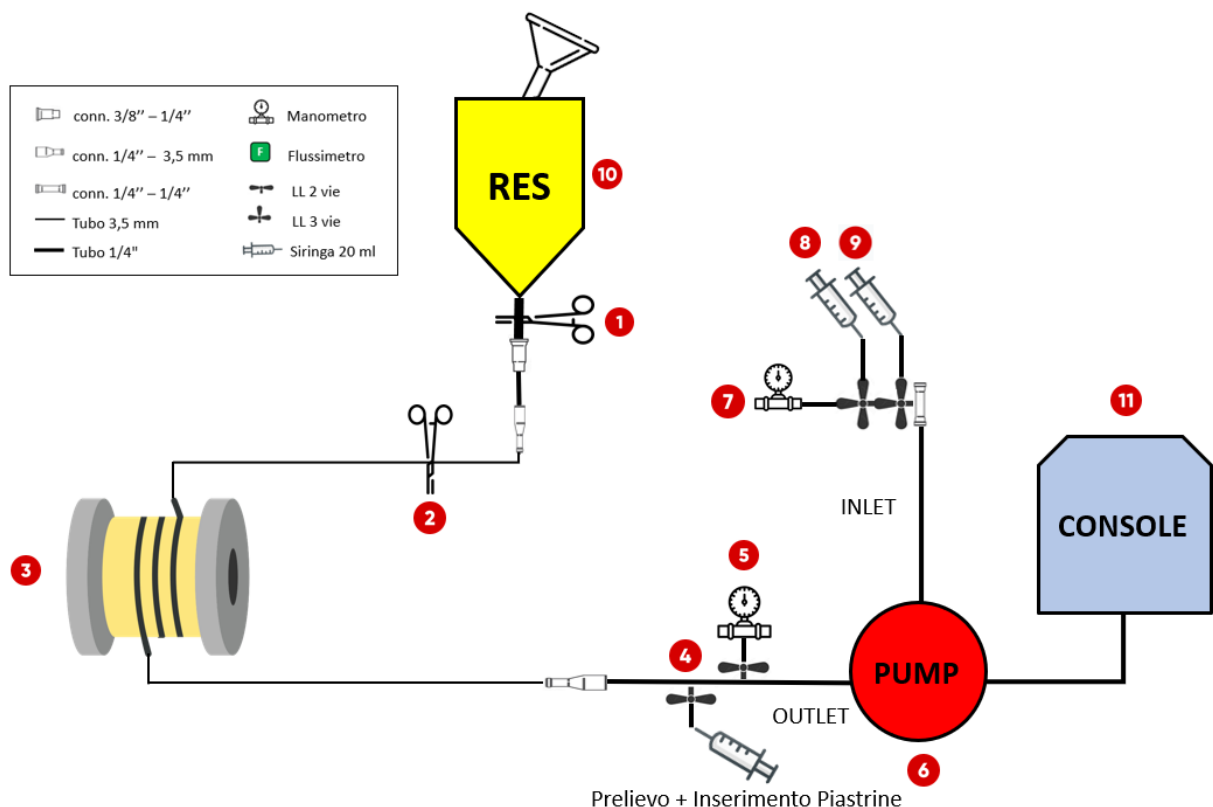


Figura 36: Rappresentazione schematica del circuito per il riempimento e rimozione delle bolle: clamp (1,2), bobina per avvolgimento post carico (3), siringa per inserimento e prelievo piastrine (4), manometro (5,7), pompa (6), siringhe per regolare la pressione (8,9), reservoir (10), console (11) .

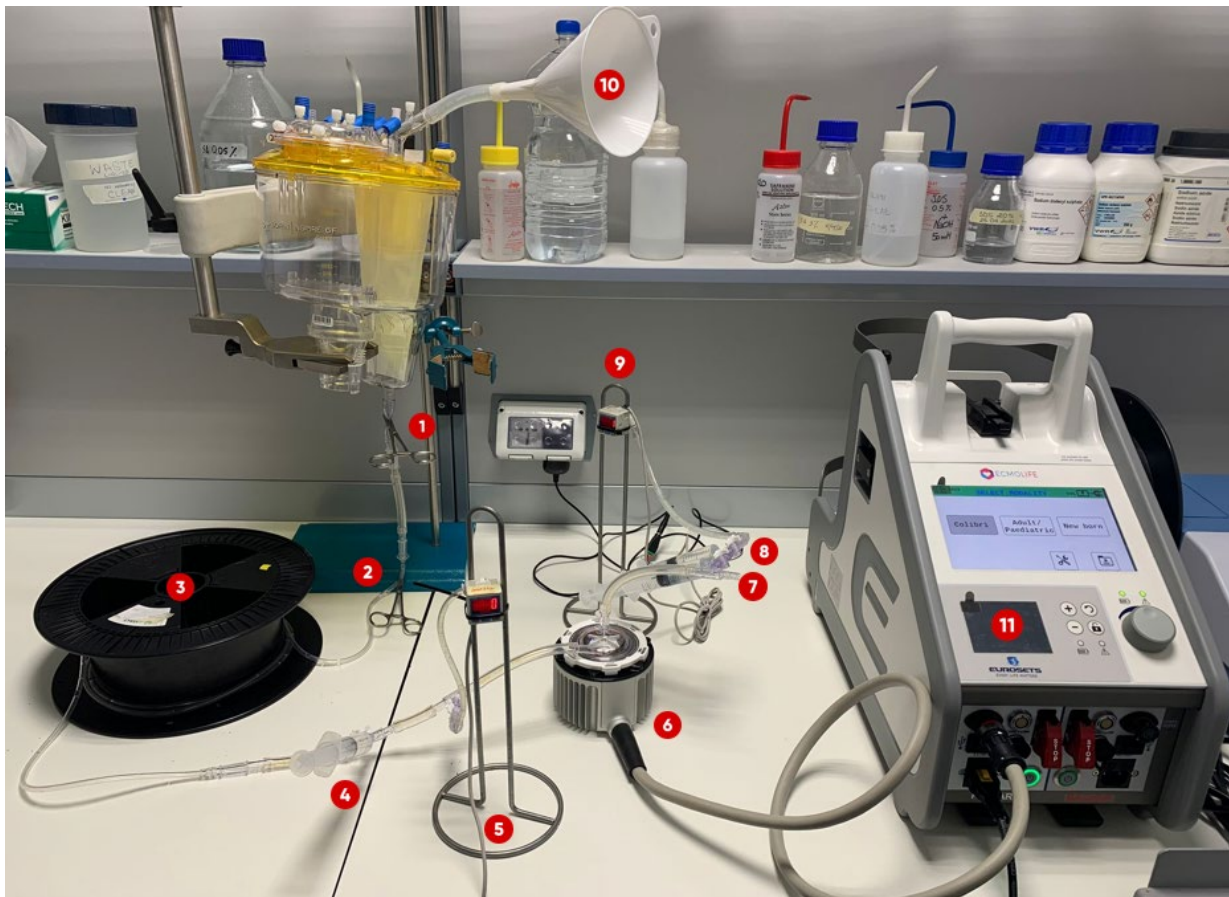


Figura 37: Rappresentazione reale del circuito per il riempimento e rimozione delle bolle: clamp (1,2), bobina per avvolgimento post carico (3), siringa di inserimento e prelievo piastrine (4), manometro (5,7), pompa (6), siringhe per regolare la pressione (8,9), reservoir (10), console pompa (11).

Per garantire l'assenza di bolle è importante eseguire con precisione i seguenti step:

1. Posizionare clamp 1 e 2, la prima all'uscita del reservoir nel tubo da 3/8" e la seconda nel tubo di post carico da 3,5 mm;
2. Versare nel reservoir 200 ml di PB dall'imbuto;
3. Aprire la clamp 1, per permettere la fuoriuscita delle prime bolle dalla superficie libera del reservoir;
4. Riposizionare la clamp 1;
5. Aprire la clamp 2;
6. Aprire lentamente la clamp 1 per limitare la formazione delle bolle e riempire la restante parte del circuito;
7. Rimuovere il tubo da 3,5 mm dal reservoir;
8. Collegare il tubo da 3,5 mm alla pompa tramite il connettore 1/4" – 1/4", avendo cura di non inglobare aria.

Una volta ottenuto il circuito chiuso viene azionata la pompa e viene fatto circolare il PB: se sono presenti eventuali bolle che sono state immesse involontariamente nella fase di riempimento, una volta che la pompa viene attivata, queste si andranno a posizionare al di sopra del rotore, zona a basso potenziale. Nel tubo di inlet della pompa è presente un

accesso al circuito, costituito da due rubinetti a tre vie LL in uno di quali è collegata una siringa. A circuito spento, le bolle vengono convogliate verso questo accesso ed eliminate facilmente. Inoltre, la stessa siringa viene utilizzata per mantenere il volume di priming costante durante i prelievi dell'esperimento, tramite l'inserimento di altro PB. Al secondo rubinetto a tre vie sono collegati un manometro, per misurare la pressione in ingresso alla pompa e una seconda siringa, che permette di regolare la pressione.

4 Risultati

4.1. Studio Computazionale

In questo capitolo vengono analizzati i risultati ottenuti dalle simulazioni precedentemente descritte, in termini di fluidodinamica e di attivazione piastrinica del sangue all'interno della pompa.

In particolare, per l'analisi fluidodinamica vengono riportate le curve prevalenza-portata, i campi di pressione e velocità e vengono valutati l'andamento di Wall Shear Stress (WSS), di Scalar Stress (SS) e le zone di maggiore stagnazione; per quanto concerne l'attivazione piastrinica, invece, vengono esaminati i parametri di Stress Accumulation (SA), Shear Rate (SR), Tempo di residenza (T_{traj}) e Platelets Activation State (PAS).

I risultati riportati permettono di caratterizzare la pompa pediatrica nelle tre configurazioni prese in esame e inoltre, di confrontare le sue prestazioni con quelle della pompa adulta in condizioni operative pediatriche e a parità di tempo di utilizzo.

4.1.1. Analisi fluidodinamica

Qualità della mesh

In **Tab. 7** sono riportati i valori dei parametri di qualità della mesh realizzata per la pompa centrifuga neonatale oggetto di studio. I risultati ottenuti rientrano in tutti e tre i casi nei range che definiscono una buona qualità della mesh.

Tabella 7: Parametri di qualità della mesh.

	Max.	Min.	Media
Aspect Ratio	34	1	1,89
Orthogonal Quality	1	0,02	0,78
Skewness	0,98	5,2e-10	0,22

Curve Prevalenza – Portata

Il modello computazionale utilizzato per la valutazione della pompa centrifuga neonatale viene validato tramite il confronto dei dati di pressione ottenuti dalle simulazioni con quelli sperimentali forniti dall'azienda costruttrice. In particolare, la media calcolata su ogni giro dei valori di caduta di pressione tra ingresso e uscita della pompa centrifuga viene comparata con il valore medio di caduta di pressione ottenuto dalla curva

sperimentale prevalenza-portata, in tutti e tre i casi studiati, evidenziati in Fig. 26. Di seguito viene riportato l'andamento della caduta di pressione (ΔP) durante i primi quattro giri simulati della pompa, nelle tre configurazioni (Fig. 38).

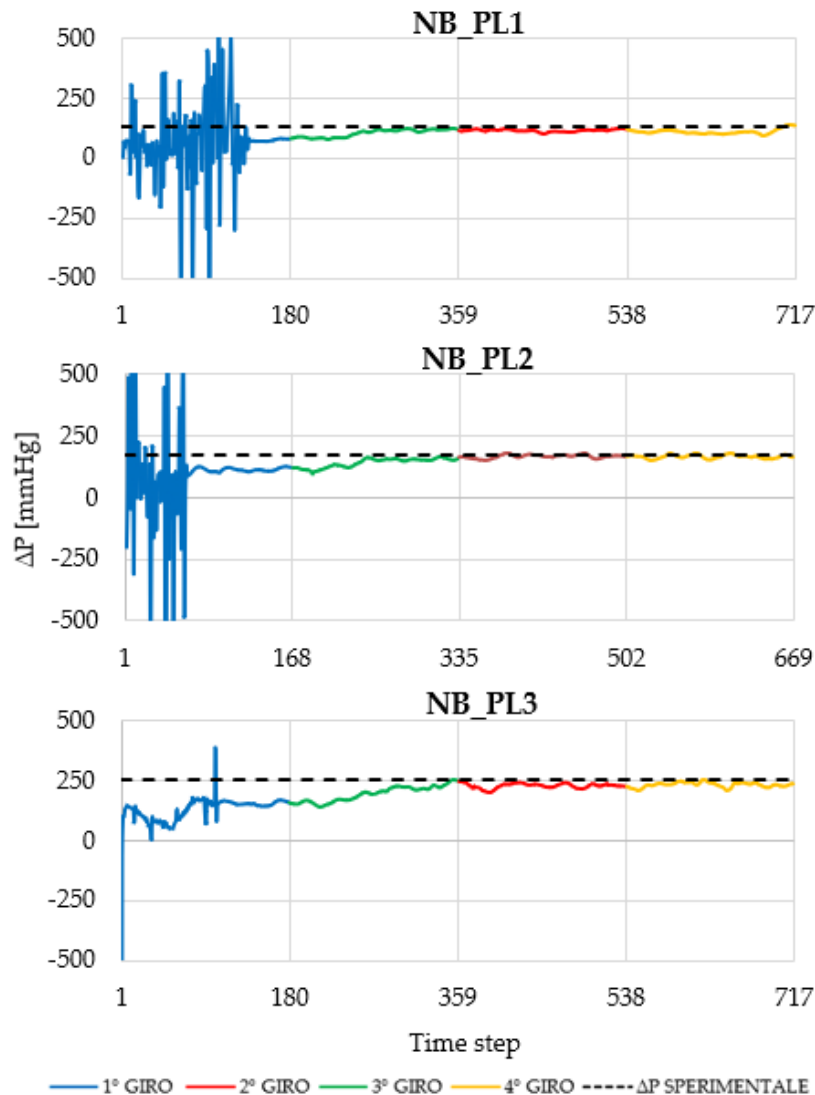


Figura 38: Confronto tra l'andamento del ΔP computazionale e il valore sperimentale nei primi quattro giri in NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

Come si può notare in tutti i e tre i casi la caduta di pressione durante il primo giro presenta un andamento oscillante. Questo comportamento si attenua durante i giri successivi, in cui il valore di pressione tende a quello sperimentale, grazie alla stabilizzazione della simulazione. In Tab. 8 è riportato il valore medio del ΔP computazionale calcolato considerando tutti i giri simulati: si nota che lo scostamento percentuale dal valore sperimentale è inferiore al 5% in tutti e tre i casi e questo permette di affermare che il modello computazionale è adeguato a rappresentare in maniera accurata la fluidodinamica della pompa centrifuga neonatale in esame.

Tabella 8: Confronto tra il ΔP medio computazionale e il ΔP medio sperimentale nei tre punti di lavoro della pompa neonatale.

	NBPL1	NBPL2	NBPL3
ΔP medio computazione [mmHg]	121,8	169,8	242,1
ΔP medio sperimentale [mmHg]	128	169,6	253,3
Differenza [%]	4,8%	-0,1%	4,4%

Inoltre, per verificare che il modello computazionale della pompa adulta, sviluppato da Bozzi et. al [32], sia adeguato a simulare la condizione operativa neonatale con velocità di rotazione 2280 rpm e una portata di 0,5 l/min, anche in questo caso viene confrontato il valore computazione della caduta di pressione media tra ingresso e uscita dalla pompa con quello sperimentale pari a 128 mmHg. Come si può notare dal grafico in Fig. 39, l'andamento della caduta di pressione, dopo il primo giro, si aggira intorno al valore medio sperimentale, con uno scostamento medio calcolato al quarto giro del 5%. Questo risultato conferma l'efficacia del modello computazionale anche della pompa adulta.

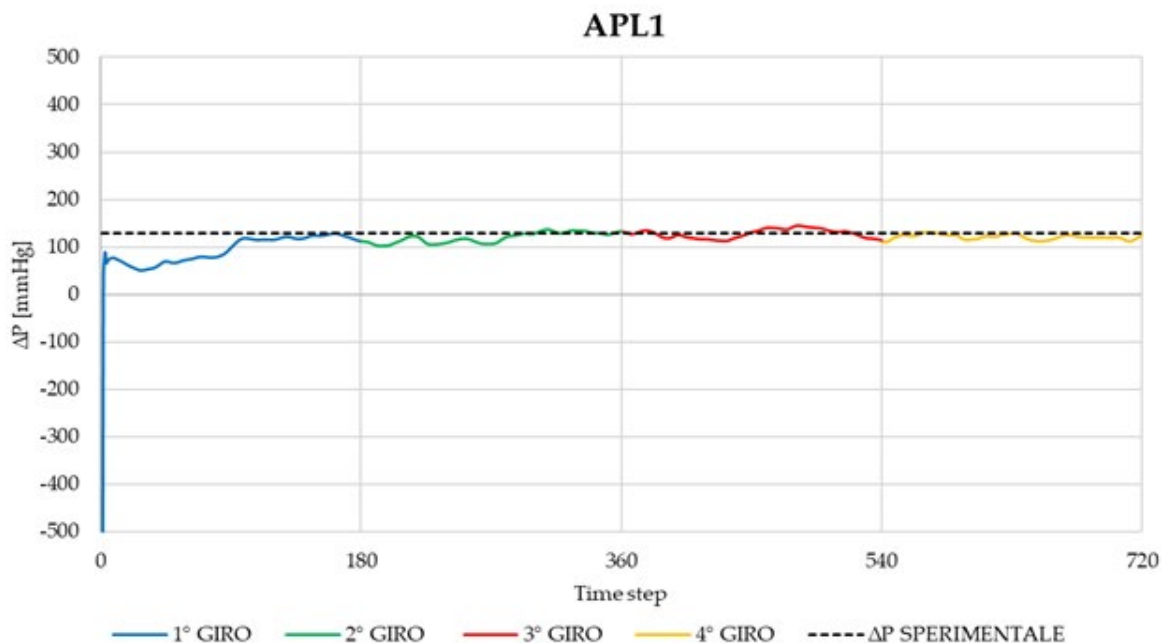


Figura 39: Confronto tra l'andamento del ΔP computazionale e il valore sperimentale nei primi quattro giri in A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).

Analisi dei campi di pressione e velocità

La pompa neonatale di Eurosets è una pompa centrifuga a levitazione magnetica e come tale sfrutta un campo magnetico per sostenere il rotore, riducendo, rispetto alle pompe tradizionali, l'attrito e l'usura tra le parti. In questo modo è consentito un flusso sanguigno continuo e uniforme, con un minore rischio di emolisi e coagulazione del sangue. Inoltre, per la presenza del washout hole lungo l'asse della girante, si verifica un flusso secondario che permette un ricircolo ulteriore, riducendo le zone di potenziale stagnazione. Infatti, come è possibile vedere dall'andamento dei vettori di velocità in **Fig. 40**, il sangue non catturato dalla forza centrifuga delle pale raggiunge il fondo dell'impeller e successivamente si dirige verso l'outlet, passando prima tra le pareti laterali del rotore.

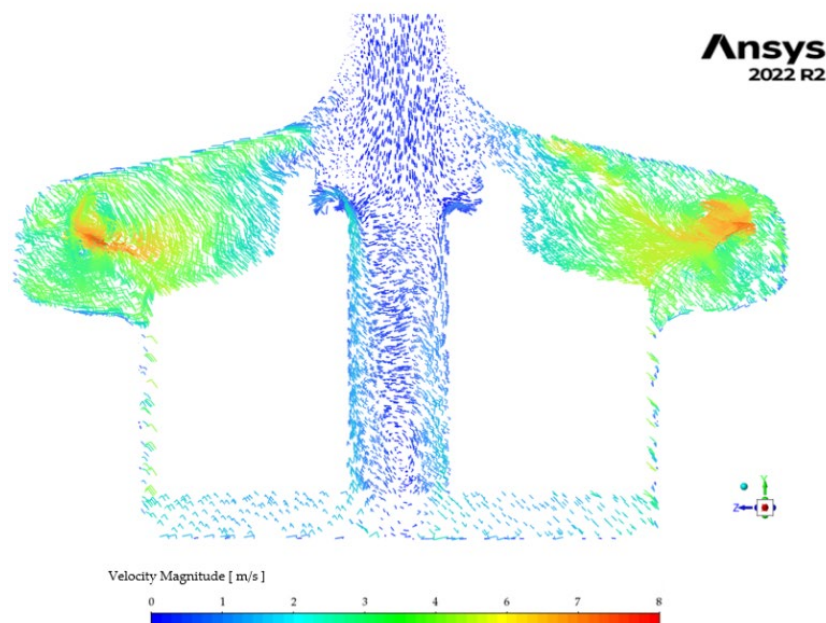


Figura 40: Vettori di velocità nel piano ZY ($x=0$ mm) che mostrano il flusso secondario generato dalla presenza del washout hole.

È possibile, inoltre, osservare dalle contour map dei campi di velocità e pressione riportate di seguito (**Fig. 41**) che le zone centrali e inferiori della pompa sono caratterizzate da basse velocità e pressioni, che aumentano progressivamente nella parte più esterna della voluta a causa dell'azione propulsiva delle pale. Infatti, il sangue che entra dall'ingresso viene accelerato dalla forza centrifuga, muovendosi radialmente lungo le pale e raggiungendo la massima velocità e pressione in corrispondenza delle estremità, per entrare poi nella voluta periferica e dirigersi verso il tubo di uscita. Confrontando le tre condizioni, in generale, è possibile notare che la pressione diminuisce da NB_PL1 a NB_PL3, questo accade poichè aumenta rispettivamente la prevalenza della pompa nei tre punti di lavoro. Inoltre, si osserva che in NB_PL2 il fluido in ingresso ha una velocità maggiore rispetto agli altri due casi. Questo è spiegato dal fatto che una maggiore portata in ingresso, a parità di sezione, porta a un aumento della velocità, per

il principio di conservazione della massa. I picchi di velocità in modulo più elevati si verificano in NB_PL3, risultato previsto in quanto si ha la velocità di rotazione maggiore (Fig. 42). Una prima analisi di confronto tra la pompa neonatale e adulta, allo stesso punto di lavoro, riguarda anche in questo caso, i campi di pressione e velocità (Fig. 43).

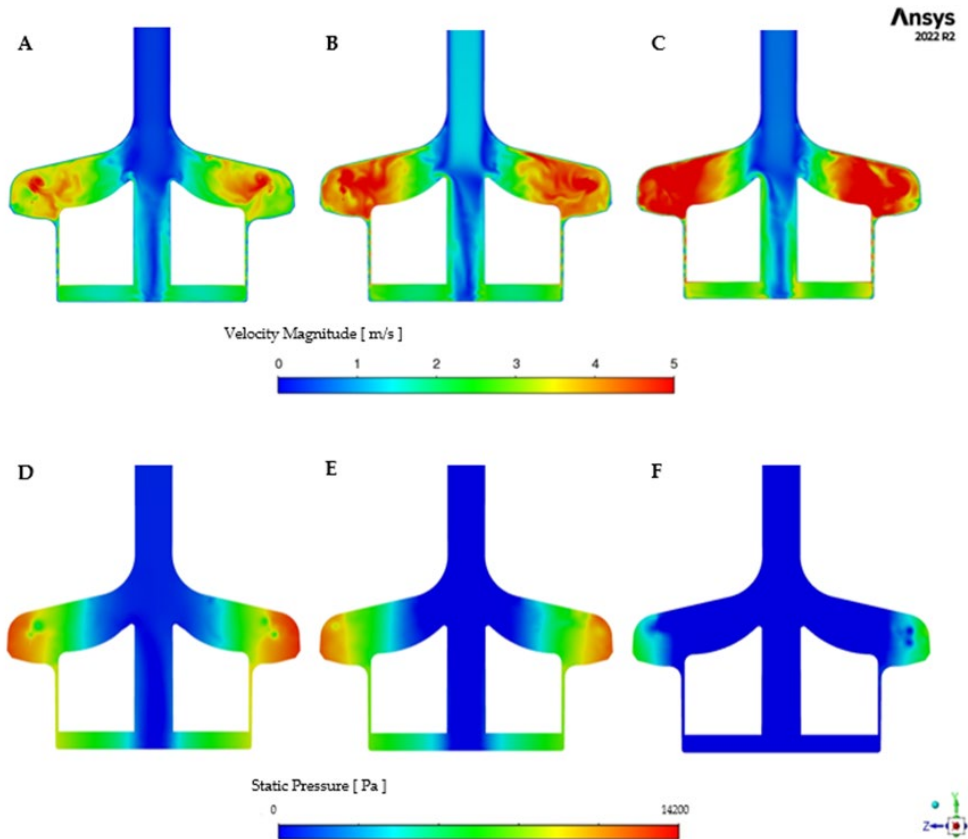


Figura 41: Campo di velocità (in alto) e campo di pressione (in basso) nel piano ZY ($x=0$ mm): (A, D) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B, E) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C, F) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

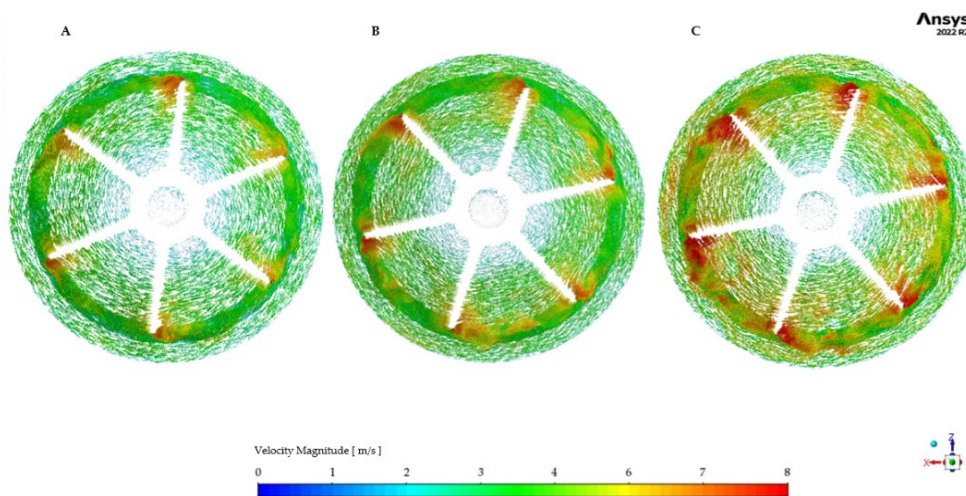


Figura 42: Vettori di velocità nel piano ZX ($y=0.0065$ mm): (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

La pompa adulta presenta velocità più basse in prossimità del condotto di ingresso rispetto alla NB_PL1 in quanto, a parità di portata, un diametro maggiore comporta una minore velocità. Nella cupola, invece, si possono notare maggiori zone di fluido ad alte velocità, che risultano meno preponderanti nella pompa neonatale, anche se quest'ultima ruota con una velocità di rotazione maggiore. Questo è dovuto al fatto che il rotore nella pompa adulta possiede un raggio maggiore e delle pale più estese, che conferiscono al fluido una velocità più elevata. Infine, rilevante è che nel washout hole della pompa neonatale il fluido si muove più velocemente, favorendo un maggiore ricircolo. Anche in questo caso, in entrambe le configurazioni la pressione aumenta dal centro della pompa alla zona più esterna. La distribuzione delle pressioni nei due casi risulta molto simile in quanto le due pompe lavorano alla stessa condizione operativa, ovvero presentano la stessa caduta di pressione tra ingresso e uscita. Si riscontrano pressioni leggermente superiori in NB_PL1, in quanto le dimensioni minori della pompa neonatale costituiscono una maggiore resistenza al flusso.

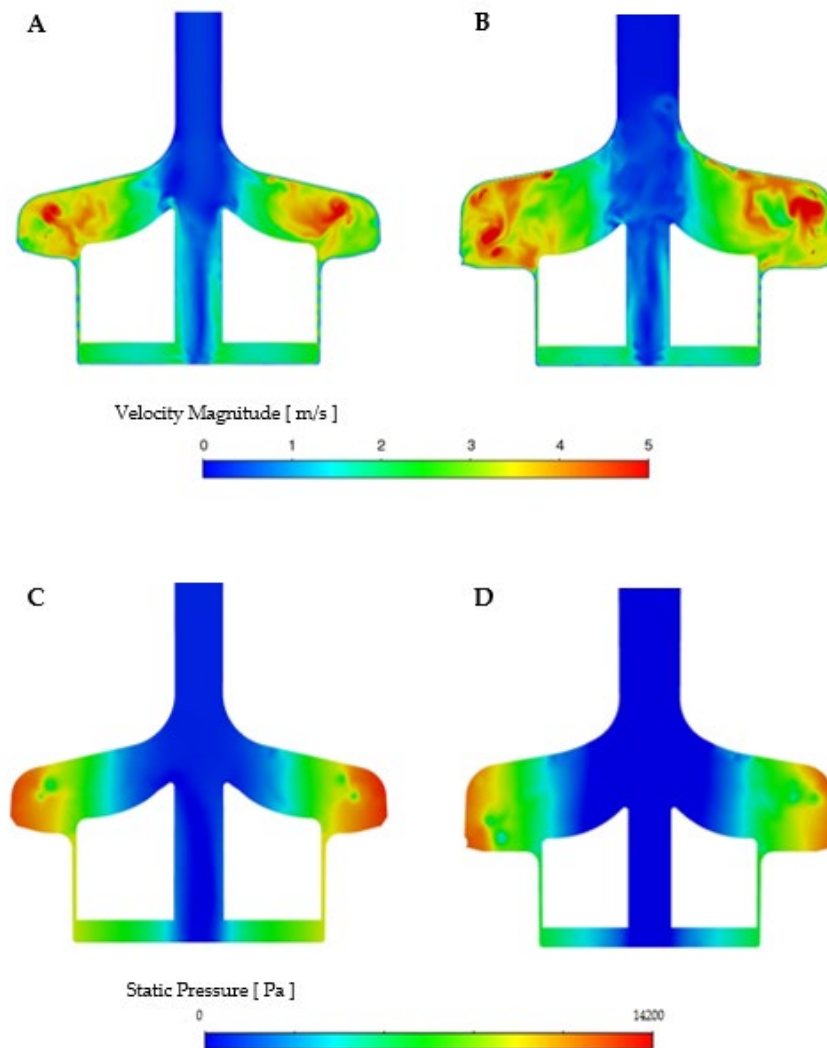


Figura 43: Campo di velocità (in alto) e campo di pressione (in basso) nel piano ZY ($x = 0 \text{ mm}$): confronto tra (A, C) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e (B, D) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).

Zone di stagnazione

Le zone di stagnazione sono aree in cui la velocità del sangue raggiunge valori molto bassi. In queste zone si verifica una stasi delle cellule del sangue, che favorisce il rischio di aggregazione e formazione di trombi [43]. Di conseguenza, la loro valutazione fornisce un'indicazione rilevante sul potenziale trombogenico del dispositivo.

Nel presente studio vengono considerate zone di stagnazione tutti quei volumi di fluido in cui la velocità è minore di 0,5 m/s. Come si può notare dalla **Fig. 44**, le zone di stagnazione si concentrano sui laterali dello statore, all'uscita della pompa e, in particolare, all'ingresso della voluta, a causa del rallentamento del fluido allo sbocco del tubo di ingresso. Per un'analisi più approfondita viene effettuato il calcolo quantitativo di alcuni indici rilevanti che vengono riportati in **Tab. 9**. In particolare, per le zone di stagnazione viene calcolato il volume di fluido caratterizzato da velocità minori di 0,5 m/s. Nel calcolo di questo indice vengono escluse le zone di stagnazione presenti all'ingresso della voluta, in quanto si ritiene che non costituiscano un rischio significativo per la stasi cellulare e l'aggregazione. Infatti, in questa zona il fluido non stagna nel tempo, poiché dopo l'ingresso viene catturato dalle pale del rotore in movimento. Invece, le zone di stagnazione presenti nel fluido già coinvolto dall'azione rotante della pompa, come i laterali dello statore e il washout hole, risultano più critiche. Come si può notare dai valori riportati in **Tab. 9**, le zone di stagnazione aumentano al diminuire della velocità di rotazione, infatti, NB_PL1 possiede il volume di stagnazione maggiore pari a $0,13 \text{ cm}^3$, come è possibile apprezzare anche qualitativamente dalla **Fig. 44**. Al contrario, la maggiore velocità di rotazione del rotore in NB_PL3 favorisce il ricircolo del fluido e ne riduce l'accumulo nella zona laterale dello statore e nel washout hole. Infatti, NB_PL3 presenta il valore minore dell'indice tra le tre configurazioni nella pompa neonatale, uguale a $0,11 \text{ cm}^3$; infine, NB_PL2 è caratterizzato da un volume di stagnazione di $0,12 \text{ cm}^3$. Tuttavia, i risultati dimostrano che in nessuno dei tre casi si riscontrano livelli di stagnazione tali da compromettere le prestazioni del dispositivo, aumentandone l'effetto trombogenico. Pertanto, si può affermare che la presenza di zone di stagnazione non rappresenta un problema critico per la pompa in esame.

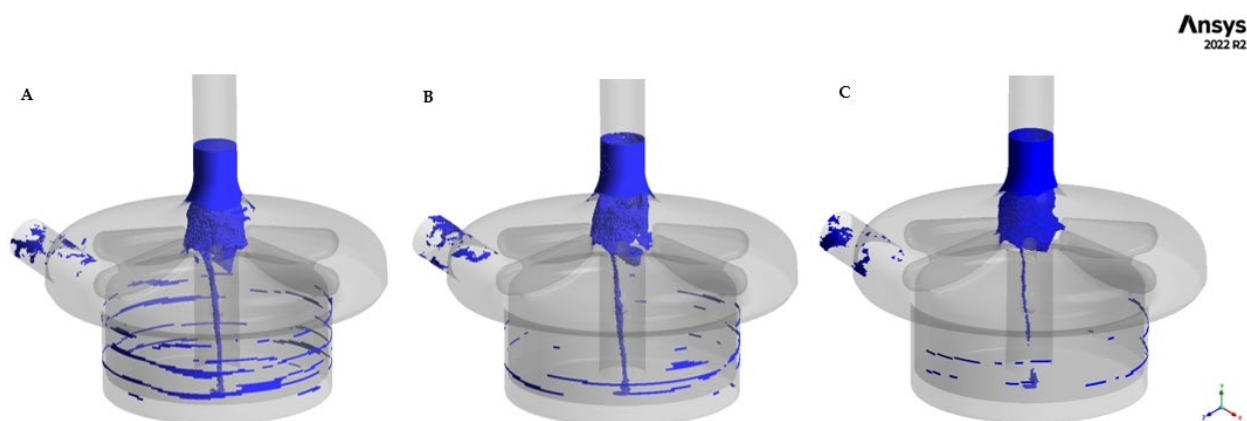


Figura 44: Zone di stagnazione con velocità $< 0,5 \text{ m/s}$: (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

Confrontando la pompa neonatale e la pompa adulta, in Fig. 45, è possibile osservare maggiori volumi di stagnazione nella configurazione A_PL1, anche in questo caso localizzati nel washout hole e nei laterali dello statore. Per la pompa adulta l'indice in Tab. 9 riporta un valore di 0,21 cm³, contro 0,11 cm³ per la neonatale. Questo risultato è dovuto principalmente al volume di fluido maggiore all'interno della pompa adulta ma anche alla minore velocità di rotazione del rotore, che causano un minore miscelamento delle zone di fluido non direttamente soggette all'azione propulsiva delle pale. Le piastrine, quindi, rimangono intrappolate all'interno della pompa adulta con più probabilità rispetto alla pompa neonatale, portando ad un aumento del tempo di residenza e del tempo di esposizione delle piastrine agli sforzi di taglio indotti dalla pompa.

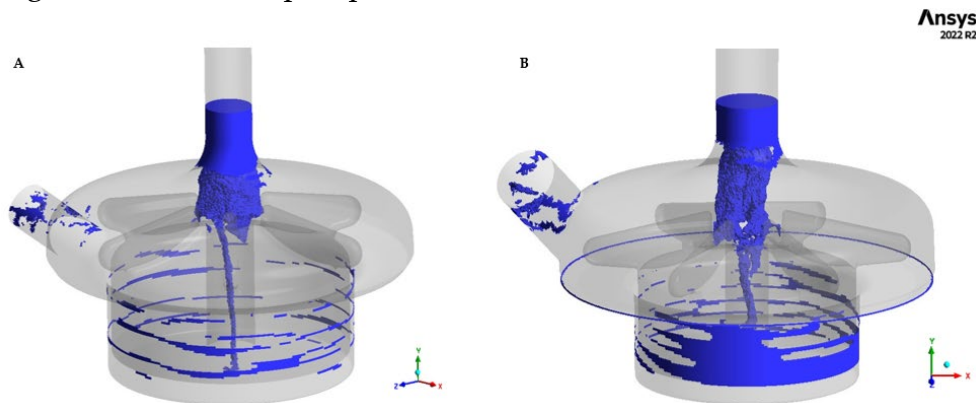


Figura 45: Zone di stagnazione: confronto tra (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e (B) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).

Wall Shear Stress (WSS)

Come già evidenziato, il flusso sanguigno che circola all'interno della pompa è soggetto all'azione propulsiva delle pale del rotore, che esercitano sforzi di taglio provocando la deformazione delle cellule del sangue e la loro alterazione. Anche il fluido in movimento all'interno della pompa esercita una forza sulle pareti, generando ulteriori sforzi. Per questo motivo nel caratterizzare una pompa centrifuga per il sangue è necessario andare ad analizzare lo sforzo di taglio alla parete (WSS) dei corpi solidi che costituiscono la pompa. In Fig. 46 è possibile osservare il WSS sul rotore: in tutti e tre i punti di lavoro il valore massimo si trova all'apice delle pale, poichè in quella zona il fluido raggiunge i gradienti di velocità maggiori. Confrontando i tre casi, è evidente che NB_PL3 presenta valori più alti di WSS rispetto agli altri due, sia in corrispondenza delle pale che sulla parete laterale del rotore. Questi risultati mostrano quanto la velocità di rotazione influenzi il valore di sforzo di taglio alle pareti, rispetto alla portata in ingresso, che ha un ruolo secondario. Infatti, la velocità di rotazione del rotore determina la velocità del fluido all'interno della pompa, che a sua volta influenza la forza esercitata dal fluido sulle pareti del corpo solido; quindi, maggiore è la velocità di rotazione del rotore, maggiore sarà il WSS. Questo è confermato dalla Fig. 47, che riporta il WSS sullo statore e che mette in evidenza la zona inferiore interna, dimostrando anche in questo caso che i valori maggiori di WSS si ritrovano in NB_PL3. In particolare, in tutti e tre i casi

analizzati, i massimi sono localizzati sulla cupola della pompa, poiché il flusso sanguigno viene spinto dal rotore verso la cupola, generando una maggiore forza sulle pareti del corpo solido e di conseguenza aumentando il valore di WSS.

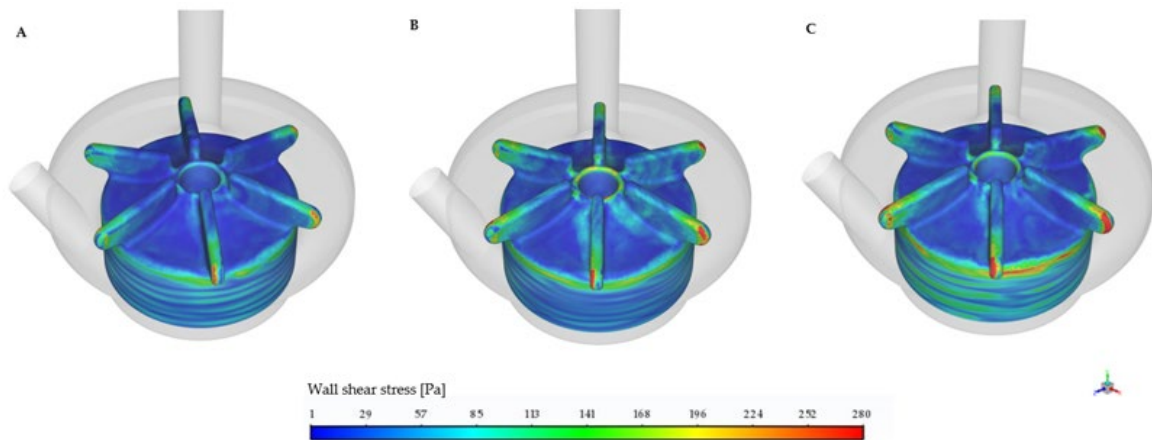


Figura 46: WSS rotore: (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

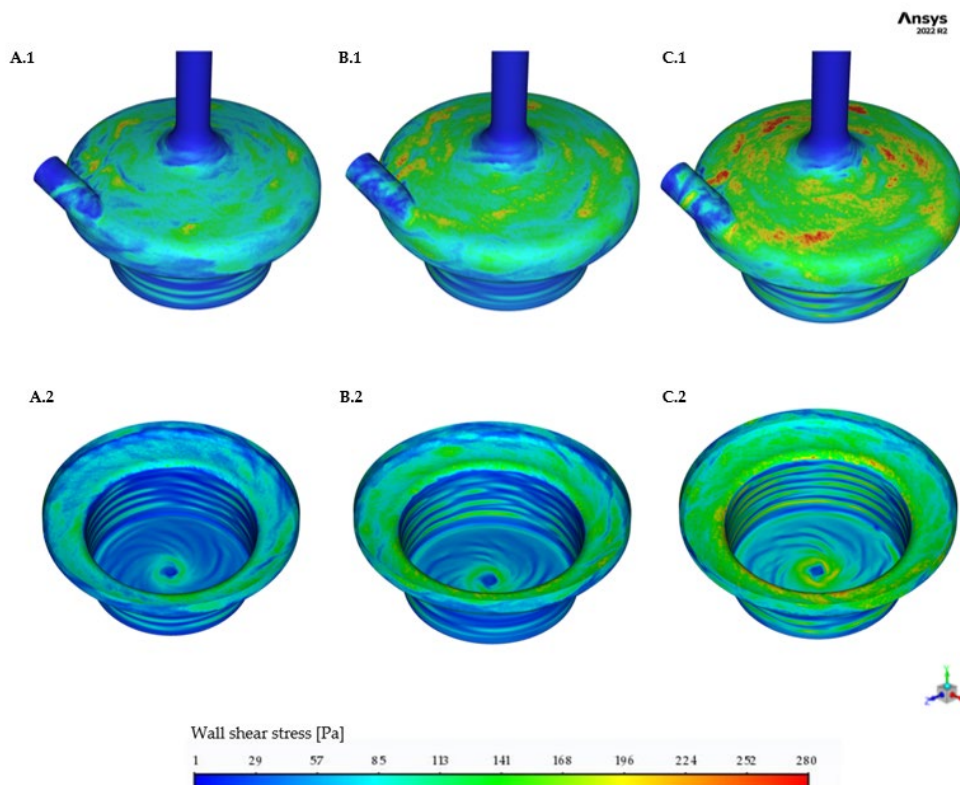


Figura 47: WSS statore (in alto) e WSS zona inferiore statore (in basso): (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C.1, C.2) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

In **Fig. 48** sono riportate le distribuzioni del WSS del rotore e dello statore per NB_PL1 e A_PL1. Le zone più critiche in entrambe le configurazioni, anche in questo caso, corrispondono alle estremità delle pale e alla superficie della cupola. In particolare, il volume minore e la maggiore velocità di rotazione del rotore nella pompa pediatrica

provocano valori più alti di WSS. Un aspetto da considerare è che la pompa neonatale in esame, presenta un volume di priming minore dell'adulta e quindi una minore distanza tra l'apice delle pale del rotore e la voluta della cupola. Quindi, il sangue è costretto a passare attraverso uno spazio più ristretto, generando un maggiore sforzo sulle pareti del corpo solido. Quello che si osserva, però, è che nell'estremità delle pale del rotore nella pompa adulta vi sono delle zone più estese ad alti WSS a causa della maggiore velocità influenzata dalla geometria del rotore.

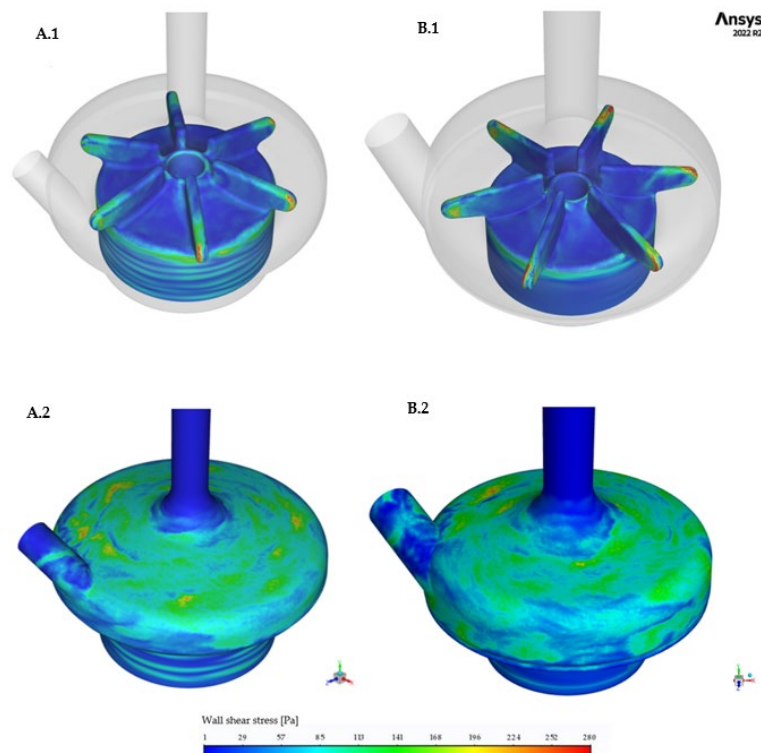


Figura 48: WSS rotore (in alto) e WSS statore (in basso): confronto tra (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).

Per evidenziare le zone di maggiore criticità sono state estratte le aree di fluido con $WSS > 100$ Pa, valore ritenuto dannoso per le piastrine. In **Fig. 49** vengono mostrate le aree con $WSS > 100$ Pa, sia per il rotore che per lo statore. Questi risultati confermano quanto riportato precedentemente: valori al di sopra del limite si osservano per tutti e tre i casi studiati all'estremità delle pale del rotore e in particolare sulla parete della cupola. Inoltre, come già stato detto, a causa della maggiore velocità di rotazione, NB_PL3 risulta essere il punto di lavoro più critico. L'area totale del dispositivo con un $WSS > 100$ Pa è stata calcolata anche quantitativamente (**Tab. 9**). I dati confermano ciò che è emerso dall'analisi qualitativa della distribuzione dei WSS: NB_PL3 presenta un'area critica di 39 cm^2 e un massimo valore raggiunto di 533 Pa ; NB_PL2 un'area critica di 25 cm^2 e un valore massimo raggiunto di 475 Pa ; infine, NB_PL1, un'area di 11 cm^2 e un massimo di 334 Pa . Anche in A_PL1 le aree della pompa caratterizzate da $WSS > 100$ Pa sono localizzate sulle estremità delle pale del rotore e sulla superficie della cupola (**Fig. 50**). In **Tab. 9**, è riportato per la pompa adulta un valore pari a 16 cm^2 , maggiore rispetto a quella

neonatale pari a 11 cm². L'immagine B.1, inoltre, mostra in maniera più evidente che le estremità delle pale del rotore della pompa adulta sono caratterizzate da una maggiore area critica, come già visto in Fig. 49 B.1.

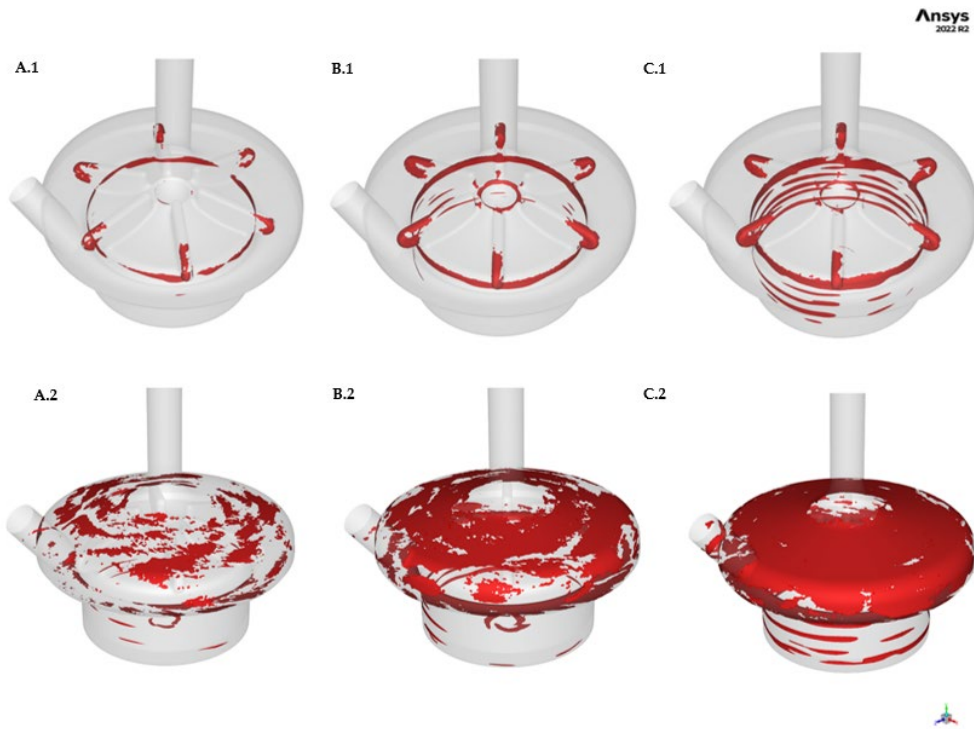


Figura 49: Zone di flusso del rotore (in alto) e dello statore (in basso) con $WSS > 100$ Pa: (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C.1, C.2) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

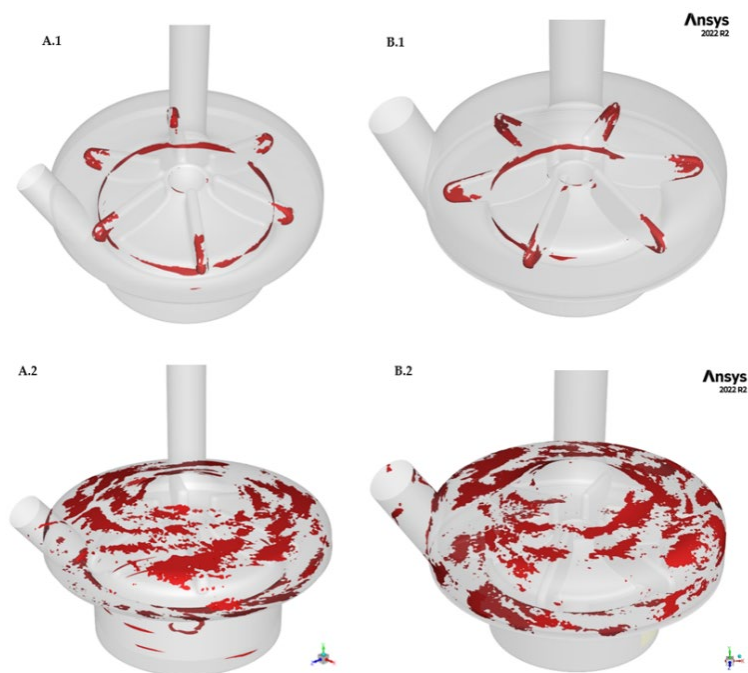


Figura 50: $WSS > 100$ Pa rotore (in alto) e WSS statore (in basso): confronto tra (A.1, A.2) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B.1, B.2) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).

Scalar Stress (SS)

In vista dell'analisi del potenziale trombogenico delle pompe viene valutato lo scalar stress. Nel presente studio, infatti, lo scalar stress (τ) è la grandezza alla base del calcolo dell'indice PAS per la caratterizzazione dell'attivazione piastrinica.

La **Fig. 51** riporta la distribuzione dei volumi a scalar stress maggiore di 100 Pa, valore critico riscontrato in letteratura. In questa analisi emerge nuovamente che alte velocità di rotazione provocano un aumento dei volumi ad alti valori di stress sul fluido. Dunque, nel punto di lavoro NB_PL3 il sangue viene maggiormente sollecitato. I dati in **Tab. 9** confermano quantitativamente questo risultato: infatti per NB_PL3 otteniamo un volume di 0,34 cm³, per NB_PL2 di 0,22 cm³ e per NB_PL1 di 0,07 cm³.



Figura 51: Zone con $SS > 50$ Pa: (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

Infine, confrontando le zone di fluido con $SS > 100$ Pa della pompa adulta e neonatale, in **Fig. 52**, risultano qualitativamente confrontabili e principalmente distribuiti in corrispondenza della cupola e in prossimità delle pale. Tuttavia, calcolando l'indice del volume di fluido con un $SS > 100$ Pa nei due casi, questo risulta maggiore in A_PL1, con un valore di 0,12 cm³, contro 0,07 cm³ di NB_PL1 (**Tab. 9**).

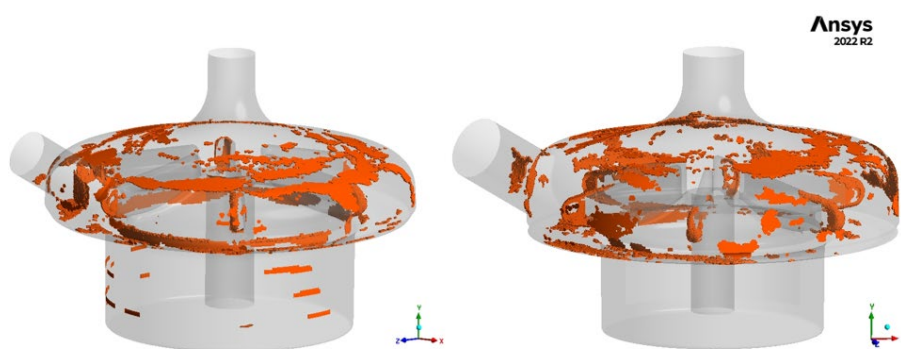


Figura 52: Zone con $SS > 50$ Pa: confronto tra (A) NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e (B) A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).

Questo è dovuto al fatto che la cupola della pompa adulta presenta un volume circa il doppio più grande rispetto alla pompa neonatale. Di conseguenza, è possibile affermare che per la pompa adulta l'indice calcolato è governato dal volume della cupola. Infatti, rapportando il volume critico al volume totale di ciascuna pompa, si ottiene per NB_PL1 un volume con SS critico di 0,35%, mentre per A_PL1 di 0,34%. Nonostante questo, si ottengono risultati positivi per entrambe le configurazioni, dato che le percentuali rispetto al volume totale risultano minime.

Tabella 9: Indici per la valutazione quantitativa dei risultati fluidodinamici nei punti di lavoro simulati

	Portata [l/min]	Velocità di rotazione [rpm]	Volume di stagnazione ($v < 0,5$ m/s) [cm ³]	Volume di fluido con SS > 100 Pa [cm ³]	Area con WSS > 100 Pa [cm ²]	Max WSS [Pa]
A_PL1	0,5	2280	0,21	0,12	16	482
NB_PL1	0,5	2500	0,13	0,07	11	334
NB_PL2	2	3000	0,12	0,22	25	475
NB_PL3	1	3500	0,11	0,34	39	533

4.1.2. Analisi dell'attivazione piastrinica

In questo paragrafo vengono analizzati i risultati dell'indice PAS per la pompa neonatale nelle tre condizioni operative e per la pompa adulta, a parità di tempo di utilizzo. Nello specifico per i tre punti di lavoro NB_PL1, NB_PL2, NB_PL3 i dati vengono estratti fino a 0,7s; mentre, NB_PL1 e A_PL1 vengono confrontati sulla base di valori estratti fino a 0,5s. Considerando che le piastrine vengono iniettate a valle del condotto di ingresso e non direttamente all'interno della cupola e che i tre punti di lavoro scelti presentano valori di portata differenti, il tempo affinché le piastrine vengano catturate dalla forza centrifuga del rotore risulta diverso nei tre casi. Questo si verifica anche confrontando NB_PL1 con A_PL1, dato che la pompa adulta presenta un condotto di ingresso con un diametro maggiore che si traduce, considerando la stessa portata, in una minore velocità delle piastrine in ingresso. Per questo motivo viene effettuata un'analisi preliminare in cui viene stabilito qual è il numero minimo di particelle che deve essere presente all'interno della pompa affinché il PAS si mantenga costante, al variare del numero di piastrine. Lo stato di attivazione delle piastrine (PAS) è stato calcolato utilizzando il modello matematico sviluppato da Soares et al. [27] con i coefficienti ottimizzati di Consolo et al. [26]. In Fig. 53 è possibile osservare l'andamento nel tempo del valore medio del PAS, ottenuto dalla media del PAS delle particelle, per tutte e tre le condizioni operative. Quello che si può osservare dal grafico, già confermato dai risultati fluidodinamici, è che

la velocità di rotazione gioca un ruolo rilevante. Infatti, la pendenza iniziale della curva in NB_PL3 risulta più ripida, così come i valori di PAS raggiunti nel tempo sono maggiori rispetto alle altre due configurazioni. In particolare, NB_PL1, NB_PL2 e NB_PL3 a 0,7 s presentano rispettivamente un PAS medio di 2,78%, 3,51% e di 4,23%. Tra la condizione a 0,5 l/min (NB_PL1) e quella a 1 l/min (NB_PL3) si ha un incremento del 26%; mentre tra 1 l/min (NB_PL3) e 2 l/min (NB_PL2) del 20%. In generale, in tutti e tre i casi il PAS aumenta all'aumentare del tempo in quanto, maggiore è il tempo in cui le piastrine circolano all'interno della pompa e sono sollecitate dal flusso in movimento, maggiore è la loro attivazione. I valori di PAS ottenuti, valutando tutti e tre i punti di lavoro, sono inferiori al 5%, indicando che la pompa neonatale non presenta un elevato potenziale trombogenico. I risultati fin ora discussi vengono confermati anche dall'istogramma che riporta la distribuzione del PAS nelle particelle nelle tre condizioni (**Fig. 54**). Si può osservare, infatti che all'aumentare della velocità di rotazione la distribuzione del PAS percentuale nelle piastrine si sposta verso valori più alti, ottenendo un valore medio globalmente più elevato.

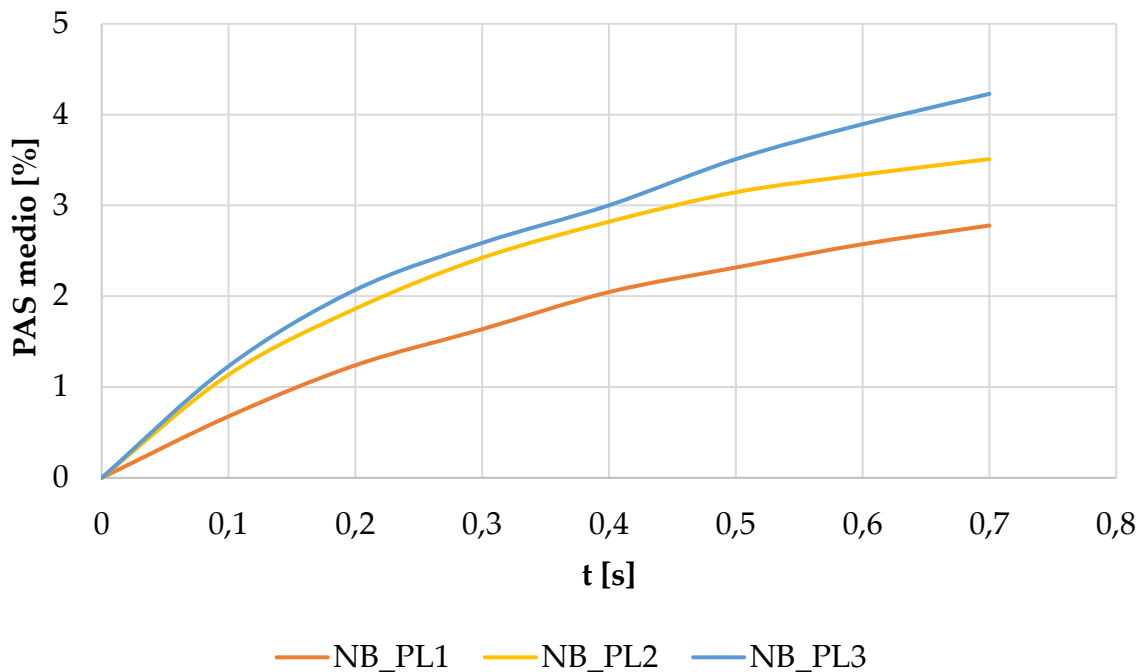


Figura 53: Andamento del PAS nel tempo per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

Entrando nel dettaglio dei termini che concorrono a determinare il PAS (**eq.3.9**), vengono esaminate le distribuzioni di SA, SR e tempo di residenza delle piastrine. Come analizzato nel capitolo precedente, nella condizione NB_PL3 il fluido è caratterizzato da sforzi maggiori rispetto agli altri due punti di lavoro. Questo fenomeno si riversa, come mostrato in **Fig. 55 e 56**, in un aumento sia di stress accumulation che di share rate delle piastrine. Al contrario, nel punto di lavoro NB_PL1 le piastrine sono soggette a valori di SA e SR più bassi. Nello specifico,

osservando la Fig.55, in NB_PL3 il maggior numero di piastrine presenta un valore di SA compreso tra 5 e 10 Pa·s, in NB_PL2 tra 4 e 6 Pa·s e in NB_PL1 tra 4 e 5 Pa·s.

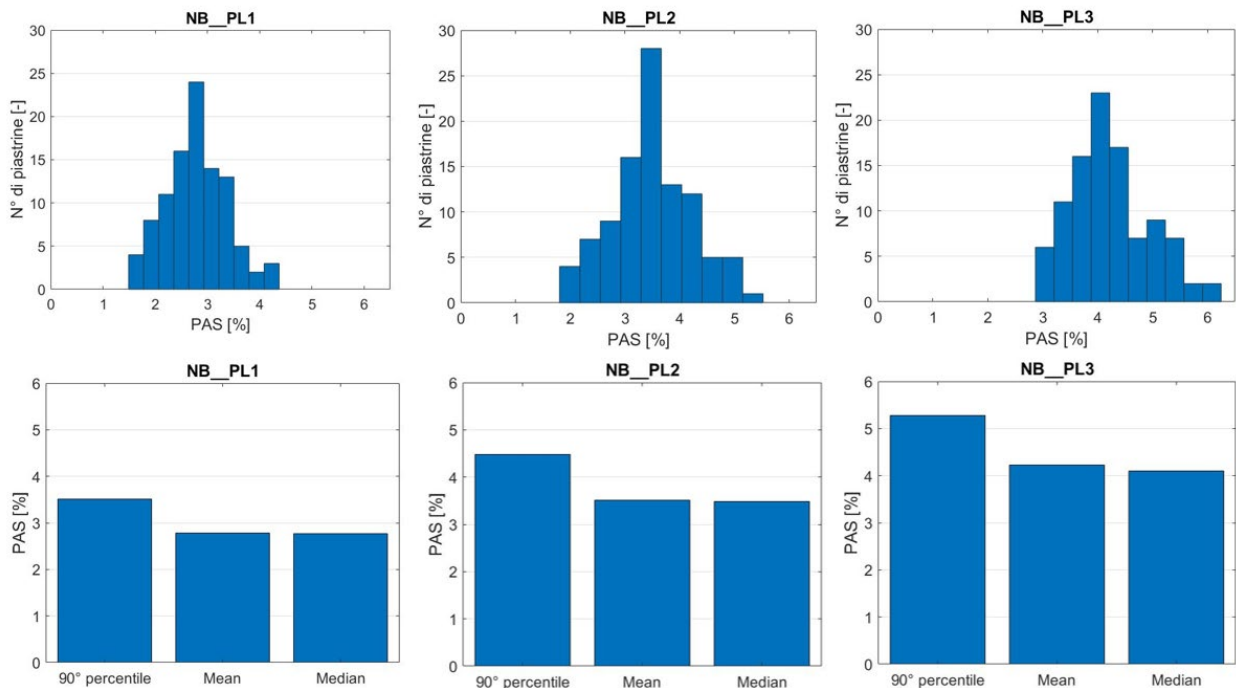


Figura 54: Distribuzione del PAS (in alto) e media, mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

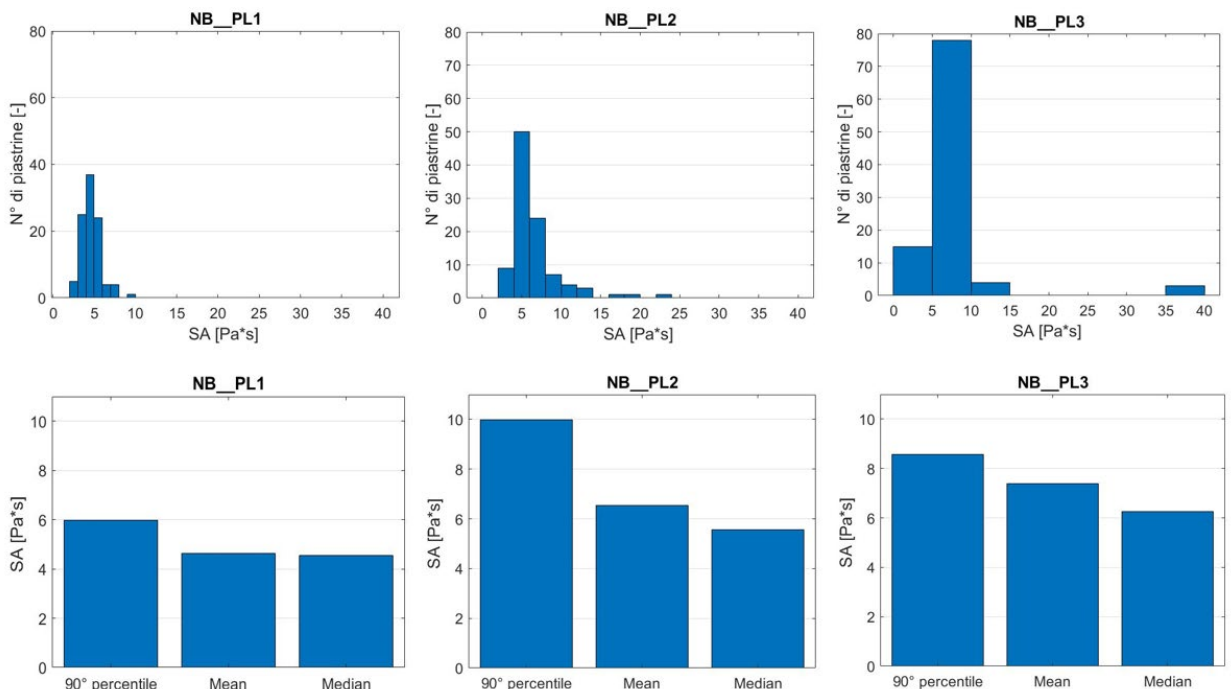


Figura 55: Distribuzione dello SA (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

Per quanto riguarda le distribuzioni di SR delle particelle si può notare che in NB_PL1 i valori di SR sono più bassi e uniformemente distribuiti tra le particelle, in NB_PL2 si ha una distribuzione a campana in cui la maggior parte delle particelle subisce un

valore di SR pari a 6000-8000 Pa/s, come in NB_PL3, con la differenza che in quest'ultimo caso tutte le altre particelle subiscono un SR più alto. Per quanto riguarda il tempo di residenza delle piastrine, questo è fortemente influenzato dalla portata imposta in ingresso alla pompa. Per valutare tale grandezza vengono estratti i dati per tutte le particelle uscite. Dai grafici in Fig. 57 emerge che nel punto di lavoro NB_PL2,

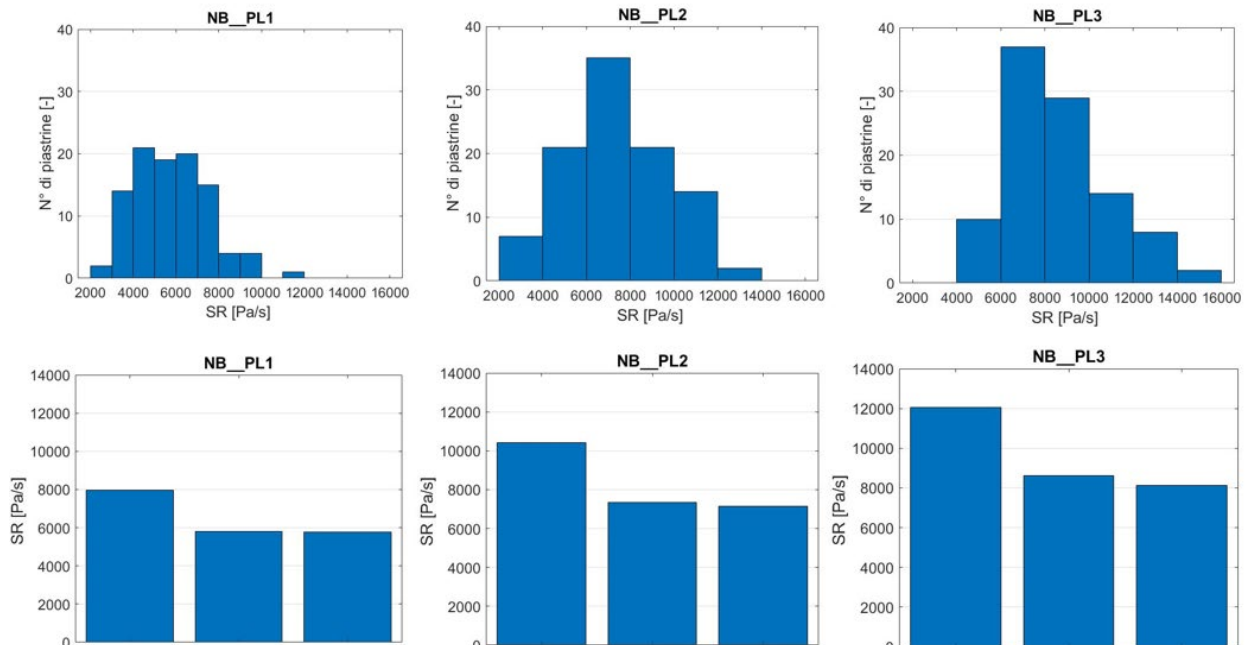


Figura 56: Distribuzione dello SR (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

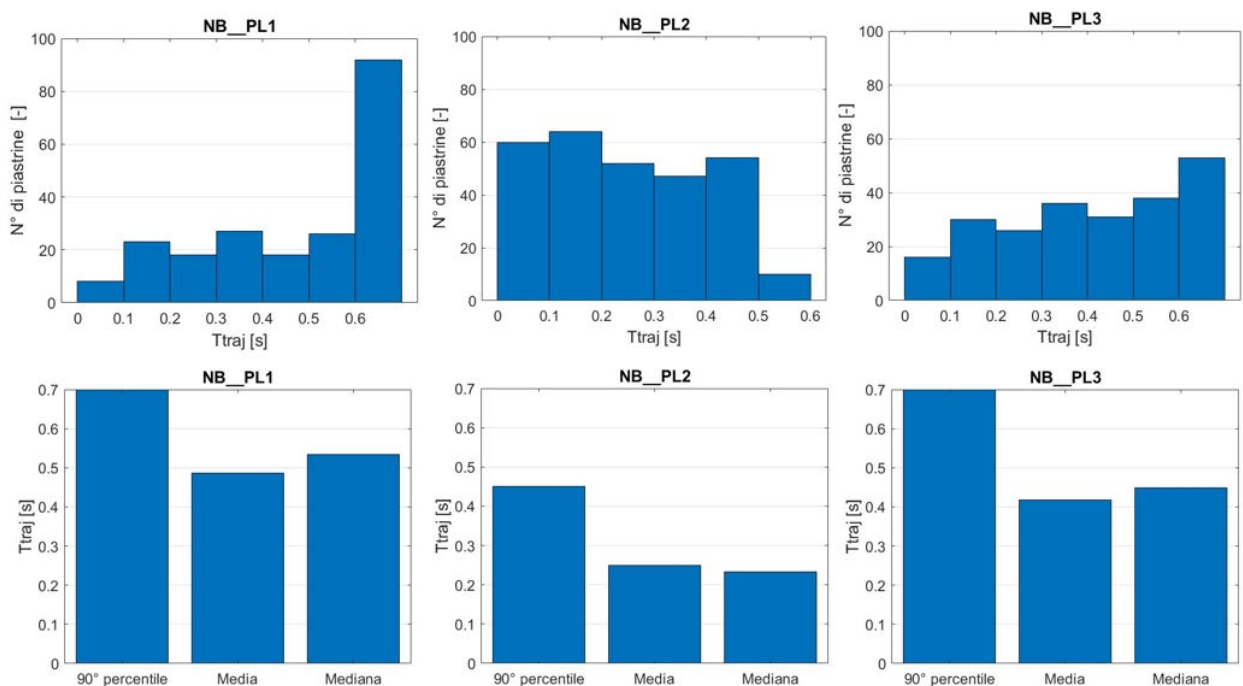


Figura 57: Distribuzione del tempo di residenza (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min), (B) NB_PL2 (3000 rpm, 2 l/min), (C) NB_PL3 (3500 rpm, 1 l/min).

in cui è imposta la più alta portata in ingresso, pari a 2 l/min, le particelle presentano tempi di residenza più distribuiti e in media più bassi. Infatti, a causa della maggiore portata le particelle escono più velocemente. Al contrario in NB_PL1 e NB_PL3, avendo portate più basse, la maggior parte delle particelle esce a circa 0,7 s. In particolare, si ha un numero di particelle uscite pari a 230 in NB_PL3, 287 in NB_PL2 e 212 in NB_PL1.

In **Fig. 58** è riportato il confronto tra l'andamento del PAS medio nel tempo per la pompa adulta e la pompa neonatale fino a 0,5 s di utilizzo. Come si può notare, ad ogni istante di tempo i valori del PAS in NB_PL1 sono maggiori rispetto a quelli di A_PL1. Tuttavia, è possibile osservare dal grafico che la pendenza della curva dopo 0,3 s in NB_PL1 diminuisce, invece in A_PL1 aumenta.

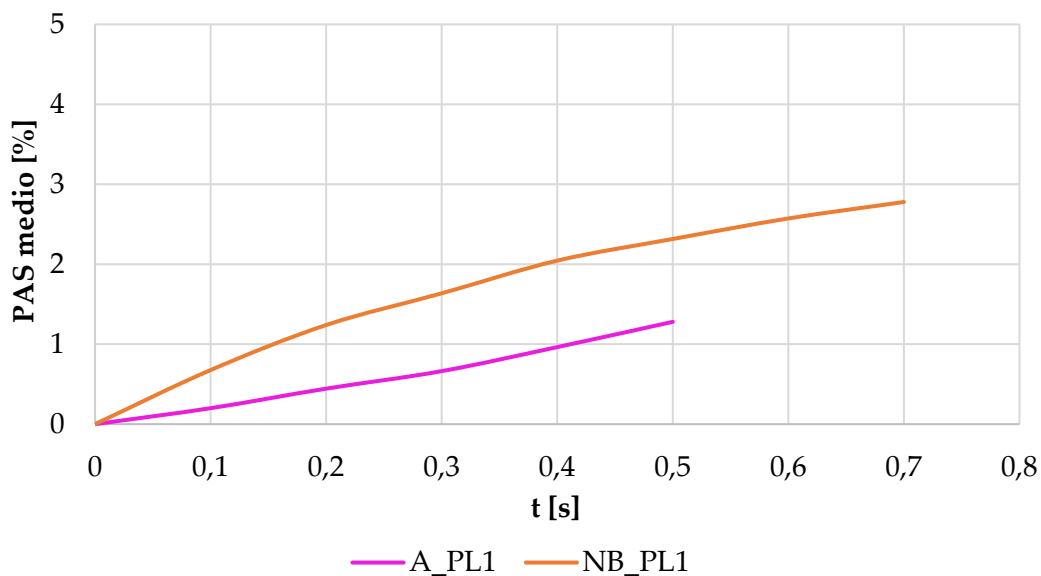


Figura 58: Andamento del PAS nel tempo per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm, 0,5 l/min).

Visualizzando la distribuzione del PAS nella pompa neonatale (**Fig. 59**) si osserva che il maggior numero di particelle possiede valori di PAS tra 2,5% e 2,75%; al contrario nell'adulta la maggior parte delle particelle presenta valori più bassi, tra 1,5% e 1,75%, con un numero notevolmente minore di particelle a più alti valori di PAS. Infatti, analizzando singolarmente i contributi di SA e SR, la pompa neonatale presenta valori maggiori (**Fig. 60 e 61**). Infine, in **Fig. 62** vengono mostrate le distribuzioni del tempo di residenza delle piastrine uscite dopo 0,5 s, sia per la pompa adulta che per la pompa neonatale. E' particolarmente rilevante sottolineare che il numero di piastrine uscite risulta essere 212 nella pompa neonatale e 28 nell'adulta. A parità di tempo e portata, nella pompa neonatale esce un numero di piastrine circa sette volte più alto rispetto all'adulta, poiché quest'ultima presenta un volume circa il doppio maggiore e, come emerso dall'analisi fluidodinamica, zone di stagnazione più significative.

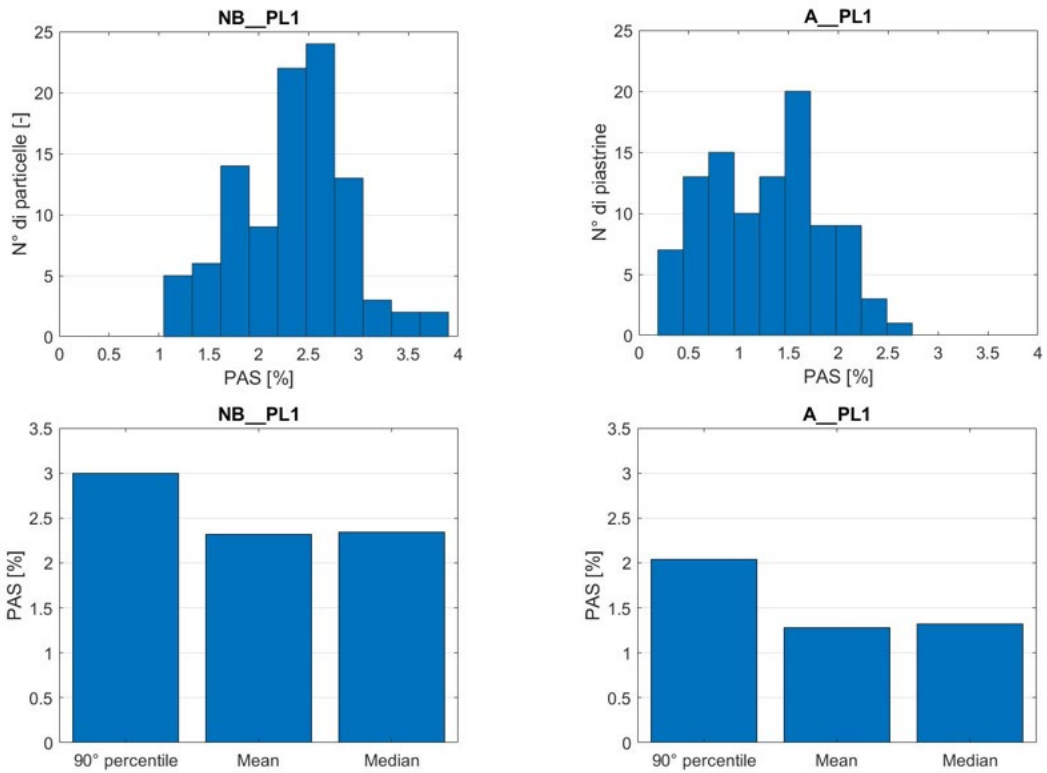


Figura 59: Distribuzione del PAS (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min).

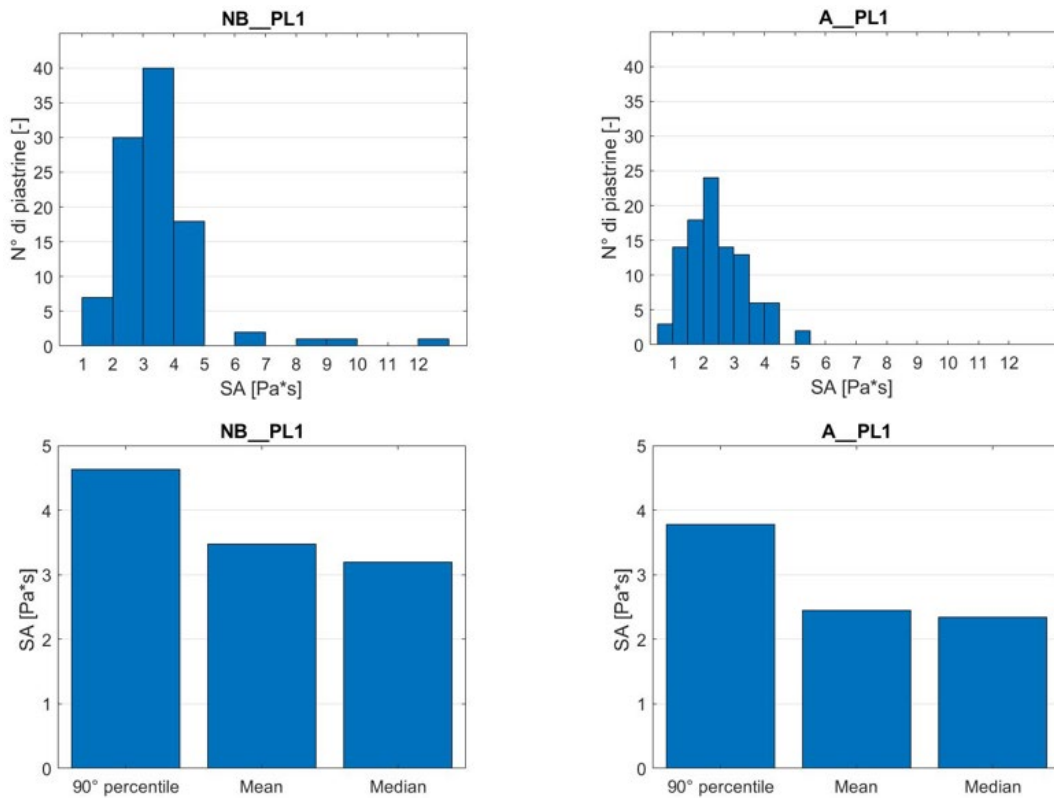


Figura 60: Distribuzione di SA (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min)

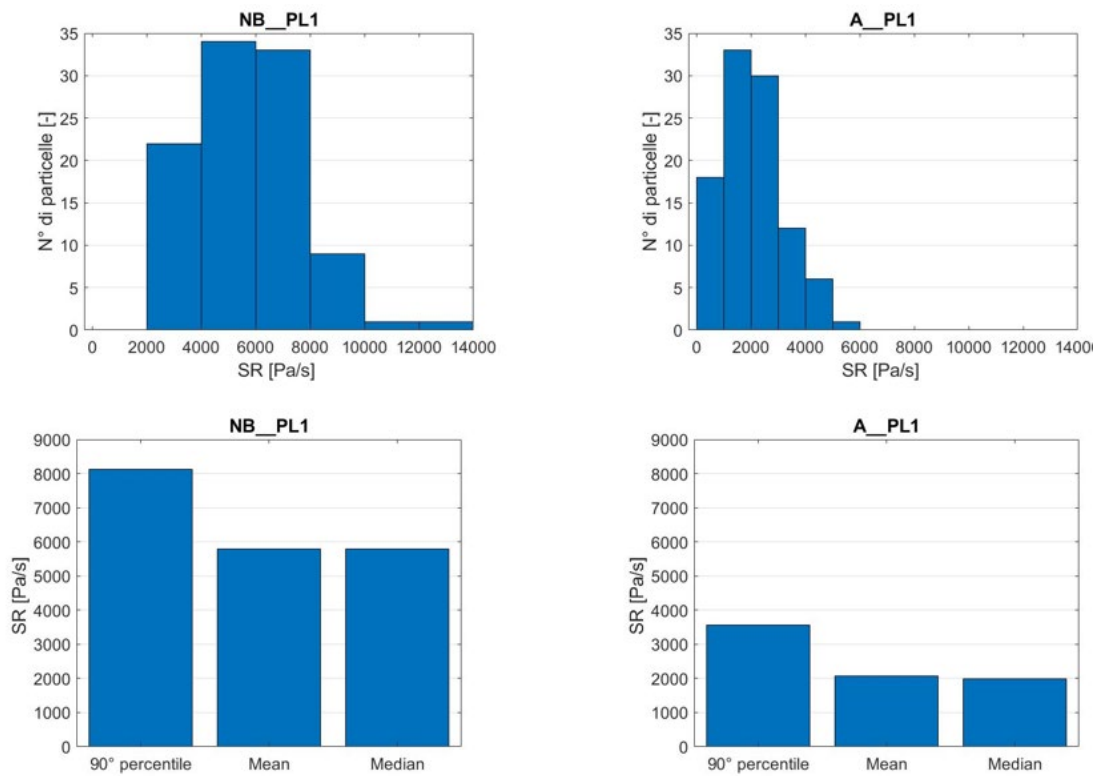


Figura 61: Distribuzione di SR (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min).

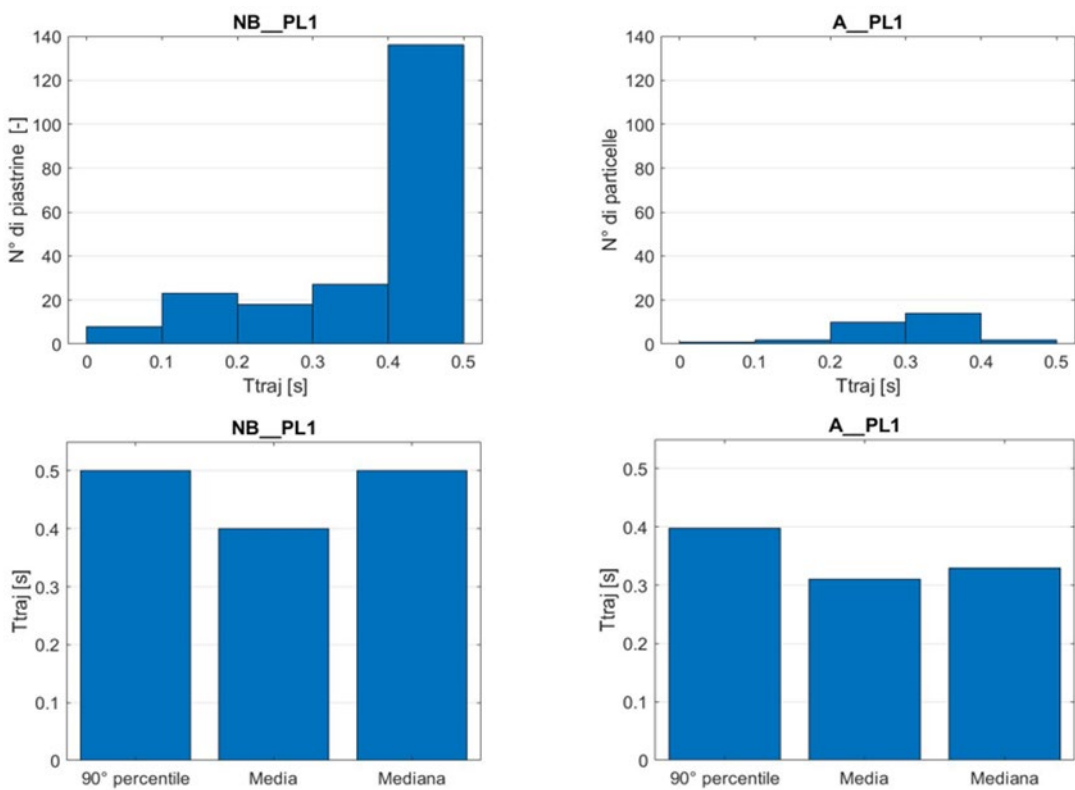


Figura 62: Distribuzione del tempo di residenza delle particelle uscite (in alto) e media mediana e 90 percentile (in basso) per NB_PL1 (2500 rpm, 0,5 l/min) e A_PL1 (2280 rpm e 0,5 l/min).

4.2. Studio sperimentale

4.2.1. Dimensionamento del post-carico

Dal test effettuato per il dimensionamento dei tubi di post carico, vengono estratti i dati relativi all'andamento del ΔP a cavallo dei tubi in funzione della portata imposta, che è possibile osservare nel grafico in **Fig. 63** (curva in verde). Al fine di ottenere la caduta di pressione dovuta solo al contributo dei tubi, dal valore sperimentale letto sul manometro viene sottratto il valore delle perdite di carico concentrate date dal connettore, riportate in **Tab. 10**, ottenendo la curva in rosso. I risultati vengono, inoltre, confrontati e validati con il calcolo analitico della caduta di pressione (curva gialla in **Fig. 63**). Si ottiene che il ΔP calcolato sperimentalmente, ad una portata di 1 l/min, condizione richiesta per l'esperimento, si discosta del 2% dal valore analitico teorico. Questo risultato permette di affermare che utilizzando un tubo per il post-carico lungo 217 cm viene restituito il valore di ΔP del punto di lavoro desiderato.

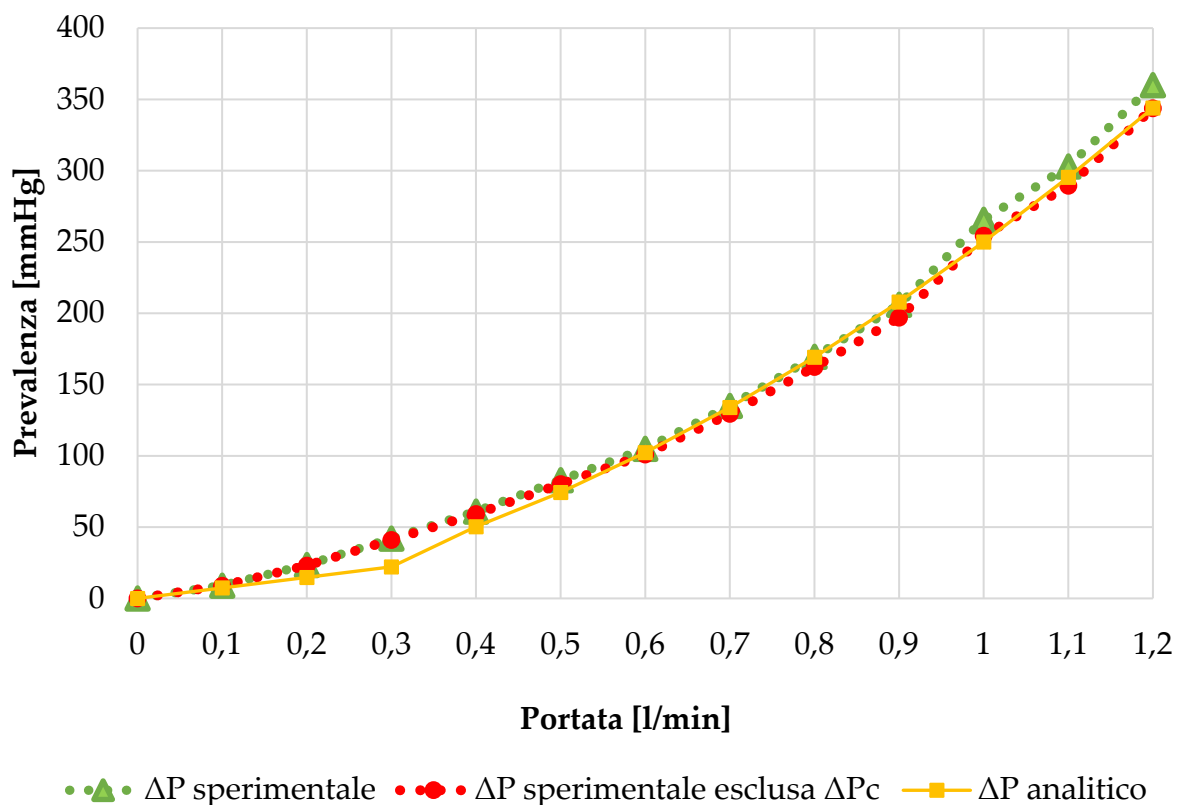


Figura 63: Andamento del ΔP a cavallo dei tubi di post-carico calcolato sperimentalmente (in verde), escludendo il contributo di perdita di carico concentrata del connettore ΔP_c (in rosso) e l'andamento del ΔP analitico (in giallo).

Tabella 10: Risultati ottenuti dal test preliminare per il dimensionamento del post-carico.

Q[l/min]	v[m/s]	Reynolds	Fattore di attrito	$\Delta P_{\text{per esclusa}} \Delta P_c$ [mmHg]	ΔP analitico [mmHg]
0	0	0	0	0	0
0,1	0,17	606	0,106	9	7
0,2	0,35	1213	0,053	23	15
0,3	0,52	1819	0,035	41	22
0,4	0,69	2425	0,045	59	50
0,5	0,87	3032	0,043	80	74
0,6	1,04	3638	0,041	101	102
0,7	1,21	4244	0,039	129	134
0,8	1,39	4850	0,038	162	169
0,9	1,56	5457	0,037	197	208
1	1,73	6063	0,036	254	250
1,1	1,91	6669	0,035	289	295
1,2	2,08	7276	0,034	344	344

4.2.2. Set-up sperimentale per il test del PAS assay

In **Fig. 64** è riportato il circuito finale utilizzato per il test sulle pompe New Born di Eurosets e PediVas di Abbott.

Il circuito realizzato si compone di:

- Pompa centrifuga a levitazione magnetica (New Born o PediVas) (1)
- Console specifica per ciascuna pompa (9)
- 1 flussimetro per il monitoraggio della portata (Transonic) (2)
- 2 manometri per il monitoraggio della pressione (SMC ZSE30AF) (3, 8)
- Bobina di diametro 21 mm (5)
- 3 siringhe da 20 ml:
 - siringa sul tubo di inlet per eliminazione bolle e regolazione del volume di priming (6)
 - siringa sul tubo di inlet per regolare la pressione (7)
 - siringa sul tubo di outlet per inserimento e prelievo delle piastrine (4)
- Tubi di diametro e lunghezza riportati in **Tab. 11**
- connettore 1/4" – 1/4" tra il tubo E e F
- connettore 1/4" – 3,5 mm tra il tubo C e D
- connettore 1/4" – 3,5 mm tra il tubo D e E
- 2 rubinetti a 3 vie Luer Lock (LL) tra il tubo E e F
- 1 rubinetto a 2 vie Luer Lock (LL) tra il tubo A e B
- 1 rubinetto a 2 vie Luer Lock (LL) tra il tubo B e C

Tabella 11: Lunghezze e diametri dei tubi del circuito finale.

	Diametro	Lunghezza [cm]
Tubo A	1/4"	11
Tubo B	1/4"	4,5
Tubo C	1/4"	8,5
Tubo D	3,5 mm	217
Tubo E	1/4"	9
Tubo F	1/4"	12,5

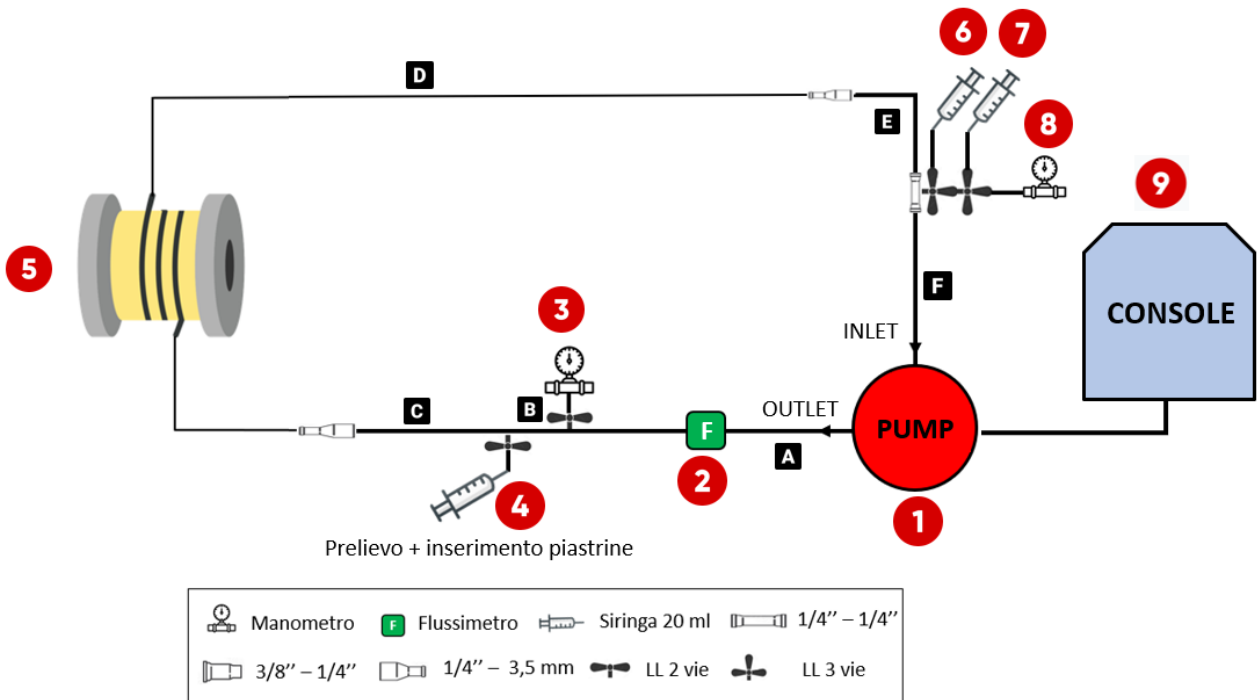


Figura 64: Rappresentazione schematica del circuito per PAS assay: pompa (1), flussimetro (2), manometro (3,8), siringa per il prelievo e l'estrazione delle piastrine (4), bobina per avvolgimento post carico (5), siringa per rimozione delle bolle (6), siringa per controllare la pressione (7), console (9).

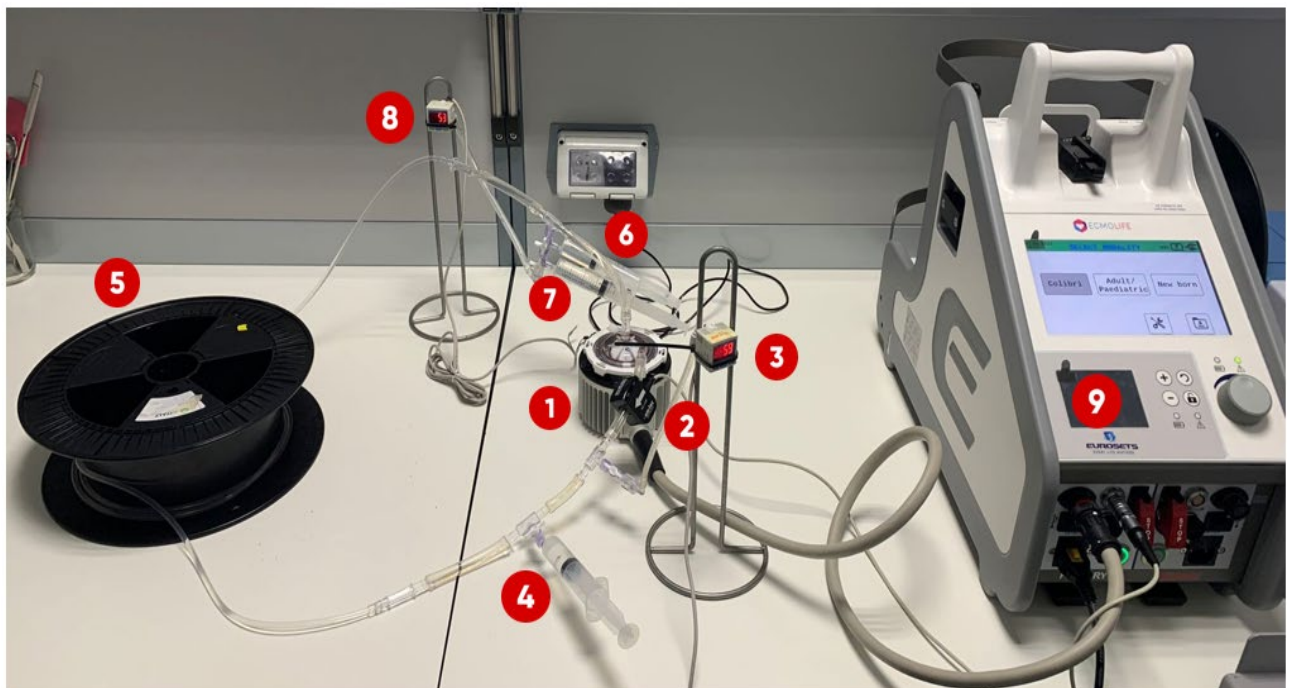


Figura 65: Circuito per PAS assay: pompa (1), flussimetro (2), manometro (3,8), siringa per il prelievo e l'estrazione delle piastrine (4), bobina per avvolgimento post carico (5), siringa per rimozione delle bolle (6), siringa per controllare la pressione (7), console (9).

Il flow-loop presenta un volume di priming totale, sia per la pompa di Eurosets che per la PediVas, pari a 60 ml, rispettando il principale requisito del circuito, ovvero il basso volume di priming per il trattamento di pazienti neonatali. Il circuito viene progettato e costruito in modo da rispettare il requisito dell'assenza di bolle, grazie a un'attenta pratica di debollamento durante la fase di riempimento. Inoltre, la siringa (6) collegata al tubo di inlet della pompa costituisce un sistema di estrazione delle eventuali bolle formate dopo la chiusura del circuito. Questa scelta progettuale garantisce precisione nella conduzione dell'esperimento e riduce al minimo la possibilità che la presenza di bolle possa alterare i risultati, portando ad errori di valutazione. Il circuito viene progettato per effettuare il PAS assay, quindi viene realizzato un sistema per l'inserimento e il prelievo dei campioni piastrinici durante l'esperimento. Questo è costituito dalla siringa (4) collegata al tubo di uscita della pompa, che permette di estrarre, già al primo prelievo, le piastrine che sono state sottoposte all'azione meccanica della pompa. Inoltre, la siringa (6) permette di mantenere costante il volume di priming durante l'esperimento, grazie all'inserimento della stessa quantità di liquido che viene rimossa dai prelievi. Il circuito è provvisto di strumenti di controllo, come i due manometri (3, 8) a cavallo della pompa, che consentono di verificare che il ΔP sia sempre coerente con il punto di lavoro scelto, e il flussimetro (2) all'uscita della pompa, che permette di controllare la portata di fluido circolante. Inoltre, il circuito viene realizzato in modo da risultare maneggevole durante tutta la durata del PAS assay. In particolare, grazie alla bobina (5), utilizzata per l'avvolgimento del tubo di post carico, si evita un ingombro eccessivo, lasciando lo spazio adeguato alle iniezioni e ai prelievi delle piastrine. L'ultimo requisito che rispetta il circuito è la facilità di montaggio e smontaggio, conferita principalmente dai componenti semplici da cui è costituito.

5 Discussione

Il presente studio nasce dall'interesse di voler analizzare con un approccio critico la nuova pompa centrifuga neonatale a levitazione magnetica, progettata dall'azienda Eurosets. La progettazione e realizzazione di questa pompa avviene in un contesto clinico in cui nella maggior parte dei casi per trattare pazienti neonatali tramite dispositivi di circolazione extracorporea, durante interventi di cardiocirurgia o per assistenza post-operatoria, vengono utilizzate pompe per adulti adattate a condizioni neonatali. Tuttavia, l'utilizzo di pompe centrifughe a portate inferiori rispetto alla loro portata di progettazione può causare una perdita di efficienza della pompa e, soprattutto, un aumento del rischio di eventi avversi clinicamente significativi, come la formazione di coaguli e trombi. L'uso delle pompe adulte per pazienti neonatali necessita un volume di sangue maggiore rispetto a quello che può essere prelevato. Inoltre, aumenta il tempo di residenza del sangue all'interno della pompa, generando una sollecitazione prolungata sulle piastrine, una maggiore sensibilizzazione e quindi una maggiore probabilità di attivazione.

In questo contesto, nel presente studio la pompa neonatale di Eurosets viene caratterizzata tramite simulazioni CFD da un punto di vista fluidodinamico, confrontando tre diverse configurazioni operative (NB_PL1: 2500 rpm, 0,5 l/min; NB_PL2: 3000 rpm, 2 l/min; NB_PL3: 3500 rpm, 1 l/min). Inoltre, per evidenziare le differenze tra l'utilizzo di una pompa per adulti e una pompa progettata ad hoc per neonati, viene simulato il comportamento della pompa centrifuga a levitazione magnetica per adulti della stessa azienda produttrice, imponendo delle condizioni operative tipiche di un caso neonatale (A_PL1: 2280 rpm, 0,5 l/min). In tutti i casi analizzati, vengono valutati i campi di pressione e velocità, le zone di stagnazione, che possono compromettere le prestazioni del dispositivo, gli sforzi di taglio alle pareti (WSS), a cui le piastrine sono particolarmente sensibili e, in vista della valutazione dell'attivazione piastrinica, i volumi a scalar stress (SS) critico. Il potenziale trombogenico, dovuto all'attivazione piastrinica mediata da sforzo di taglio, viene stimato tramite il calcolo dell'indice PAS, che dipende dal corrente livello di scalar stress agente sulle piastrine, dalla sua variazione e dall'accumulo dello stress durante l'intero periodo di tempo in cui le piastrine circolano all'interno della pompa. In particolare, tramite l'approccio computazionale del particle tracking viene registrato il valore di scalar stress che le piastrine subiscono percorrendo la loro traiettoria all'interno della pompa nel tempo, per poi ottenere stress accumulation (SA) e shear rate (SR).

Mettendo a confronto i risultati ottenuti nei tre punti di lavoro, sia in termini fluidodinamici che di attivazione piastrinica, la velocità di rotazione gioca un ruolo predominante. Infatti, è emerso che la condizione più critica in termini di WSS, SS, SA, SR e PAS si ottiene con il punto di lavoro a più alta velocità di rotazione, ovvero NB_PL3. Al contrario però grazie alle maggiori velocità di rotazione si verifica un migliore ricircolo del sangue all'interno del dispositivo, riducendo i volumi di stagnazione. Le diverse

portate imposte nei tre punti di lavoro determinano un differente tempo di residenza delle piastrine all'interno del dispositivo neonatale, contribuendo a una estensione della storia di carico delle piastrine variabile. In generale, i risultati ottenuti mostrano che la pompa neonatale possiede delle buone caratteristiche fluidodinamiche, in quanto in nessuna delle tre configurazioni simulate si osservano risultati critici. Anche i livelli di attivazione piastrinica in tutti e tre i casi non risultano pericolosi, in quanto i valori si discostano molto dall'unità, valore che indica la massima attivazione piastrinica.

Il confronto con la pompa adulta ha mostrato che globalmente i risultati in termini di volumi di stagnazione, WSS e SS sono paragonabili, se rapportati ai diversi volumi dei due dispositivi. Analizzando, invece l'indice PAS, i risultati mostrano che la pompa adulta è meno trombogena. Questo risultato viene giustificato dall'analisi della curvatura delle traiettorie che le piastrine compiono nel loro moto, poichè questa gioca un ruolo importante nell'attivazione piastrinica. Infatti spesso, la tortuosità dei vasi sanguigni che disturba il moto delle piastrine nel flusso, è spesso associata a trombosi e aterosclerosi [44]. Quindi, si presume che anche la tortuosità delle traiettorie delle particelle all'interno della pompa possa promuovere e innescare la loro attivazione. La geometria di una traiettoria può essere espressa in termini di curvatura k [45], calcolata come:

$$k = \frac{|u \times \dot{u}|}{|u|^3} \quad (5.1)$$

dove \dot{u} e \ddot{u} sono rispettivamente la derivata sostanziale del primo ordine e del secondo ordine del vettore velocità u , strettamente legate al gradiente di velocità secondo la relazione:

$$\frac{du}{dt} = \partial_t u + u \cdot \nabla u \quad (5.2)$$

Inoltre, la curvatura della traiettoria è proporzionale al raggio della curvatura (r) secondo la relazione:

$$k \approx \frac{1}{r} \quad (5.3)$$

Il raggio di curvatura è definito dal problema specifico: in questo caso, ciò che lo determina e, di conseguenza, che determina la curvatura delle traiettorie delle particelle è il raggio del rotore della pompa. La pompa adulta avendo un rotore maggiore, genera un raggio di curvatura maggiore e una curvatura della traiettoria minore; al contrario nella pompa neonatale, il rotore più piccolo determina un minore raggio di curvatura e, quindi, una curvatura più pronunciata. Dunque, le piastrine che percorrono una

traiettoria più curvilinea subiranno valori stress più alti dati dai maggiori gradienti di velocità (eq. 5.4 e 5.5).

$$\tau = \mu \cdot \nabla u \tag{5.4}$$

$$\dot{\tau} = \mu \cdot \frac{\delta}{\delta t} \nabla u \tag{5.5}$$

Questo spiega perchè nella pompa neonatale si ritrovano valori di SA e SR maggiori. Anche il PAS, dunque, risente di questo effetto; infatti, i valori calcolati fino a 0,5 s di utilizzo, suggeriscono che la pompa adulta presenti un minor effetto attivante sulle piastrine. Tuttavia, attuando un'analisi critica dei risultati ottenuti, in particolare sul PAS, emerge che è riduttivo trarre conclusioni definitive considerando la storia di carico delle piastrine che vengono sollecitate dalla pompa solo per 0,5 s. Considerando che il volume della pompa adulta è circa il doppio di quella neonatale, il tempo impiegato dalle particelle per uscire dalla pompa è molto maggiore nell'adulta, rispetto alla neonatale. Infatti, se calcoliamo il numero di particelle uscite dalla pompa dopo 0,5 s, ritroviamo 211 particelle fuori nella pompa neonatale e 28 nella pompa adulta. Ciò significa che, se venissero estratti i valori di PAS per tempi più lunghi nell'adulta, l'effetto del tempo di permanenza delle piastrine all'interno della pompa e il maggiore volume di stagnazione, potrebbero avere un impatto considerevole sul valore di PAS, portandolo a raggiungere o addirittura superare il valore della pompa neonatale. Questo può essere confermato anche dall'andamento della curva di A_PL1 in **Fig. 58**: la pendenza dopo 0,3 s aumenta, mentre quella della pediatrica diminuisce, tendendo a stabilizzarsi. Alla luce di quanto è stato illustrato, si ritiene che l'utilizzo della nuova pompa di Eurosets sia più indicata al trattamento di pazienti neonatali rispetto all'uso di pompe adulte.

Infine, per ottenere un'analisi completa dell'effetto trombogenico della pompa neonatale di Eurosets, nel presente studio viene realizzato un set-up sperimentale per la realizzazione del test del PAS assay. Si sceglie di testare in parallelo la pompa pediatrica più utilizzata e diffusa in commercio, ovvero la PediVas di Abbott, per confrontare le performance della pompa neonatale con il gold standard. I circuiti realizzati per l'esperimento rispettano i requisiti progettuali e funzionali che ne garantiscono la precisione e l'affidabilità dei dati. Infatti, risponde alle esigenze di basso volume di priming e l'assenza di bolle, grazie a una serie di accorgimenti pratici e progettuali. Inoltre, garantisce un monitoraggio costante della pressione e della portata di fluido circolante e consente di eseguire le attività necessarie per la procedura sperimentale del PAS. Il circuito, infine, risulta maneggevole e facile da montare e smontare, grazie alla semplicità dei componenti che lo costituiscono, garantendo così una maggiore efficienza e una minore possibilità di errori durante l'esperimento.

6 Conclusione

Il presente studio si è posto come obiettivo quello di valutare le prestazioni fluidodinamiche e il potenziale trombogenico della nuova pompa centrifuga neonatale a levitazione magnetica di Eurosets, al variare delle condizioni di utilizzo e di confrontare la sua performance con quella della pompa adulta della stessa azienda produttrice, grazie all'utilizzo di simulazioni CFD.

I risultati ottenuti per i tre punti di lavoro scelti dimostrano che la velocità di rotazione è un fattore critico per WSS, SS, SR, SA e PAS, rendendo il punto di lavoro NB_PL3 la condizione più attivante. Al contempo, l'aumento della velocità di rotazione consente un migliore ricircolo del sangue all'interno del dispositivo, riducendo i volumi di stagnazione.

Per tempi brevi di utilizzo, la pompa neonatale ha dimostrato avere un maggiore potenziale trombogenico, causando un aumento dell'indice PAS, se confrontata con la pompa adulta alla stessa portata e prevalenza. Tuttavia, visti i valori di PAS inferiori al 5%, raggiunti in tutte e tre le condizioni operative, e il minimo volume di priming richiesto quando si ha a che fare con pazienti neonatali, si ritiene che la nuova pompa di Eurosets sia più adatta a soddisfare le necessità della popolazione neonatale, rispetto all'utilizzo di una pompa progettata per l'utilizzo nell'adulto.

La principale limitazione dello studio risiede nell'incapacità di valutare e confrontare l'indice PAS delle due pompe per tempi più lunghi, a causa dell'elevato costo computazionale richiesto dalle simulazioni e della necessità di simulare le diverse condizioni di utilizzo in parallelo. Nonostante ciò, i risultati ottenuti valutando il tempo di residenza hanno dimostrato che, il numero di piastrine che escono dopo 0,5 s di utilizzo dalla pompa adulta è molto minore di quelle che escono dalla pompa neonatale, a parità di portata, confermando che queste rimangono intrappolate all'interno dei grandi volumi della pompa adulta per tempi più lunghi. Quello che ci si aspetta, continuando a monitorare la storia delle particelle all'interno della pompa è che il maggiore tempo di residenza porti a un aumento dello stress subito dalle piastrine e della loro storia di carico, portando quindi a un innalzamento anche dell'indice PAS.

Per completare l'analisi, sarà necessario effettuare una valutazione sperimentale dell'effetto trombogenico tramite il PAS assay. A questo scopo è stato realizzato un circuito per il test che si pone come obiettivo il rispetto di alcuni requisiti progettuali come un basso volume di priming, e un monitoraggio costante della pressione e della portata di fluido circolante, in modo da garantire la sicurezza e l'affidabilità dei dati estratti. L'analisi sperimentale permetterà di fornire una visione più completa e approfondita delle prestazioni della pompa. In conclusione, il presente studio rappresenta il punto di partenza per una valutazione che metta in risalto in maniera definitiva le caratteristiche della nuova pompa di Eurosets, per valutarne l'efficacia clinica rispetto alle pompe più comunemente utilizzate in campo neonatale e fornire

strumenti per prendere decisioni ponderate sulla scelta delle pompe da utilizzare in neonatologia, al fine di garantire la massima sicurezza e l'efficacia del trattamento per questi pazienti più vulnerabili.

Bibliografia

- [1] (OMS), Organizzazione Mondiale della Sanità, «Cardiovascular Diseases (cvds),» [Online]. Available: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
- [2] World Health Organization, 2021. [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/congenital-anomalies>.
- [3] American Heart Association, 2022. [Online]. Available: <https://www.heart.org/en/health-topics/congenital-heart-defects>.
- [4] R. Bartlett, A. Gazzaniga, R. Huxtable, H. Schippers, M. O'Connor e M. Jeffries, «Extracorporeal circulation (ECMO) in neonatal respiratory failure,» *J Thorac Cardiovasc Surg*, p. 826–33, 1977.
- [5] G. Ailawadi e R. K. Zacour, *Cardiopulmonary Bypass/Extracorporeal Membrane Oxygenation/Left Heart Bypass: Indications, Techniques, and Complications*, 2009.
- [6] (ELSO), Extracorporeal Life Support Organization, *Extracorporeal Life Support: The ELSO Red Book*, 5th Edition, 2017.
- [7] Cambridge University Press, *Neonatal ECMO: A Clinical Guide*, 3rd Edition, 2019.
- [8] (ELSO), Extracorporeal Life Support Organization, [Online]. Available: https://www.elseo.org/portals/0/files/pdf/extracorporeal_life_support_organization_elso_.1%20pediatric.pdf.
- [9] L. Lequier, S. B. Horton, M. D. McMullan e R. H. Bartlett, «Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuitry,» *Pediatr Crit Care Med.*, 2013.
- [10] A. Maslach-Hubbard e S. L. Bratton, «Extracorporeal membrane oxygenation for pediatric respiratory failure: History, development and current status,» *World J Crit Care Med*, 2013.
- [11] J. Byrnes, W. McKamie, C. Swearingen, P. Proadhan, A. Bhutta, R. Jaquiss, M. Imamura e R. Fiser, «Hemolysis During Cardiac Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Case-Control Comparison of Roller Pumps and Centrifugal Pumps in a Pediatric Population,» *ASAIO Journal*, pp. 57(5):456-61, 2011.

- [12] H. A. e W. Butt, «Pump-induced haemolysis: is the constrained vortex pump better or worse than the roller pump,» *Sage Journal*, 1992.
- [13] M. Bennett, S. Horton, C. Thuys, S. Augustin, M. Rosenberg e C. Brizard, «Pump-induced haemolysis: a comparison of short-term ventricular assist devices,» *Perfusion*, pp. 19(2):107-11, 2004.
- [14] I. Condello, G. Santarpino, G. F. Serraino, P. Mastroroberto, G. Speziale e G. Nasso, «Magnetic levitation pump versus constrained vortex pump: a pilot study on the hemolysis effect during minimal invasive extracorporeal circulation,» *Journal of Cardiothoracic Surgery volume*, n. 253, 2021.
- [15] D. Schibilsky, S. Takatani, B. Schibilsky, T. Graf, D. Michels da Silva, H. P. Wendel, M. Avci-Adali e Christian, «Hemocompatibility of new magnetically-levitated centrifugal pump technology compared to the CentriMag adult pump,» *Sci. Rep.*, p. 10(1):22055, 2020.
- [16] F. Fiusco, L. M. Broman e W. L. Prael, «Blood Pumps for Extracorporeal Membrane Oxygenation: Platelet Activation During Different Operating Conditions,» *ASAIO Journal*, pp. 68(1):p 79-86, 2022.
- [17] P. B. Tracy, L. L. Eide e K. G. Mann, «Human Prothrombinase Complex Assembly and Function on Isolated Peripheral Blood Cell Populations,» *J Biol Chem*, pp. 260(4): 2119-2124., 1985.
- [18] G. Cimmino e P. Golino, «Platelet biology and receptor pathways,» *J. Cardiovasc. Trans Res.*, pp. 6: 299-309, 2013.
- [19] R. Andrews e M. Berndt, «Platelet Physiology and Thrombosis,» *Thrombosis Research*, pp. 114: 447-453., 2004.
- [20] K. Jurk e B. E. Kehrel, «Platelets: Physiology and Biochemistry,» *Semin Thromb Hemost*, pp. 31 (4): 381-392., 2005.
- [21] N. Sorens E, G. Burgreen, W. R. Wagner e J. F. Antaki, «Computational simulation of platelet deposition and activation: Model development and properties,» *Ann Biomed Eng*, pp. 27 (4): 436-448., 1999.
- [22] J. Sheriff, D. Bluestein, G. Girdhar e J. Jesty, «High-Shear Stress Sensitizes Platelet to Subsequent Low-Shear Conditions,» *Ann Biomed Eng*, pp. 38 (4): 1442-1450, 2010.

- [23] D. Han, J. Zhang, B. P. Griffith e Z. J. Wu, «Models of Shear-Induced Platelet Activation and Numerical Implementation With Computational Fluid Dynamics Approaches,» *J Biomech Eng*, p. 144(4):040801, 2022.
- [24] S. Okhota, I. Melnikov, Y. Avtaeva, S. Kozlov e Z. Gabbasov, «Shear Stress-Induced Activation of von Willebrand Factor and Cardiovascular Pathology,» *Int J Mol Sci*, p. 21(20):7804, 2020.
- [25] J. D. Hellums, D. M. Peterson, N. A. Stathopoulos, J. L. Moake e T. D. Giorgio, «Studies on the mechanisms of shear-induced platelet activation,» *Cerebral Ischemia and Hemorheology*, 1987.
- [26] F. Consolo, J. Sheriff, S. Gorla, N. Magri, D. Bluestein, F. Pappalardo, M. J. Slepian, G. B. Fiore e A. Redaelli, «High Frequency Components of Hemodynamic Shear Stress Profiles are a Major Determinant of ShearMediated Platelet Activation in Therapeutic Blood Recirculating Devices,» *Scientific Reports*, n. 4994, 2017.
- [27] J. S. Soares, J. Sheriff e D. Bluestein, «A novel mathematical model of activation and sensitization of platelets subjected to dynamic stress histories,» *Biomech Model Mechanobiol*, p. 12:1127–41, 2013.
- [28] L. H. Tompkins, B. N. Gellman, G. F. Morello, S. R. Prina, T. J. Roussel, J. A. Kopechek, P. C. Petit, M. S. Slaughter, S. C. Koenig e K. A. Dasse, «Design and Computational Evaluation of a Pediatric MagLev Rotary Blood Pump,» *ASAIO Journal*, pp. 67(9):1026-1035, 2021.
- [29] R. Gerrah, K. Charette e J. M. Chen, «The first successful use of the Levitronix PediMag ventricular support device as a biventricular bridge to transplant in an infant,» *J Thorac Cardiovasc Surg*, pp. 142(5):1282-3., 2011.
- [30] D. Blume Elizabeth, D. N. Rosenthal, J. W. Rossano, J. T. Baldwin, P. Eghtesady, D. L. S. Morales, R. S. Cantor, J. Conway, A. Lorts, C. S. Almond, D. C. Naftel e J. K. Kirklin, «Outcomes of children implanted with ventricular assist devices in the United States: First analysis of the Pediatric Interagency Registry for Mechanical Circulatory Support (PediMACS),» *J Heart Lung Transplant*, pp. 35(5):578-84., 2016.
- [31] Y. Hirata, K. Charette, R. S. Mosca, J. M. Quaegebeur e J. M. Chen, «Pediatric application of the Thoratec CentriMag BiVAD as a bridge to heart transplantation,» *J Thorac Cardiovasc Surg*, pp. 136(5):1386-7., 2008.
- [32] S. Bozzi, S. Vesentini, M. Santus, N. Ghelli, P. Fontanili, M. Corbelli, G. B. Fiore e A. C. L. Redaelli, «Fluid dynamics characterization and thrombogenicity assessment of

- a levitating centrifugal pump with different impeller designs,» *Medical Engineering and Physics*, p. 26–33, 2020.
- [33] C. Bludszuweit, «Model for a general mechanical blood damage prediction,» *Artificial Organs*, p. 19:583–9, 1995.
- [34] M. A. Sobieski, G. A. Giridharan, M. Ising e S. C. Koenig, «Blood Trauma Testing of CentriMag and RotaFlow,» *Artificial Organs*, 2012.
- [35] S. Wang, M. K. Moroi, A. R. Kunselman, J. L. Myers e A. Ündar, «Evaluation of centrifugal blood pumps in term of hemodynamic performance using simulated neonatal and pediatric ECMO circuits,» *Artificial Organs*, 2020.
- [36] F. Consolo, L. Valerio, S. Brizzola, P. Rota, G. Marazzato, V. Vincoli, S. Reggiani, A. Redaelli e G. B. Fiore, «On the Use of the Platelet Activity State Assay for the In Vitro Quantification of Platelet Activation in Blood Recirculating Devices for Extracorporeal Circulation,» *Artificial Organs*, pp. 40(10):971-980, 2016.
- [37] J. Jesty e D. Bluestein, «Acetylated prothrombin as a substrate in the measurement of the procoagulant activity of platelets: elimination of the feedback activation of platelets by thrombin,» *Anal Biochem*, pp. 272(1):64-70, 1999.
- [38] L. Valerio, F. Consolo, D. Bluestein, P. Tran, M. Slepian, A. Redaelli e F. Pappalardo, «Shear-Mediated Platelet Activation in Patients Implanted with Continuous Flow LVADs: a Preliminary Study Utilizing the Platelet Activity State (PAS) Assay,» in *IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, 2015.
- [39] P. Moin e K. Mahesh, «Direct numerical simulation: a tool in turbulence research,» *Annual Review of Fluid Mechanics*, 1998.
- [40] R. D. Moser e P. Moin, «The effects of curvature in wall-bounded turbulent flows,» *Journal of Fluid Mechanics*, 1987.
- [41] P. R. Spalart, «Direct numerical simulation of a turbulent boundary layer up to $Re_\tau = 1410$,» *Journal of Fluid Mechanics*, 1988.
- [42] M. M. Rogers e P. Moin, «The structure of the vorticity field in homogeneous turbulent flows,» *Journal of Fluid Mechanics*, 1987.
- [43] P. Hochareon, K. B. Manning, A. A. Fontaine, J. M. Tarbell e S. Deutsch, «Correlation of in vivo clot deposition with the flow characteristics in the 50 cc penn state artificial heart: A preliminary study,» *ASAIO Journal*, 2004.

- [44] J. K. W. Chesnutt e H. C. Han, «Tortuosity triggers platelet activation and thrombus formation in microvessels,» *Journal of Biomechanical Engineering*, 2011.
- [45] W. Braun, F. De Lillo e B. Eckhardt, «Geometry of particle paths in turbulent flows,» *Journal of Turbulence*, 2009.

