

POLITECNICO DI MILANO

Facoltà di Ingegneria dei Sistemi

Corso di Laurea Specialistica in Ingegneria Biomedica



**OTTIMIZZAZIONE DI STRUMENTI E PROCEDURE
PER IL TEST DI VALVOLE MITRALI PORCINE IN UN
BANCO PROVA PULSATILE**

Relatore: Prof. G. Beniamino FIORE

Correlatori: Ing. Andrea PAVESI

Ing. Riccardo VISMARA

Ing. Emiliano VOTTA

Tesi di Laurea di:

Marta PAVESI mat. 721084

Silvia SESANA mat. 721204

Anno Accademico 2009-2010

Indice

Sommario	pag.	I
Abstract	pag.	VII
Introduzione	pag.	1
Capitolo I – Anatomia e patologie della valvola mitrale	pag.	3
1.1 Il cuore	pag.	3
1.2 La valvola mitrale	pag.	5
1.2.1 I lembi della valvola mitrale	pag.	6
1.2.2 L' <i>annulus</i> mitralico	pag.	8
1.2.3 I muscoli papillari	pag.	9
1.2.4 Le corde tendinee	pag.	11
1.3 Patologie della valvola mitrale	pag.	12
1.4 L'insufficienza mitralica	pag.	13
1.5 Tecniche riparative dell'insufficienza mitralica funzionale	pag.	15
1.5.1 Annuloplastica	pag.	16
1.5.2 La tecnica <i>Edge-to-Edge</i> (tecnica Alfieri)	pag.	19
1.5.3 Riduzione del diametro antero-posteriore dell' <i>annulus</i> mitralico	pag.	21
1.5.4 Riposizionamento dei muscoli papillari	pag.	22
1.5.5 Riparazione delle corde tendinee	pag.	22

Capitolo II – Stato dell’arte	pag.	24
2.1 Georgia Tech left heart simulator	pag.	24
2.1.1 Prima versione	pag.	25
2.1.2 Seconda versione	pag.	30
2.1.3 Terza versione	pag.	38
2.2 Banco prova realizzato al μ BS	pag.	40
2.2.1 Descrizione del banco prova	pag.	40
2.2.2 Studi effettuati	pag.	48
2.2.3 Criticità del banco prova	pag.	49
Capitolo III – Ottimizzazione del banco prova e set-up sperimentale	pag.	51
3.1 Criticità del banco prova e soluzioni adottate	pag.	51
3.1.1 Sostituzione del fluido di lavoro e delle linee idrauliche	pag.	52
3.1.2 Antiggioco	pag.	55
3.1.3 Effetto delle modifiche al sistema di posizionamento dei papillari	pag.	56
3.1.4 Isolamento cella di carico	pag.	58
3.1.5 Camera atriale	pag.	63
3.2 Circuito idraulico	pag.	64
3.3 Strumentazioni di misura	pag.	65
3.4 Collaudo del banco prova in assenza di impedenza sistemica	pag.	66
Capitolo IV – Protocollo di prova	pag.	68
4.1 Preparazione e montaggio del campione biologico	pag.	68
4.2 Preparazione del banco prova e protocolli operativi	pag.	72
4.3 Protocolli per il posizionamento dei muscoli papillari	pag.	75
4.3.1 Definizione di un protocollo per riprodurre la configurazione fisiologica dei muscoli papillari	pag.	75

4.3.2	Definizione de un protocollo per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari	pag.	77	
4.3.2.1	Protocollo 1	pag.	77	
4.3.2.2	Protocollo 2	pag.	78	
4.3.2.3	Protocollo 3	pag.	79	
4.3.3	Una possibile applicazione: test sull'anello Cardinal di Valtech Cardio	pag.	80	
Capitolo V- Risultati e discussione			pag.	82
5.1	Protocollo per riprodurre la configurazione fisiologica dei muscoli papillari	pag.	82	
5.1.1	Andamenti delle variabili di interesse	pag.	82	
5.1.2	Analisi dei risultati	pag.	85	
5.2	Protocollo 1 per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari	pag.	87	
5.2.1	Andamenti delle variabili di interesse	pag.	87	
5.2.2	Analisi dei risultati	pag.	90	
5.3	Protocollo 2 per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari	pag.	91	
5.3.1	Andamenti delle variabili di interesse	pag.	91	
5.3.2	Analisi dei risultati	pag.	95	
5.4	Protocollo 3 per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari	pag.	98	
5.4.1	Andamenti delle variabili di interesse	pag.	98	
5.4.2	Analisi dei risultati	pag.	105	
5.5	Una possibile applicazione: test sull'anello Cardinal di Valtech	pag.	107	
5.5.1	Andamenti delle variabili di interesse	pag.	107	
5.5.2	Analisi dei dati	pag.	110	

Conclusioni e sviluppi futuri	pag. 112
Bibliografia	pag. 115
Appendice A - Specifiche silicone Sylgard184	pag. 127
Appendice B - Specifiche delle celle di carico	pag. 130
Appendice C - Specifiche silicone NuSil	pag. 134
Appendice D - Specifiche M-Coat C Air-Drying Silicone Rubber	pag. 136
Appendice E – Anello per annuloplastica Cardinal di Valtech Cardio	pag. 138
Appendice F – Dati morfometrici dei campioni valvolari	pag. 141

Indice delle Figure

Figura	Didascalia	Pagina
1.1	Immagine del cuore e dei suoi componenti.	4
1.2	Rappresentazione della valvola mitrale e di tutti i suoi componenti	5
1.3	Immagine della valvola mitrale come un tratto continuo di tessuto. Sono indicati i foglietti anteriore e posteriore, così come i segmenti laterale e mediale, le corde tendinee e i muscoli papillari.	7
1.4	Fotografie di muscoli papillari: A) muscoli papillari umani semplici; B) muscoli papillari umani complessi; C) muscoli papillari porcini.	10
1.5	Nella prima immagine si riporta la normale coaptazione dei lembi valvolari; nella seconda e nella terza immagine sono rappresentati il <i>tethering</i> asimmetrico e quello simmetrico.	14
1.6	<i>Annulus</i> Mitralico. A: Rapporto normale tra il diametro antero-posteriore e commisuro-commissurale (3:4). B: Inversione del rapporto nella valvola con rigurgito cronico. C: Correzione del rapporto mediante posizionamento di anello protesico.	17
1.7	L'insufficienza mitralica, può essere trattata con vari modelli di anello a seconda che l'eziologia sia degenerativa, non degenerativa o funzionale. A, Myxo Etlogix annuloplasty ring (Edwards Lifesciences); B, Carpentier-Edwards Classic mitral Annuloplasty ring (Edwards Lifesciences); C, Colvin-Galloway Future Composite Ring (Medtronic); D, Rigid Saddle Ring (St. Jude Medical); E, AnnuloFlo annuloplasty ring (CarboMedics/Sorin Group); F, Carpentier-McCarthy-Adams IMR Etlogix ring (Edwards Lifesciences); and G, GeoForm annuloplasty ring (Edwards Lifesciences).	18

1.8	Tecnica <i>Edge to Edge</i> . Consiste nell'approssimazione del margine libero dei segmenti prolassanti mediante una sutura creando una valvola con un doppio orifizio (immagine a sx), qualora la sutura sia centrale, od un orifizio singolo (immagine a dx), ma più piccolo, qualora l'origine del jet e quindi la sutura sia paracommissurale.	19
1.9	Dispositivo Mitraclip [®] (E-Valve, Menlo Place, CA, USA). Tale dispositivo permette di catturare i lembi mitralici con accesso percutaneo ed avvicendarli ottenendo un doppio orifizio valvolare.	20
1.10	Fotografia dell'orifizio mitralico dopo una riduzione del diametro antero-posteriore dell'annulus mitralico.	21
1.11	Trasposizione delle corde tendinee in un foglietto anteriore prolassante a causa di un danneggiamento delle corde tendinee.	23
2.1	Illustrazione della prima versione del banco prova "Georgia Tech left heart simulator".	25
2.2	Rappresentazione dei due anelli rigidi su cui viene montata la valvola mitrale porcina.	26
2.3	Immagine della camera ventricolare, in particolare del meccanismo di movimentazione dei muscoli papillari.	27
2.4	Rappresentazione schematica del meccanismo di movimentazione dei muscoli papillari e del sistema di riferimento utilizzato. Il papillare può essere spostato nelle direzioni apicale (A), posterolaterale (PL) e apical-posterolaterale. Il foglietto anteriore è indicato con la sigla AL.	27
2.5	Fotografia dell'anello regolabile a forma di "D".	29
2.6	Volumi di rigurgito ottenuti in funzione della taglia dell'anello per ogni configurazione testata.	29
2.7	Immagine della seconda versione del banco prova Georgia Tech.	30
2.8	(a) Rappresentazione schematica delle modalità di azionamento del sistema di posizionamento. La posizione del papillare è identificata dalla coordinata R [rotazione (degree)], A [spostamento apicale (mm)], e S [spostamento in direzione anteroposteriore (mm)]; (b) Meccanismo di posizionamento situato all'esterno del banco prova.	31

2.9	Grafici raffiguranti gli andamenti nel tempo (a) della portata transmitralica, (b) della pressione transmitralica, (c) della forza relativa al muscolo posteromediale, (d) della forza relativa al muscolo anterolaterale (Jensen <i>et al.</i> , 2001).	32
2.10	Grafici raffiguranti il valore di forza rilevata dagli estensimetri in funzione del valore di pressione transmitralica per (a) posizione fisiologica, (b) spostamento di 3mm in direzione apicale, (c) 3mm in direzione apicale e 45° di retazione dell'afferraggio in senso laterale (Jensen <i>et al.</i> , 2001).	33
2.11	Immagine raffigurante la matrice 4x4 realizzata con 16 <i>marker</i> posti sulla regione centrale del foglietto anteriore (Sacks <i>et al.</i> , 2002).	34
2.12	(a) Rappresentazione schematica del <i>design</i> della catena. (b) Fotografia dell'anello in configurazione "a sella".	35
2.13	Andamenti delle forze e della pressione transmitralica in un ciclo cardiaco per l' <i>annulus</i> piatto (Jimenez <i>et al.</i> , 2003).	35
2.14	Andamenti delle forze e della pressione transmitralica in un ciclo cardiaco per l' <i>annulus</i> a sella (Jimenez <i>et al.</i> , 2003).	36
2.15	Immagine del modello di <i>annulus</i> flessibile e dei suoi componenti.	37
2.16	Volume di rigurgito medio per <i>annulus</i> flat, a sella e flessibile. I risultati mostrano un aumento significativo del volume di rigurgito con <i>annulus</i> flessibile (Jimenez <i>et al.</i> , 2005).	38
2.17	Rappresentazione della nuova geometria del banco prova Georgia Tech. Tutte le quote sono espresse in mm (Ritchie <i>et al.</i> , 2006).	39
2.18	Disegno del banco prova nel suo insieme realizzato in Pro Engineer.	40
2.19	Disegno 3D esploso del blocco atriale realizzato in Pro Engineer: con la lettera A viene indicato il volume della camera atriale con i fori di ingresso del fluido e cava per alloggiamento dell'o-ring in silicone, con B l'elemento poroso, con C il coperchio con per il fluido in posizione tangenziale. Le frecce indicano il verso di percorrenza del fluido e il triangolo schematizza il piano di vista per la valvola mitrale.	41

2.20	Precamera e camera atriale vincolate con sistema a baionetta: si possono osservare l'ingresso tangenziale e i fori di passaggio del fluido (l'elemento poroso è stato rimosso per permettere la visualizzazione).	42
2.21	Sistema di afferraggio della valvola mitrale: con la lettera A si indica il sistema di bloccaggio a baionetta e con la lettera B gli anelli per l'irrigidimento del piano valvolare.	43
2.22	Esploso del sistema di afferraggio realizzato in Pro Engineer. In grigio è indicato il sistema di alloggiamento del papillare, in blu la cella di carico e in giallo il sistema al quale viene ancorato il muscolo papillare mediante suture e che mette in compressione la cella di carico. La freccia indica la direzione di applicazione della forza, verso il piano valvolare.	44
2.23	Sistema di posizionamento triassiale del muscolo papillare: slitta lineare per l'asse z (direzione apicale), pistoni pneumatici per gli assi x (direzione laterale) e y (direzione anteroposteriore) (Disegno realizzato in Pro Engineer).	45
2.24	Interfaccia di collegamento per i tubi che controllano il movimento dei minicilindri.	46
2.25	Connettore a quattro poli che collega la cella di carico con il sistema di amplificazione del segnale.	46
2.26	Camicia in silicone ottenuta con l'utilizzo del silicone bi componente ELASTOSIL® RT 601 US.	47
2.27	Centralina contenente il sistema di amplificazione del segnale proveniente dalle celle e alimentazione per le stesse: sul coperchio si possono osservare i due connettori per le celle di carico e i due connettori jack femmina per il segnale destinato alla scheda di acquisizione.	47
2.28	Andamenti nel tempo (a) della portata trans mitralica, (b) della pressione trans mitralica, (c) della forza del muscolo papillare (Tesi di laurea Ing. A. Pavesi).	48
2.29	Grafico raffigurante il valore di forza rilevata dagli estensimetri in funzione del valore di pressione transmitrale per la posizione fisiologica (Tesi di laurea Ing. A. Pavesi).	49
3.1	Linee idrauliche di comando dei minicilindri : si noti come calzino direttamente sui connettori metallici evitando ulteriori connessioni.	53

3.2	Connettori a forma di “Y” utilizzati per lo spurgo delle bolle.	54
3.3	Interfaccia delle linee idrauliche di comando dei minicilindri sul coperchio del volume ventricolare: si utilizzano tubi passanti (a) e si garantisce la tenuta per mezzo di silicone (b).	55
3.4	Meccanismo per diminuire il gioco in direzione apicale cui erano soggetti i minicilindri interni. Si notino i due perni (A) fissati alla slitta del movimento apicale e la piccola asta metallica (B) passante nei perni e fissata al minicilindro che permette lo spostamento in direzione antero-posteriore.	56
3.5	Test di affidabilità sul posizionamento attuato dai minicilindri: si è misurata la lunghezza dello stelo del cilindro interno in funzione dello spostamento controllato del minicilindro esterno.	57
3.6	Interfaccia del filo di trasmissione del segnale della cella di carico sul coperchio del volume ventricolare: il filo è passante e la tenuta del banco è garantita per mezzo di silicone.	58
3.7	(a) Centralina contenente il sistema di amplificazione del segnale proveniente dalle celle e alimentazione per le stesse: sul coperchio si possono osservare i due connettori LEMO femmina miniaturizzati per le celle di carico e i due connettori BNC per il segnale destinato alla scheda di acquisizione. (b) Connettore miniaturizzato per cavi quattro poli LEMO.	59
3.8	Sistema di afferraggio di un muscolo papillare con all’interno la cella di carico: sul sistema d’afferraggio è stata calzata una camicia in silicone per isolare la cella dall’ambiente acquoso esterno e per lo stesso motivo il filo di trasmissione del segnale è stato ricoperto di silicone.	61
3.9	(a) e (b) Curve di calibrazione delle celle di carico per valutare l’effetto degli strati di silicone sulla misura della forza.	62
3.10	Immagine del <i>set-up</i> sperimentale per il banco prova. Sono indicati i componenti principali del circuito idraulico.	64
3.11	Immagine del <i>set-up</i> sperimentale per il banco prova. Con le frecce sono indicati i punti in cui vengono rilevati i dati di pressione e di portata.	66
3.12	Banco prova in configurazione di collaudo. L’uscita aortica e l’ingresso all’atrio sono entrambi collegati al <i>reservoir</i> . Sono indicati anche il sistema pompante e il manometro utile a una misurazione qualitativa della pressione ventricolare.	67

4.1	Fase di sutura della valvola mitrale al patch di supporto.	69
4.2	Valvola mitrale cucita al patch a cui si è poi applicato l'anello Cardinal di Valtech Cardio.	70
4.3	Valvola mitrale cucita al patch montata sul banco prova attraverso la chiusura a baionetta.	71
4.4	Muscolo papillare ancorato al sistema di afferraggio tramite fili di sutura.	71
4.5	Andamento qualitativo della portata transmitralica nel tempo. L'area in giallo rappresenta il volume di rigurgito calcolato; t_r è l'istante di tempo in cui termina la fase di rigurgito dinamico; t_d è l'istante di tempo in cui si ha l'inversione di portata da negativa a positiva; Q_{ms} è la portata media sistolica ottenuta mediando la portata transmitralica sull'intervallo di tempo che va da t_r a t_d . In viola sono riportati gli intervalli di tempo relativi alla sistole e alla diastole come definiti in questo paragrafo; in verde R_d e R_s sono gli intervalli di tempo corrispondenti rispettivamente alla fase di rigurgito dinamico e alla fase di rigurgito statico.	73
4.6	Misure rilevate a cuore integro: in giallo si evidenziano le distanze tra annulus mitralico e testa del muscolo papillare in corrispondenza delle corde commissurali (a sinistra per il muscolo papillare anterolaterale e a destra per il posteromediale); in blu la distanza tra le teste dei due muscoli.	77
4.7	Schizzo della valvola raffigurante le direzioni degli spostamenti imposti ai muscoli papillari e (tratteggiata) la loro posizione finale.	78
4.8	Test valvolare con anello Valtech: a sinistra la valvola in fase di sistole; a destra in fase di diastole. Si notino i riferimenti disegnati con un pennarello sul patch utili a un corretto riposizionamento della valvola dopo la riduzione di taglia.	81
5.1	Grafico raffigurante gli andamenti delle pressioni atriale (rappresentata in blu), ventricolare (in rosso) e aortica (in verde) durante due cicli cardiaci (valvola 1).	83
5.2	Grafico raffigurante l'andamento della pressione trans mitralica durante due cicli cardiaci (valvola 1).	83

5.3	Grafico raffigurante l'andamento della portata trans mitralica durante due cicli cardiaci (valvola 1).	84
5.4	Grafico raffigurante l'andamento delle forze relative al muscolo papillare anterolaterale (in blu) e al papillare posteromediale (in rosso) durante due cicli cardiaci (valvola 1).	84
5.5	Grafico raffigurante l'andamento della pressione transmitralica (in blu) e della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale (in rosso) durante due cicli cardiaci (valvola 1).	85
5.6	A sinistra si mostrano gli andamenti delle forze relative ai muscoli papillari posteromediale (in alto) e anterolaterale (in basso) ricavati in questo studio. A destra si riportano gli stessi andamenti (forza relativa al papillare posteromediale in alto e anterolaterale in basso) ricavati nello studio di Jensen nel 2001.	86
5.7	Grafico raffigurante l'andamento del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti relativi alla valvola 1. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	87
5.8	Grafico raffigurante gli andamenti della pressione transmitralica per ogni configurazione testata durante due cicli cardiaci (valvola 1).	88
5.9	Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale per ogni configurazione testata durante due cicli cardiaci (valvola 1).	89
5.10	Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare posteromediale per ogni configurazione testata durante due cicli cardiaci (valvola 1).	89
5.11	Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti per ognuna delle quattro valvole testate. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	91
5.12	Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).	93
5.13	Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare posteromediale per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).	93

5.14	Grafico raffigurante gli andamenti della portata transmitralica per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).	94
5.15	Grafico raffigurante gli andamenti della pressione transmitralica per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).	94
5.16	Immagine schematica dell'andamento sigmoidale del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti ipotizzato per ogni valvola.	97
5.17	Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche relative al muscolo papillare anterolaterale (APM) e posteromediale (PPM) per la valvola 9 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	98
5.18	Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche relative al muscolo papillare anterolaterale (APM) e posteromediale (PPM) per la valvola 10 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	99
5.19	Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche relative al muscolo papillare anterolaterale (APM) e posteromediale (PPM) per la valvola 11 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	99
5.20	Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito che si ricavano spostando i muscoli papillari di 3, 6, 9mm a partire dalla configurazione limite. Le barre d'errore rappresentano la deviazione standard.	101
5.21	Istogramma mostrante le variazioni del volume di rigurgito per ogni valvola testata in ogni configurazione riprodotta.	101
5.22	Grafico raffigurante gli andamenti della portata transmitralica per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).	103
5.23	Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare posteromediale per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).	103
5.24	Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).	104

5.25	Grafico raffigurante gli andamenti della pressione transmitralica per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).	104
5.26	Istogramma riportante i volumi di rigurgito per ogni taglia dell'anello in ognuna delle configurazioni testate per la valvola 9 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	107
5.27	Istogramma riportante i volumi di rigurgito per ogni taglia dell'anello in ognuna delle configurazioni testate per la valvola 10 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	108
5.28	Istogramma riportante i volumi di rigurgito per ogni taglia dell'anello in ognuna delle configurazioni testate per la valvola 11 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.	108
E1	Anello regolabile semirigido Cardinal di Valtech.	138
E2	(a) Rappresentazione della manopola di regolazione. (b) Immagine raffigurante la manopola fissata all'anello in corrispondenza del <i>roller</i> .	139
E3	Rappresentazione della manopola di regolazione e di tutte le sue parti.	139
E4	Rappresentazione della regolazione della dimensione dell'anello utilizzando la manopola di regolazione.	140

Indice delle tabelle

Tabella	Didascalia	Pagina
1.1	Cause e meccanismi dell'insufficienza mitralica.	13
5.1	Tabella riportante i valori di p ricavati attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito nelle condizioni di spostamento dei papillari e quelli nelle condizioni iniziali.	92
5.2	Tabella riportante i valori di p ricavati attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito in una configurazione dei papillari e i valori di rigurgito nella configurazione precedente.	92
5.3	Tabella riportante i valori di p ottenuti attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche ricavati in ogni configurazione con i corrispondenti valori relativi alla configurazione di spostamento precedente.	100
5.4	Tabella riportante i valori di p ricavati attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito nelle configurazioni di dislocamento dei papillari e i valori di rigurgito relativi alla configurazione limite.	102
5.5	Tabella riportante i valori di p ottenuti per la valvola 9 confrontando i valori di volume di rigurgito relativi ad ogni configurazione testata calcolati per le taglie 36 e 38 dell'anello con i valori di rigurgito ottenuti per la taglia 38.	109
5.6	Tabella riportante i valori di p ottenuti per la valvola 10 confrontando i valori di volume di rigurgito relativi ad ogni configurazione testata calcolati per le taglie 38 e 36 dell'anello con i valori di rigurgito ottenuti per la taglia 40.	109
5.7	Tabella riportante i valori di p ottenuti per la valvola 10 confrontando i valori di volume di rigurgito relativi ad ogni configurazione testata calcolati per le taglie 30 e 28 dell'anello con i valori di rigurgito ottenuti per la taglia 32.	110

E1	Tabella che riassume le dimensioni disponibile dell'anello Cardinal di Valtech.	140
F1	Dati morfometrici dei campioni valvolari.	141

Sommario

Introduzione

Ad oggi le tecniche di riparazione della valvola mitrale affetta da insufficienza funzionale hanno mostrato risultati a medio e a lungo termine sub-ottimali (Grigioni *et al.*, 2001).

Esse potrebbero quindi essere ottimizzate attraverso lo studio dei cambiamenti che inducono sulla funzionalità e sulla meccanica valvolare. Studi *in vitro* hanno il vantaggio di poter isolare e controllare indipendentemente parametri rilevanti per la funzionalità valvolare e possono fornire a riguardo informazioni quantitative in caso di condizioni fisiologiche, patologiche e dopo una riparazione.

Lo scopo di questo lavoro di tesi è quello di identificare un protocollo di prova affidabile e ripetibile al fine di svolgere campagne sperimentali su valvole mitrali porcine con il banco prova sviluppato presso il laboratorio μ BS del Dipartimento di Bioingegneria del Politecnico di Milano (Tesi di laurea Ing. A.Pavesi).

In particolare gli obiettivi di questo lavoro sono due:

- individuare un protocollo di prova affidabile per posizionare la valvola mitrale in modo da riprodurre condizioni emodinamiche fisiologiche;
- definizione di un protocollo utile a indurre diversi gradi di insufficienza mitralica funzionale attraverso spostamenti dei muscoli papillari di diversa entità in modo controllabile.

Materiali e metodi

Banco prova

Il banco prova è costituito da una camera ventricolare e una camera atriale tra le quali è posto l'alloggiamento per una valvola mitrale porcina.

La valvola è ancorata alla camera ventricolare attraverso una chiusura a baionetta; ogni muscolo papillare è fissato a un afferraggio che include una cella di carico utile alla rilevazione del vettore forza agente sul papillare.

Questo banco prova è equipaggiato con un sistema di posizionamento dei muscoli papillari che consente la loro dislocazione nelle tre direzioni apicale, anteroposteriore e laterale. Lo spostamento in direzione apicale è garantito da una vite di Archimede posta su una guida lineare ancorata alla camera ventricolare, quelli nelle direzioni anteroposteriore e laterale attraverso due minicilindri a doppio effetto collegati tra loro attraverso linee idrauliche. A ogni minicilindro interno ne corrisponde uno uguale esterno e i due sono connessi per mezzo di linee idrauliche in modo che quello esterno funga da attuatore per quello interno.

Ottimizzazione del banco prova

Il banco prova è stato modificato al fine di superarne i limiti evidenziati in studi precedenti.

L'olio minerale utilizzato come fluido di lavoro nel circuito di comando dei pistoni è stato sostituito con acqua distillata per evitare di deteriorare le guarnizioni dei pistoni, diminuendo così la loro efficienza.

E' stato introdotto un meccanismo per diminuire il gioco meccanico in direzione apicale cui erano soggetti i minicilindri; tale sistema è costituito da due staffe fissate alla slitta apicale e un'asta che collega le staffe al pistone permettendo a quest'ultimo lo spostamento in direzione anteroposteriore.

Per ridurre il rischio di danneggiamento della cella di carico connesso al suo utilizzo in ambiente acquoso la si è impermeabilizzata tramite un processo di *dipping* in silicone Sylgard 184 (Dow Corning Corporation). Da ultimo, per facilitare le operazioni di debollamento della camera atriale, è stato aggiunto un nuovo punto di spurgo costituito da un foro nella parete dal quale è possibile aspirare le bolle presenti.

Circuito idraulico e strumenti di misura

Il set-up sperimentale è costituito da un circuito idraulico (Figura 1) composto da un sistema pompante connesso alla camera ventricolare, a valle della quale si posizionano un simulatore di impedenza sistemica e un *reservoir* che riversa direttamente nella camera atriale.

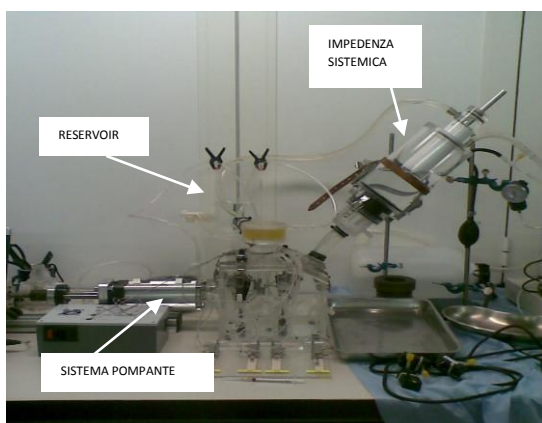


Figura 1 Immagine del set-up sperimentale per il banco prova. Sono indicati i componenti principali del circuito idraulico.

La strumentazione di misura è costituita da: tre sensori di pressione differenziali (143PC05D di *Honeywell*) per la misura della pressione atriale, ventricolare ed aortica; un flussimetro a tempo di transito (*Transonic system* HT110) per la rilevazione della portata trans mitralica posizionato sul tubo di collegamento tra reservoir e atrio; due celle di carico (*Honeywell*) a compressione miniaturizzate per la misura delle forze

sui muscoli papillari.

Protocollo di prova

Le valvole utilizzate nella campagna sperimentale sono estratte da cuori di maiale preservando tutte le strutture sottovalvolari.

A cuore integro vengono rilevate le seguenti misure morfometriche della valvola utilizzando un calibro a corsoio (Figura 2):

- distanza commisuro-commissurale;
- distanza tra l'annulus mitralico a livello dell'inserimento delle corde commissurali e la testa di ognuno dei muscoli papillari;
- distanza tra le teste dei muscoli papillari.

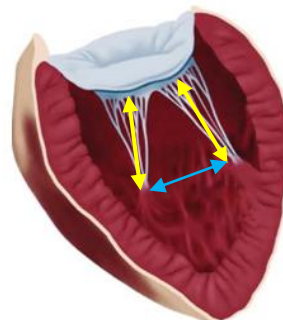


Figura 2 Misure rilevate a cuore integro: in giallo si evidenziano le distanze tra annulus mitralico e testa del muscolo papillare in corrispondenza delle corde commissurali (a sinistra per il muscolo papillare anterolaterale e a destra per il posteromediale); in blu la distanza tra le teste dei due muscoli.

Dopo l'estrazione, la valvola viene cucita a un patch di supporto in Dacron attorno a foro di una taglia più grande rispetto alla distanza commisuro-commissurale rilevata precedentemente. Sull'*annulus* valvolare viene poi cucito l'anello per annuloplastica Cardinal in modo da conferire all'*annulus* una forma più simile a quella fisiologica. Il patch viene fissato tramite la chiusura a baionetta e i muscoli papillari vengono ancorati al

sistema di afferraggio con del filo chirurgico da sutura.

Al fine di riprodurre le condizioni emodinamiche fisiologiche i muscoli papillari vengono posizionati impostando sul banco prova le misure rilevate a cuore integro: questa configurazione viene definita *configurazione fisiologica*.

Per riprodurre invece diversi gradi di insufficienza valvolare è necessario prima identificare la *configurazione limite*, cioè la configurazione che rappresenta la posizione dei muscoli papillari in cui si ha la transizione da una condizione di continenza della valvola a una condizione di insufficienza, in relazione allo spostamento imposto ai papillari. Per individuarla si dislocano simmetricamente i muscoli papillari dalla condizione fisiologica in direzione apicale e laterale di intervalli di 5mm fino a che un'analisi qualitativa dei tracciati acquisiti fa supporre di aver raggiunto una configurazione in cui la valvola è gravemente insufficiente. Analizzando questi dati si cerca la configurazione dei papillari a partire dalla quale ogni ulteriore spostamento in direzione apical-laterale ha provocato un aumento importante sia del valore del volume di rigurgito, sia del valor medio della forza in fase di diastole. A partire da questa configurazione limite i papillari vengono poi dislocati simmetricamente di 3, 6, 9mm nelle direzioni già citate (Figura 3) al fine di indurre diversi gradi di insufficienza funzionale.

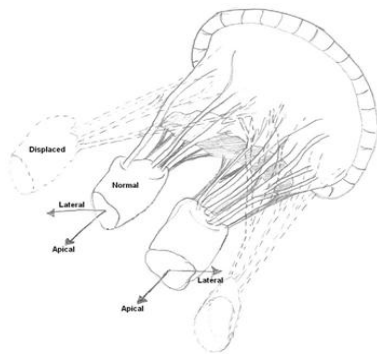


Figura 3 Schizzo della valvola raffigurante le direzioni degli spostamenti imposti ai muscoli papillari e (tratteggiata) la loro posizione dislocata.

Tutte le prove sperimentali sono state condotte imponendo al sistema pompante uno *stroke volume* di 66 ml e una frequenza di 75 bpm (*cardiac output* di 5l/min).

Per acquisire i dati relativi alle pressioni, alla portata e alle forze si collegano i trasduttori di pressione, il flussimetro e le celle di carico a un PC equipaggiato con scheda di acquisizione A/D (National Instruments) dalla quale i segnali vengono acquisiti e registrati da un software dedicato sviluppato in ambiente LabView (National Instrument).

Risultati

Per ogni valvola è stata identificata la configurazione definita fisiologica. Si riportano gli andamenti delle pressioni atriale, ventricolare e aortica e l'andamento della portata transmitralica (Figure 4 e 5).

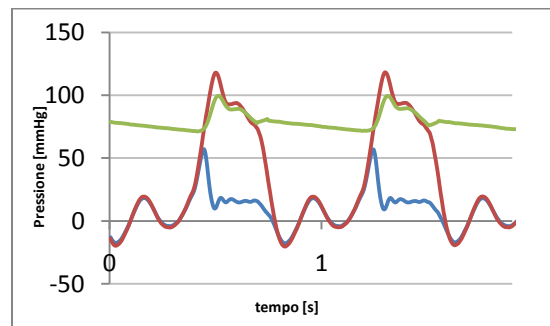


Figura 4 Grafico raffigurante gli andamenti delle pressioni atriale (rappresentata in blu), ventricolare (in rosso) e aortica (in verde) durante due cicli cardiaci (valvola 1).

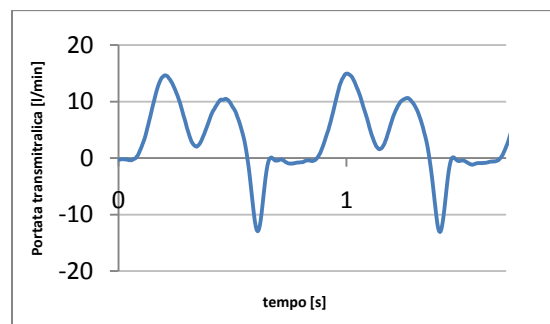


Figura 5 Grafico raffigurante l'andamento della portata transmitralica durante due cicli cardiaci (valvola 1).

Si riporta inoltre in figura 6, a titolo esemplificativo, il grafico relativo alla ricerca della configurazione limite per una delle valvole testate.

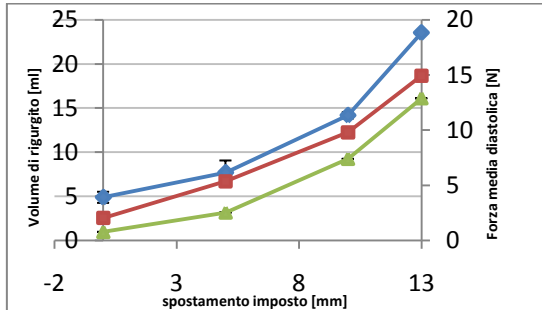


Figura 6 Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito (in blu) e delle forze medie diastoliche relative al muscolo papillare anterolaterale (APM) (in verde) e posteromediale (PPM) (in rosso) per la valvola 9 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

Le figure 7, 8 e 9 mostrano gli andamenti del volume di rigurgito, della forza relativa al muscolo papillare posteromediale e della pressione transmitralica in funzione degli spostamenti imposti a partire dalla configurazione limite, al fine di indurre diversi gradi di insufficienza mitralica funzionale.

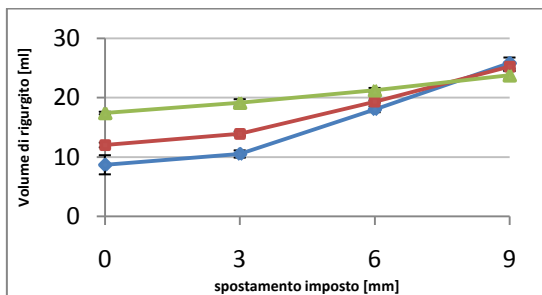


Figura 7 Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito che si ricavano spostando i muscoli papillari di 3, 6, 9mm a partire dalla configurazione limite. Le barre d'errore rappresentano la deviazione standard. In blue è rappresentato l'andamento della valvola 9, in rosso la 10 e in verde la 11.

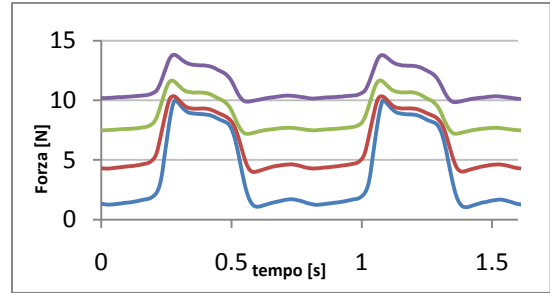


Figura 8 Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare posteromediale in funzione degli spostamenti imposti per la valvola 10 (blu: configurazione limite, rosso: spostamento di 3mm, verde: spostamento di 6mm, viola: spostamento di 9mm).

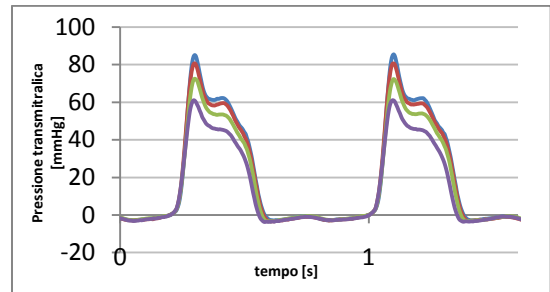


Figura 9 Grafico raffigurante gli andamenti della pressione transmitralica per ognuna delle configurazioni testate per la valvola 10. (blu: configurazione limite, rosso: spostamento di 3mm, verde: spostamento di 6mm, viola: spostamento di 9mm).

Discussione

Applicando il protocollo descritto si è riusciti ad identificare la posizione della valvola in corrispondenza della quale si ottengono condizioni emodinamiche fisiologiche. Come si può osservare in Figura 4, gli andamenti e i valori delle pressioni trovate rispecchiano quelli fisiologici, ad eccezione dei picchi negativi che si riscontrano nelle curve di pressione ventricolare e atriale in fase diastolica, che sono causati dal sistema pompante che in questa fase aspira volume all'interno del proprio cilindro. Anche l'andamento della portata transmitralica (Figura 5) rispecchia quello fisiologico ad eccezione del rigurgito

dinamico che è più elevato di quello che si riscontra in vivo a causa di effetti dinamici relativi al set-up sperimentale che rallentano la chiusura valvolare.

Osservando invece la figura 6 sia nell'andamento del volume di rigurgito che in quello delle forze diastoliche medie dei papillari si identifica la configurazione oltre la quale si ha un'importante aumento della pendenza della curva, che è la configurazione limite prima descritta. Ad esempio in riferimento alla figura 6 per la valvola 9 la configurazione limite viene identificata in corrispondenza di uno spostamento di 5mm dei papillari.

Partendo dalla configurazione limite e spostando i muscoli papillari in direzione apico-laterale si è riusciti ad avere un andamento del volume di rigurgito crescente all'aumentare degli spostamenti imposti. La figura 7 mostra le variazioni di rigurgito indotte per ogni configurazione testata rispetto alla configurazione limite: si noti come la variazione del volume di rigurgito cresca all'aumentare degli spostamenti, indice del fatto che si è riusciti a riprodurre diversi gradi di insufficienza funzionale.

Osservando la figura 8 si nota come la forza cresca all'aumentare degli spostamenti imposti. Si ponga l'attenzione sul fatto che la forza in fase di diastole sembra aumentare in misura maggiore rispetto a quella in sistole. Da un lato l'incremento diastolico è spiegabile con un meccanismo di precarico elastico e di progressivo reclutamento delle corde. Dall'altro l'incremento di forza che ha luogo in fase sistolica è attenuato dal fatto che al progredire dell'insufficienza valvolare il picco di pressione transmitralica (Figura 9) che lo ha generato si riduce notevolmente.

The increase in the diastolic force can be explained through an elastic preload and progressive chordal recruitment. The

increase in the systolic force is mitigated by the fact that while MR becomes more and more severe, the peak of transmitral pressure, which caused it, is greatly reduced.

Conclusioni e sviluppi futuri

Si può affermare di aver raggiunto il primo obiettivo attraverso una fase preliminare di misura di alcune grandezze morfometriche di rilievo durante il procedimento di sezionamento del cuore. Va però sottolineato che tale metodologia è intrinsecamente affetta da errori non eliminabili. Tali errori sono dovuti al fatto che le misurazioni vengono fatte a mano, e a cuore integro è difficile individuare con precisione la posizione delle strutture sottovalvolari; inoltre spesso i muscoli papillari hanno una geometria complessa per cui è difficile identificare un punto della testa del papillare che costituisca un riferimento fisso. La configurazione fisiologica non corrisponde a una precisa posizione dei papillari, ma a un *range* di configurazioni: questo dovrebbe compensare l'errore correlato alla modalità di misura.

Le progressive dislocazioni dei papillari a partire dalla configurazione limite hanno dato il risultato cercato: si sono ottenuti valori di rigurgito crescenti al crescere dello spostamento imposto, riproducendo quindi diversi gradi di severità della patologia valvolare. Tuttavia questo protocollo presenta diversi limiti che riguardano soprattutto la ricerca della configurazione limite. Innanzitutto la sua identificazione avviene tramite un'analisi quantitativa dei dati acquisiti solo dopo che un'analisi qualitativa degli andamenti fa supporre di aver raggiunto una condizione di grave insufficienza. Questo procedimento comporta che la configurazione limite debba essere superata prima di essere individuata. In

questo modo però subentrano problemi relativi ai limiti del banco prova e alla resistenza della valvola stessa: imponendo ai papillari spostamenti molto elevati i punti di sutura che ancorano il papillare al sistema di afferraggio possono cedere a causa della perdita di consistenza del tessuto muscolare e questi possono uscire dalla sede. Inoltre le corde tendinee, così sovrastolate, si danneggiano, se riportate alla configurazione limite non riescono a impedire il prollasso ei lembi.

Inoltre l'intervallo di 5mm imposto è troppo esteso: la configurazione limite potrebbe trovarsi in una posizione intermedia e con questo protocollo verrebbe approssimata eccessivamente.

Quindi, un'ulteriore passo verso l'ottimizzazione del protocollo consisterebbe nell'imporre ai papillari uno spostamento progressivo attraverso incrementi più ridotti e nell'analizzare tutte le configurazioni riprodotte utilizzando un software di acquisizione che permetta l'analisi dei dati in tempo reale e che consenta un confronto simultaneo con gli andamenti relativi alla configurazione precedente. La configurazione limite verrebbe così identificata in tempo reale, si eviterebbe di imporre alla valvola configurazioni estreme e si eviterebbero eventuali danni ai tessuti.

Abstract

Introduction

Currently, mitral valve (MV) repair techniques have shown substandard mid-term and long-term results (Grigioni *et al.* 2001). These techniques may be optimized through a better understanding of the function and mechanics of the mitral valve after a particular repair. *In vitro* studies has the clear advantage of isolating and independently controlling specific parameters that are of importance to valvular mechanics and function. Furthermore, *in vitro* experimentation can provide detailed quantitative information on the mechanics of the normal, pathological and repaired mitral valve. The purpose of this work is to develop a standardized experimental protocol in order to test MV using the left heart simulator designed and realized at μ BS Laboratory, Bioengineering Department, Politecnico di Milano (Pavesi, 2008). In particular, the aims of this study are:

- The definition of a standardized experimental protocol to place the MV in the normal position in order to reproduce physiological hemodynamic condition
- The definition of an experimental protocol in order to induce different degree of mitral regurgitation (MR) through different displacement of papillary muscles (PMs).

Materials and Methods

Left heart simulator

The left heart simulator consist of an atrial and a ventricular chamber, which

provides the housing for a complete excised mitral valve sample. The MV is mounted on the ventricular chamber through a bayonet coupling; each PM can be fixed to an holder.

A load cell is located into the papillary muscle fixing element, thus it can measure the force vector acting on the PM.

This simulator is equipped with a PMs positioning system. Each PM can be displaced along three orthogonal axes (apical, posterior and lateral direction). The three motions can be imposed, respectively, by a linear guide driven by a worm screw and two double-effect mini-cylinders. Both mini-cylinders are connected via hydraulic lines to external twin cylinders acting as controllers.

Optimization of the left heart simulator

The left heart simulator has been modified in order to overcome the limits emphasized in previous research.

The mineral oil which filled the hydraulic lines connecting the mini-cylinders has been replaced by distillate water for the purpose of avoiding damage to O-ring in mini-cylinders which could affect their efficiency.

A new mechanical system has been added to the positioning system in order to minimize the mechanical clearance which attached the position system in anterior direction. This system consist of two plastic component and a bar which connect the worm screw to the piston, allowing the latter to move in the anterior direction.

Moreover, the load cells have been isolated from the ventricular aqueous environment by a silicone coating (Sylgard184, Dow Corning Corporation), on the purpose of minimizing the risk of damage.

Finally, in order to ease the debubbling of

the atrial chamber, a hole through the atrium wall has been made

Mock-loop and instrumentation

The mock-loop is shown in Figure 1. The left heart simulator is actuated by an in-home pumping system; a systemic impedance simulator downstream supplies the afterload and a reservoir completes the mock-loop.

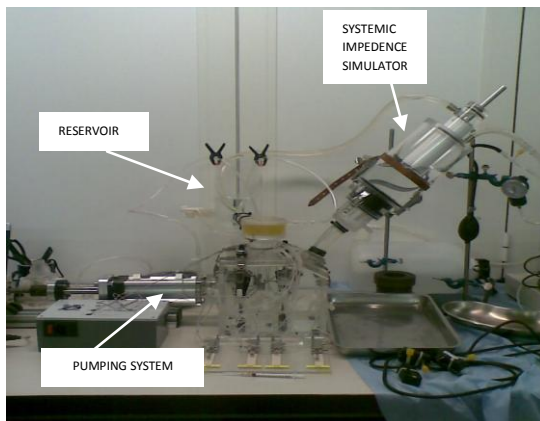


Figure 1 Mock-loop and heart simulator snapshot

The mock-loop is equipped with: three piezoelectric pressure transducers, located in the atrial and ventricular chambers and downstream of the mechanical valve in aortic position (*Honeywell*); a transit time flowmeter upstream from the atrial chamber to measure the trans-mitral flow rate (*Transonic HT 110*); two mini buttons load cell (*Honeywell*) are used to measure the force exerted by the PM.

Experimental protocol

The MVs tested in this experimental campaign are extracted from porcine heart preserving the subvalvular apparatus.

Before extracting the MV, the following morphometric measurements are calculated using a caliper (Figure 2):

- commissural diameter;
- distance from each PM tip to the valvular plane;
- distance between PMs' tips.

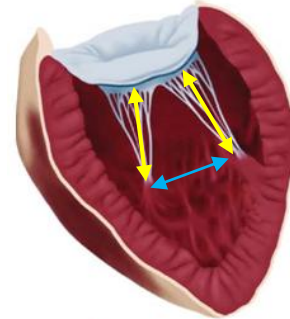


Figure 2: Measures determined before extracting the MV: distance from the mitral annulus to PM's tip (yellow coloured, anterolateral PM on the left, posteromedial PM on the right); the blue arrows indicate the distance between the two PM's tips.

After being extracted, the MV is sewed on a Dacron patch in which a hole one size larger than the MV's has been made. MV size corresponds to the commissural diameter previously calculated. Hence, a Cardinal annuoplastic ring (*Valtech*) is sutured to the MV's annulus in order to guarantee a physiological shape to the MV's *annulus*. The patch is fixed to the ventricular chamber through a bayonet coupling and the PMs are sutured to their holder.

As the aim is to obtain physiological hemodynamic condition, the PMs are positioned in the respect of the measurements calculated before extracting the MV. This position is defined as the *physiological configuration* of PMs.

On the contrary, in order to simulate different degree of MR, is firstly necessary to identify the *boundary configuration*. This configuration is defined as the PM's position in correspondence to which a transition from a competent state to a MR state of the MV can be observed by displacing the PM's.

The boundary configuration is found by displacing increasingly the PM's apically and laterally. Each position tested corresponds to a 5mm displacement from the previous configuration tested. Data are recorded for each position tested until a severe MR is supposed to be reached by observing the curve of transmitral flow. Then, data recorded are analysed: the borderline position is identified as the PM configuration when both an increase of volume regurgitation (RV) and an increase of the average diastolic force are observed.

Afterwards, PMs are displaced symmetrically from the borderline configuration of 3,6,9mm laterally and apically (Figure 3), so that different degrees of MR are reproduced.

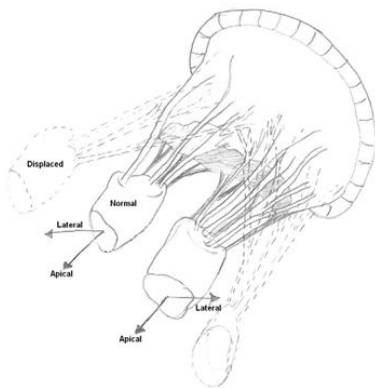


Fig 3.. Schematic of normal papillary muscle position and papillary Muscles displaced in lateral and apical directions.

In each test the simulator runs under physiological condition (stroke volume: 66ml; heart rate: 75bpm; cardiac output: 5l/min).

Data have been digitalized by an acquisition system supported by a PCMCIA card (*DAQCard, National Instrument*), using a software developed in the LabView environment (*LabView 7.1 National Instruments*).

Results

For each valve the physiological configuration has been found. Atrial, ventricular and aortic pressure curves are shown in Figure 4.

Figure 5 shows the transmitral flow curve.

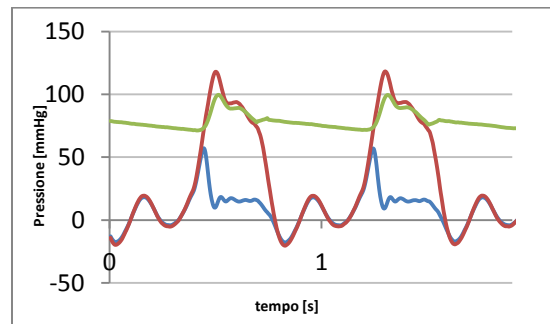


Figure 4 Atrial pressure (in blue), ventricular pressure (in red) and aortic pressure (in green) during two cardiac cycle.

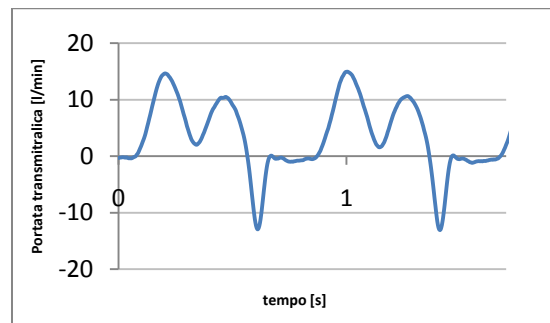


Figure 6 Transmitral flow during two cardiac cycle for valve 1.

For the sake of argument, the tracings analyzed to identify the boundary condition are shown in Figure 6 (valve 9).

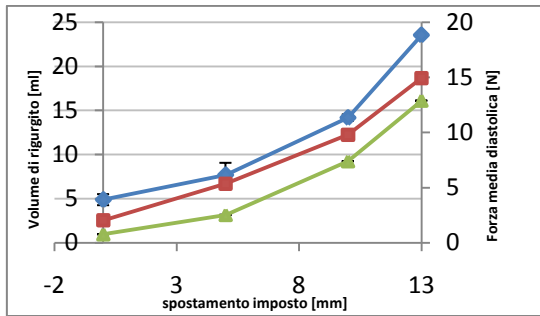


Figure 6 RV (in blue) and average diastolic force tracings for anterolateral PM (in green) and posteromedial PM (in red). The bars represent the standard deviation.

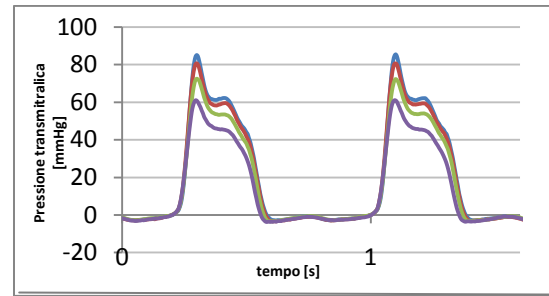


Figure 9 Transmitral pressure tracing for each configuration reproduced (In blue:boundary configuration; in red: 3mm displacement; in green: 6mm displacement; in purple:9mm displacement)

Figure 7,8 and 9 show RV, PM force and transmitral pressure versus PM displacement. PM has been displaced from the physiological position in order to induce different degree of mitral insufficiency.

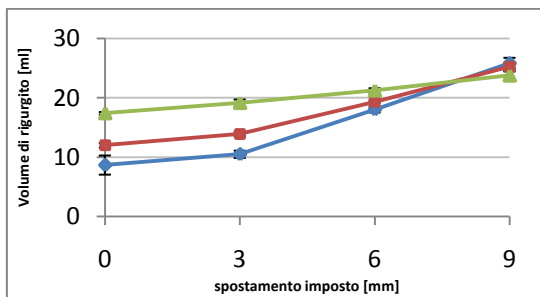


Figure 7 RV tracings obtained after a 3,6,9mm displacement from the boundary condition. The bars represent the standard deviation (in blue for valve 9, in red for valve 10, in green for valve 11)

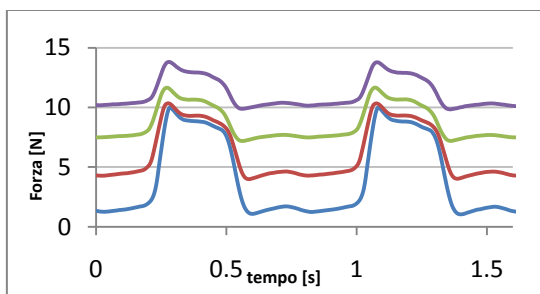


Figure 8 Posteromedial PM force vs PM displacement for valve 10 (In blue:boundary configuration; in red: 3mm displacement; in green: 6mm displacement; in purple:9mm displacement)

Discussion

The experimental protocol developed has shown to be successful in placing the MV in order to reproduce physiological hemodynamic condition.

As seen in Figure 4, the pressure's tracings and ranges are similar to the physiological ones, except for the negative peaks that can be observed in ventricular and atrial pressure tracings during the diastolic phase. These peaks are caused by the pumping system that aspirates volume during the diastolic period. The transmitral flow tracing (Figure 5) reflects the physiological one, except for the dynamic regurgitation which is higher than in vivo. This is due to a transient effect related to the experimental set-up which slow down the valve closure.

Figure 6 shows that an important increase is observed both in RV tracing and in the average diastolic PM force when the boundary configuration is reached. For example, figure 6 (valve 9) shows that the boundary configuration is identified at a 5mm PM displacement from the physiological configuration. Displacing the PM apically and laterally from the boundary configuration, it was possible to obtain RV tracings that

increase while the imposed displacement increase.

Figure 7 shows the variations of RV for each configuration examined compared to the boundary configuration: the variation in the RV increases while the PM are displaced which means that different degrees of MR are reproduced. Moreover, Figure 8 shows that diastolic force increase more than how systolic force does.

It can be said to have achieved the first aim through a preliminary experimental phase in which some measurement of morphometric variables are taken before extracted the valve. However, this methodology is inherently affected by errors that cannot be eliminated. This errors are due to the fact that the measurements are made by hand, and PM often have a complex geometry so it's difficult to find a point on the PM'S tip which can be used as a reference. Nevertheless, by analyzing the results, it can be said that the physiologicalal configuration does not correspond to a specific PM position, but to a range of configurations. This aspect should compensate for the error which affect the measurements. In addition, the progressive dislocation of the PM from the boundary configuration resulted in what it was expected: RV values increased while the displacement imposed increases. So it was possible to reproduce different degrees of severity of MR. However, this protocol has several limitations that affect mainly the research of the boundary configuration. First, its identification is reached through a quantitative analysis of the data acquired only just after a qualitative analysis of the tracings suggests that the valve is regurgitant .This means that the boundary configuration must be exceeded before being detected.

However, by imposing high displacement, the sutures that fix the PM

to its holder may give up because of the loss of muscle tissue so the PM can exit from its holder.

In addition, chordate tendinae are stressed during this procedure, so they could be damaged. Then, when the valve is placed back in its boundary configuration, it could prolapsed because of that.

In addition, a 5mm displacement imposed could be too wide to find the boundary configuration: the latter could be in an intermediate position so the approximation would be too rough. Therefore, a further step towards the optimization of the protocol would be to impose smaller displacement and analyze all the tested configuration using a software that allows real time data analysis. This improvements would allow to reach the boundary condition without displacing the PMs in extreme conditions which could damage the valve.

Introduzione

Ad oggi le tecniche di riparazione della valvola mitrale affetta da insufficienza funzionale hanno mostrato risultati a medio e a lungo termine sub-ottimali (Grigioni *et al.*2001): si richiede perciò una conoscenza più approfondita dei meccanismi di funzionamento della valvola in condizioni fisiologiche e uno studio delle alterazioni a carico dell'apparato valvolare e sottovalvolare che si riscontrano in questa particolare condizione patologica. In aggiunta, le attuali tecniche riparative potrebbero essere ottimizzate attraverso lo studio dei cambiamenti che esse inducono sulla funzionalità e sulla meccanica valvolare.

Studi *in vitro* con gli obiettivi sopra citati hanno il vantaggio di poter isolare e controllare indipendentemente parametri rilevanti per la funzionalità valvolare e possono fornire a riguardo informazioni quantitative in caso di condizioni fisiologiche, patologiche e dopo una riparazione.

In quest'ottica nel 2007 si è sviluppato presso il laboratorio μ BS del Politecnico di Milano un banco prova pulsatile per testare valvole mitrali che permette la dislocazione nello spazio dei muscoli papillari e la rilevazione del vettore forza agente su essi.

Lo scopo di questo lavoro di tesi è quello di identificare un protocollo di prova affidabile e ripetibile al fine di svolgere campagne sperimentali su valvole mitrali porcine con il banco prova sopra citato.

In particolare gli obiettivi sono due: il primo consiste nell'individuare un protocollo affidabile per posizionare la valvola in modo da riprodurre condizioni emodinamiche fisiologiche. Questo costituirà un riferimento per eventuali studi volti ad analizzare le alterazioni a carico della valvola in condizioni patologiche e/o dopo una procedura di riparazione.

Il secondo obiettivo consiste nell'indurre diversi gradi di insufficienza mitralica funzionale attraverso spostamenti dei muscoli papillari di diversa entità in modo controllabile: in questo modo si potranno effettuare studi al fine di indagare la meccanica di una valvola affetta da tale patologia e le relative tecniche chirurgiche riparative; la

possibilità di regolare il grado di insufficienza indotta attraverso l'imposizione di diversi spostamenti dei papillari consentirà di indagare un'ampia varietà di casi.

Il presente lavoro di tesi è suddiviso in cinque capitoli.

Il primo capitolo descrive l'anatomia della valvola mitrale e delle strutture che la compongono. Successivamente si analizzano le patologie a carico della valvola mitrale con particolare attenzione all'insufficienza mitralica e le attuali tecniche riparative utilizzate per correggerla.

Il capitolo due riporta una descrizione del banco prova sviluppato presso il Georgia Institute of Technology che rappresenta il punto di riferimento per il banco prova realizzato presso il laboratorio μ BS del Politecnico di Milano utilizzato nella campagna sperimentale di questo lavoro. Di questo secondo banco prova viene fornita una breve descrizione e ne vengono elencate le criticità che saranno poi oggetto di modifica.

Il terzo capitolo illustra le modifiche apportate al banco prova e i test eseguiti per verificare che tali modifiche non avessero violato le specifiche di progetto iniziali del banco prova. Viene quindi descritto il set-up utilizzato nella campagna sperimentale e il relativo collaudo.

Il quarto capitolo riporta il protocollo di prova operativo, comprendente la preparazione del campione biologico, il montaggio del set-up sperimentale e i metodi utilizzati nell'elaborazione e nell'analisi dei dati. In seguito si illustrano i protocolli di prova sviluppati al fine di raggiungere gli obiettivi del lavoro di tesi.

Il quinto capitolo presenta i risultati ottenuti nella campagna sperimentale suddivisi in base al protocollo utilizzato, fornendone un'analisi quantitativa. Un'attenzione particolare viene data all'analisi delle problematiche relative a ogni protocollo di prova.

Vengono infine raccolte le conclusioni cui si è giunti al termine di questo lavoro di tesi ed illustrati gli sviluppi futuri di tale lavoro.

Capitolo I

Anatomia e patologie della valvola mitrale

In questo capitolo viene descritta l'anatomia della valvola mitrale e si analizzano le patologie a carico di essa.

Inizialmente si riporta una breve descrizione del cuore e della sua funzione. Quindi si illustrano le caratteristiche della valvola mitrale concentrandosi su ognuna delle sue sottostrutture: *annulus*, lembi valvolari, corde tendinee e muscoli papillari. In seguito vengono introdotte le patologie ponendo particolare attenzione all'insufficienza mitralica funzionale e alle attuali tecniche riparative per correggerla.

1.1 Il cuore

Il cuore è un organo muscolare cavo che costituisce il motore del sistema cardiocircolatorio. È diviso in quattro cavità: due atri posti superiormente e due ventricoli posti inferiormente. Le valvole atrioventricolari controllano il flusso sanguigno tra atrio e ventricolo mentre le valvole semilunari evitano il reflusso dalle arterie verso il ventricolo (Figura 1.1).

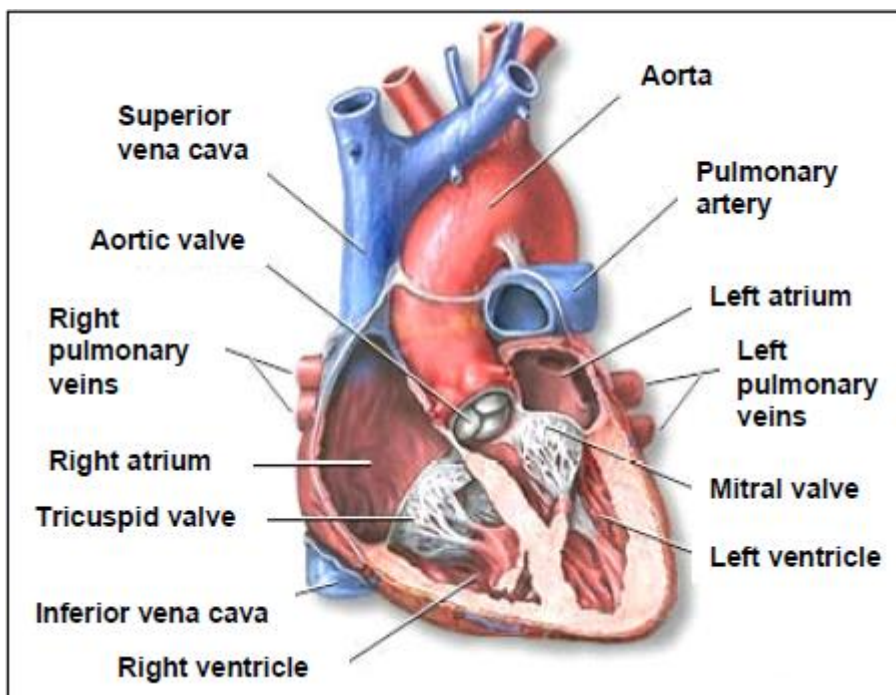


Figura 1.1 Immagine del cuore e dei suoi componenti.

Atrio destro e ventricolo destro costituiscono la parte destra del cuore mentre atrio sinistro e ventricolo sinistro quella sinistra. Le due parti possono essere considerate come due pompe indipendenti la cui sincronicit  viene garantita da potenziali elettrici che originano nel nodo seno atriale e che viaggiano attraverso il fascio atrioventricolare.

La funzione della parte destra del cuore   di pompare il sangue non ossigenato che torna dalla circolazione sistemica verso i polmoni. La circolazione polmonare, o piccola circolazione,   considerata un sistema a bassa pressione poich  richiede pressioni solo fino a 40mmHg. Malfunzionamenti del cuore destro sono normalmente associati a patologie congenite o polmonari, spesso causate da meccanismi idiopatici o da eventi tromboembolici.

Al contrario la parte sinistra del cuore   sottoposta a regimi pressori pi  elevati, poich  deve pompare il sangue attraverso la circolazione sistemica, per cui si raggiungono valori di pressione fino a 150mmHg.

L'atrio sinistro ha un volume interno di circa 45ml e lavora fino a 25mmHg di pressione; il ventricolo sinistro ha un volume interno approssimativamente di 100ml e normalmente raggiunge valori di pressione di 120mmHg, sebbene le pressioni possano aumentare

ulteriormente sotto condizioni patologiche. Malfunzionamenti del cuore sinistro possono essere associati a ischemia, ipertensione, cardiomiopatia, patologie valvolari, difetti congeniti, processi batterici e infettivi e altri fattori patologici. Le patologie valvolari colpiscono maggiormente la parte sinistra del cuore, dal momento che le valvole devono sopportare sforzi meccanici più elevati rispetto a quelli della parte destra del cuore.

Il cuore è quindi un meccanismo complesso e sincronizzato, un insieme di eventi elettrici, chimici, meccanici e biologici. Nelle sue quattro camere contiene circa 350ml di sangue, circa il 6.5% del volume totale di sangue di un individuo; a causa del suo volume limitato il cuore deve pompare sangue ciclicamente per assicurare il rinnovo continuo di ossigeno ai tessuti.

1.2 La valvola mitrale

La valvola mitrale regola il flusso sanguigno tra atrio sinistro e ventricolo sinistro ed è composta da quattro sottostrutture principali: l'*annulus*, i foglietti valvolari, i muscoli papillari e le corde tendinee (Figura 1.2).

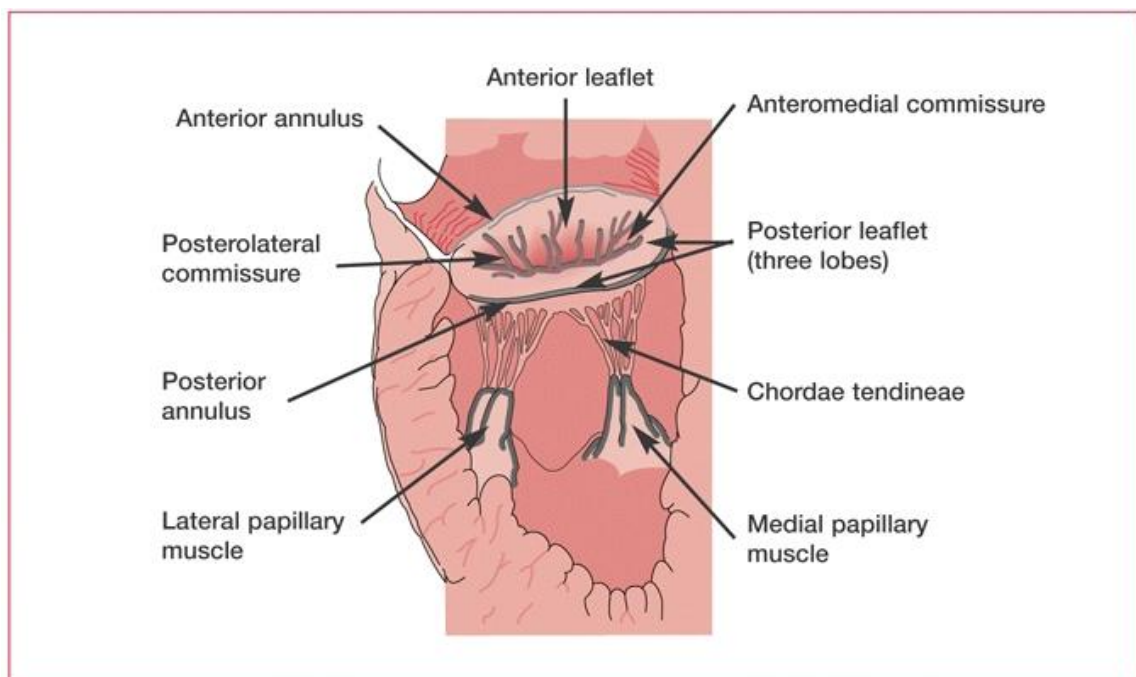


Figura 1.2 Rappresentazione della valvola mitrale e di tutti i suoi componenti

L'*annulus* mitralico rappresenta il limite dell'orifizio valvolare e il profilo su cui si inseriscono i lembi valvolari. Esso è in continuità con il miocardio circostante e separa la parte atriale da quella ventricolare. Il complesso dei due muscoli papillari e delle corde tendinee costituisce l'apparato sottovalvolare mitralico. I muscoli papillari vengono chiamati muscolo papillare anterolaterale (APM) e muscolo papillare posteromediale (PPM), in relazione con la loro posizione nel ventricolo. Le corde tendinee originano dalla testa dei muscoli papillari e si inseriscono in modo relativamente simmetrico sui lembi valvolari.

Il piano comprendente la valvola aortica forma un angolo di 135 gradi con il piano mitralico e le due valvole risultano separate da un porzione di tessuto fibroso.

1.2.1 I lembi della valvola mitrale

I lembi valvolari sono costituiti da uno strato sottile continuo di tessuto che si inserisce nell'*annulus* intorno all'intero perimetro dell'orifizio mitralico. Si possono distinguere due foglietti principali chiamati foglietto anteriore e foglietto posteriore per la loro posizione rispetto alla valvola. Questi due lembi sono separati da due rientranze nel tessuto valvolare dette regioni commissurali, situate nelle porzioni anterolaterale e posteromediale dell'*annulus* valvolare. Il margine libero del foglietto posteriore si presenta festonato con tre segmenti (*scallops*) (Figura 1.3): un segmento centrale maggiore chiamato posteriore e due segmenti commissurali identificati dalla posizione (segmento commissurale posteromediale, segmento commissurale anterolaterale).

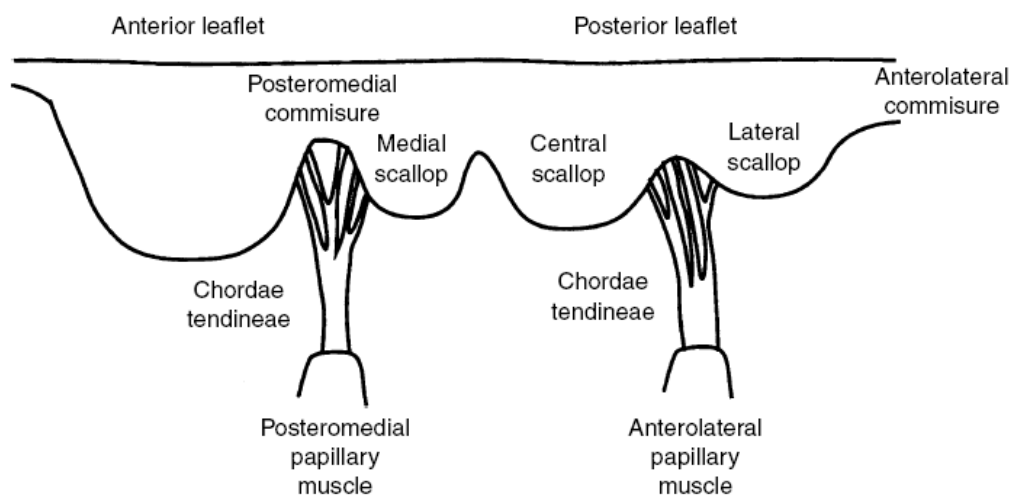


Figura 1.3 Immagine della valvola mitrale come un tratto continuo di tessuto. Sono indicati i foglietti anteriore e posteriore, così come i segmenti laterale e mediale, le corde tendinee e i muscoli papillari.

In entrambi i foglietti si possono identificare tre zone: una zona rugosa nella sezione distale, una zona chiara prossimale a quella rugosa e una zona basale. La zona rugosa e quella basale ricevono le inserzioni delle corde tendinee mentre la zona chiara è membranosa e relativamente liscia.

Il foglietto posteriore s'inserisce su circa due terzi del perimetro dell'orifizio mitralico ed è caratterizzato da una densa inserzione di corde tendinee, a causa della quale il lato del foglietto rivolto verso il ventricolo risulta essere estremamente irregolare. Durante la coaptazione il segmento centrale del foglietto posteriore tende a essere stirato e ad unirsi al foglietto anteriore mentre i segmenti commissurali coprono le regioni tra i due foglietti.

Il foglietto anteriore è considerato il più importante sulla valvola mitrale: ha un'area significativamente più grande di quello posteriore e durante la coaptazione copre la maggior parte dell'orifizio valvolare, per questo motivo è soggetto a un carico pressorio più elevato rispetto a quello del foglietto posteriore. È inoltre caratterizzato da molte meno inserzioni di corde tendinee: due corde principali si inseriscono nella regione centrale del foglietto mentre un numero più elevato di corde si inserisce sui suoi margini (corde marginali). A causa della grande area dell'orifizio coperta e della distribuzione dell'inserzione delle corde, durante la coaptazione il foglietto anteriore si gonfia: la

curvatura generata da questo rigonfiamento è di grande importanza meccanica poiché riduce lo sforzo cui è sottoposto il foglietto (Arts *et al.*, 1983).

La somma delle aree dei due foglietti è approssimativamente pari al doppio dell'area dell'orifizio mitralico: questa superficie "extra" permette un'ampia copertura dell'orifizio mitralico durante il normale funzionamento della valvola e provvede a compensare in caso di patologia (He *et al.*, 1997; He *et al.*, 1999).

A livello strutturale i foglietti sono composti da tre strati che osservati al microscopio presentano uno strato endoteliale sul lato atriale, uno strato intermedio di materiale fibroso chiamato spongiosa e uno strato ventricolare endoteliale. Un'importante caratteristica di questa composizione è la microstruttura di collagene nello strato intermedio (Sacks *et al.*, 2002; He *et al.*, 2003). Come altri tessuti costituiti da collagene, il foglietto anteriore è elastico quasi-lineare e anisotropo a causa della direzionalità delle fibre di collagene (Grashow *et al.*, 2006). Caratteristiche come l'aumento della superficie del foglietto durante la chiusura, la configurazione assunta dalle fibre di collagene dopo la coaptazione dei lembi e la loro importanza meccanica hanno mostrato la specificità del materiale del foglietto mitralico alla sua funzione.

Inoltre i lembi mitralici non sono semplici membrane: la presenza di fibre nervose, vasi sanguigni e cellule muscolari lisce contrattili fanno di essi dei sistemi biologici complessi. Alcuni studi hanno ipotizzato che la contrazione delle cellule muscolari lisce potrebbe contribuire al tono dei foglietti aortici (Taylor *et al.*, 2000; Chester *et al.*, 2000): dal momento che queste cellule sono presenti anche nella valvola mitrale la funzione di questi lembi potrebbe non essere passiva.

1.2.2 L'*annulus* mitralico

L'*annulus* mitralico è un anello ellittico composto da tessuto di collagene denso circondato da tessuto muscolare.

L'emianello anteriore è contiguo all'anello valvolare aortico per mezzo di un tratto di tessuto fibroso ed è delimitato da due masse cartilaginee chiamate trigoni anulari. Negli anni passati i ricercatori pensavano che questa sezione dell'*annulus* fosse rigida ma uno studio recente ha mostrato che durante il ciclo cardiaco cambia il proprio perimetro (Parish

et al., 2004). L'azione sfinterica dell'*annulus* aiuta il ventricolo pieno a espandersi durante la diastole e facilita la coaptazione dei foglietti durante la sistole (Timeck *et al.*, 2001). L'area dell'*annulus* e la sua dinamica sono parametri importanti, non solo per capire la funzione della valvola mitrale ma anche per definire il design di impianti cardiaci come gli anelli per annuloplastica. Studi in vivo ed esperienze cliniche (Davis *et al.*, 1963; Timeck *et al.*, 2001; Ormison *et al.*, 2001; Pai *et al.*, 1995; Komoda *et al.*, 1994) supportano l'idea di una contrazione presistole ventricolare dell'*annulus* mitralico che inizierebbe durante la sistole atriale e continuerebbe durante la sistole ventricolare.

Un'altra importante caratteristica dell'*annulus* è la forma. Inizialmente si pensava che l'anello mitralico fosse una struttura piatta ma grazie ad immagini ecografiche acquisite durante il ciclo cardiaco si è osservata una flessione apico-basale dell'*annulus* mitralico e si è dimostrato che la curvatura tridimensionale si mantiene durante l'intero ciclo cardiaco (Kaplan *et al.*, 2000). La forma dell'*annulus* viene quindi descritta come una sella tridimensionale con struttura dinamica, dal momento che l'area, l'eccentricità e la curvatura dell'*annulus* variano durante il ciclo cardiaco (Timeck *et al.*, 2001; Gorman *et al.*, 1997; Aikawa *et al.*, 2002; Glasson *et al.*, 1996; Gorman *et al.*, 1996). Studi ecocardiografici tridimensionali sulla forma dell'*annulus* mitralico hanno proposto per le valvole mitraliche umane valori di altezza di sella variabili tra 7.8 ± 1.1 mm e 12 ± 2 mm (Kaplan *et al.*, 2000; Flachskampf *et al.*, 2000).

L'*annulus* mitralico non solo si contrae e si curva ma si muove: durante la sistole si sposta in direzione basale di 10 ± 3 mm rispetto alla posizione assunta durante la diastole (Flachskampf *et al.*, 2000).

Per tutti questi motivi l'*annulus* mitralico non è un semplice anello rigido che contiene i foglietti valvolari ma è una struttura dinamica fondamentale per il funzionamento della valvola mitrale.

1.2.3 I muscoli papillari

I due muscoli papillari si trovano sulle pareti anterolaterale e posteromediale del ventricolo sinistro. Le corde tendinee originano dalle teste dei due muscoli e si inseriscono sui lembi valvolari. Le teste dei muscoli papillari sono rivolte verso le rispettive commissure

(Rusted *et al.*, 1952), indirizzando le loro corde sulla valvola in modo relativamente simmetrico. I muscoli papillari umani possono essere raggruppati in quattro categorie a seconda della loro complessità: dal tipo I, il più semplice, al tipo IV, il più complesso. Normalmente i muscoli papillari porcini potrebbero essere paragonati a quelli umani di tipo I (Figura 1.4).

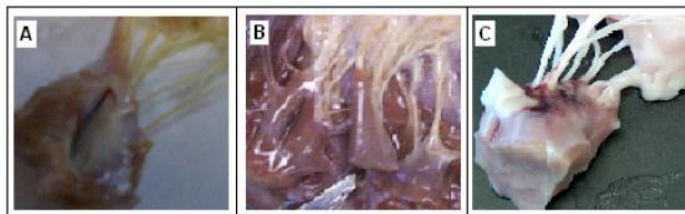


Figura 1.4 Fotografie di muscoli papillari: A) muscoli papillari umani semplici; B) muscoli papillari umani complessi; C) muscoli papillari porcini

Le lunghezze e le dimensioni medie dei muscoli sono presenti in letteratura. Alcuni studi su ovini mostrano in condizioni non patologiche lunghezze medie dell'APM di 23.2mm in diastole e 20.1mm in sistole e lunghezze medie del PPM di 25.2mm in diastole e 23.0mm in sistole (Gorman *et al.*, 1997) quindi si può dedurre che negli ovini l'accorciamento dei muscoli papillari dovuto alla contrazione sia dell'ordine dei 2-3mm.

Esperienze cliniche con ecocardiografia transesofagea (Madu *et al.*, 2001) hanno invece rilevato le seguenti misure per i muscoli papillari:

- a fine diastole: media dell'area della sezione trasversale dell'APM di $1.32 \pm 0.29 \text{cm}^2$; media dell'area della sezione trasversale del PPM di $0.99 \pm 0.18 \text{cm}^2$; lunghezza dell'APM di $35.5 \pm 3.3 \text{mm}$; lunghezza del PPM di $29.1 \pm 2 \text{mm}$.
- a fine sistole: media dell'area della sezione trasversale dell'APM di $1.71 \pm 0.31 \text{cm}^2$; media dell'area della sezione trasversale del PPM di $1.18 \pm 0.20 \text{cm}^2$; lunghezza dell'APM di $28.1 \pm 3.5 \text{mm}$ e lunghezza del PPM di $24.2 \pm 2.3 \text{mm}$.

Questi dati mostrano che l'accorciamento dei muscoli papillari durante la sistole è di circa 4mm.

1.2.4 Le corde tendinee

La funzione principale delle corde tendinee è di prevenire il prolasso dei foglietti durante la sistole ventricolare. Le corde però non solo mantengono i foglietti nella giusta posizione durante la sistole ma sono importanti anche nella definizione della geometria della valvola mitrale e giocano un ruolo importante nella funzionalità del ventricolo sinistro. Come già detto in precedenza, originano dalle teste dei muscoli papillari e si inseriscono in diverse regioni dei foglietti valvolari.

Le corde vengono raggruppate in (Duran et al., 2002):

- 1- primarie o marginali: corde che originano nei muscoli papillari e si inseriscono nel margine libero dei foglietti;
- 2- secondarie o intermedie: corde che originano nei muscoli papillari e si inseriscono sul lato ventricolare dei foglietti;
- 3- corde basali: corde che originano nei muscoli papillari e si inseriscono vicino o nell'annulus mitralico.

Questa classificazione non è basata unicamente sulla posizione anatomica ma anche su differenze di composizione, grandezza, caratteristiche meccaniche e funzione.

Le corde marginali sono significativamente più sottili delle corde basali.

A livello microstrutturale tutte le corde presentano uno strato interno caratterizzato da un'alta concentrazione di collagene e uno strato esterno che è per lo più elastina con fibre di collagene intrecciate (Liao *et al.*, 2003; Ritchie *et al.*, 2005). Tuttavia esistono differenze nella microstruttura a seconda della funzione meccanica specifica di ogni corda.

1.3 Patologie della valvola mitrale

Le patologie della valvola mitrale possono essere classificate in due diversi gruppi funzionali. Il primo gruppo è la stenosi, che descrive la totale o parziale ostruzione dell'orifizio valvolare influenzando il riempimento del ventricolo. Il secondo gruppo è associato al malfunzionamento della valvola durante la sua chiusura. Quando la valvola mitrale non si chiude adeguatamente la pressione più alta nel ventricolo durante la sistole genera reflusso nell'atrio: questa condizione è chiamata insufficienza mitralica.

Sia la stenosi mitralica che l'insufficienza mitralica possono essere indotte da differenti cause e possono esistere simultaneamente sotto specifiche condizioni. In caso di stenosi o insufficienza mitralica il cuore deve lavorare più intensamente perché l'efficienza della funzionalità cardiaca è diminuita. Nel caso della stenosi lo *stroke volume* si riduce a causa di un riempimento non adeguato del ventricolo; nel caso dell'insufficienza mitralica invece si assiste a una diminuzione del *cardiac output* causato dalla perdita attraverso la valvola che porta a un aumento del volume di rigurgito e così a una diminuzione della frazione di eiezione dal ventricolo. Clinicamente una frazione di rigurgito significativa è del 20% (He *et al.*, 1997).

Quando il cuore non riesce a compensare il malfunzionamento della valvola, il *cardiac output* si riduce e l'organismo è soggetto a un inadeguato rifornimento di ossigeno ai tessuti. I pazienti appaiono affaticati, presentano palpitazioni o lamentano dolori al torace. Se le condizioni sono gravi e la funzionalità cardiaca nel complesso è compromessa, la patologia mitralica può condurre alla morte.

1.4 L'insufficienza mitralica

Tutte le lesioni che causano insufficienza mitralica lo fanno mediante la riduzione o l'eliminazione della normale coaptazione sistolica tra il lembo anteriore e posteriore della mitrale, che normalmente assicura la competenza della valvola.

Le cause di insufficienza mitralica sono solitamente classificate in ischemiche (insufficienza mitralica in conseguenza di una malattia coronarica), e non ischemiche (tutte le altre cause). I meccanismi di insufficienza sono invece grossolanamente classificati in funzionali (la valvola è strutturalmente normale ed il rigurgito è dovuto alla deformazione della valvola a sua volta causato dal rimodellamento ventricolare) o organici (lesioni intrinseche della valvola). Una determinata causa può produrre diversi meccanismi di insufficienza (Tabella 1.1).

Tabella 1.1 Cause e meccanismi dell'insufficienza mitralica .

	Organiche			Funzionali
	Tipo I	Tipo II	Tipo IIIa	Tipo III b/ I
Non ischemiche	Endocardite (perforazione)	Degenerativa (billowing/flail)	Reumatica (reumatismo cronico)	Cardiomiopatia
	Degenerativa (calcificazione anulare)	Endocardite (rottura cordale)	Iatrogena (radiazioni/farmaci)	Miocardite
	Congenita (cleft)	Traumatica (rottura corde o muscolo papillare)	Inflammatoria (lupus, anticardiolipina, endocardite eosinofila, fibrosi endomiocardica)	Disfunzione ventricolare sinistra
		Reumatica (endocardite acuta)		
Ischemiche		Rottura di muscolo papillare		Ischemica funzionale

Questi meccanismi possono essere sotto-classificati in base al movimento dei foglietti in tipo I (normale escursione della valvola ma perforazione dei foglietti o dilatazione anulare), tipo II (eccessivo movimento dei lembi) e tipo III (movimento ristretto, tipo IIIa restrizione diastolica come nella malattia reumatica e IIIb restrizione sistolica come nella malattia funzionale).

Di seguito si presenta una sintesi di tutti i meccanismi di insufficienza mitralica.

L'insufficienza su base degenerativa è solitamente correlata al prollasso mitralico e, solo raramente, unicamente alla calcificazione dell'anello. Il prollasso è definito come l'eccessivo e anormale movimento del lembo mitralico in atrio sinistro. Esso può essere di entità moderata quando il margine libero del foglietto rimane a livello anulare (*billowing*), o severo (completa eversione del lembo, definito *flail*, dovuto usualmente alla rottura di una corda tendinea).

La forma ischemica raramente risulta in una alterazione unicamente organica (rottura di un muscolo papillare) ed è raramente acuta. Frequentemente è funzionale e cronica, slatentizzata da una malattia e rimodellamento ventricolare che causa l'insufficienza. L'insufficienza mitralica funzionale è solitamente causata da una dislocazione apicale dei muscoli papillari, a sua volta dovuta ad una cardiomiopatia dilatativa o ad un rimodellamento ischemico ventricolare (Yiu *et al.*, 2000). Dal momento che le corde tendinee non sono estensibili, la dislocazione del muscolo causa la trazione sui foglietti (Hung *et al.*, 2002; Messas *et al.*, 2001), risultando in un *tethering* ed un dislocamento apicale dei lembi (Yiu *et al.*, 2000; Watanabe *et al.*, 2005). Associato alla dilatazione anulare e alla diminuita contrazione ed all'appiattimento dell'*annulus*, il dislocamento dei foglietti causa una mancata coaptazione (Yiu *et al.*, 2000). Il *tethering* può essere quindi simmetrico, cioè dovuto ad un rimodellamento globale che disloca apicalmente entrambe i muscoli papillari o asimmetrico, cioè dovuto al dislocamento di un muscolo papillare (solitamente il posteromediale), in conseguenza di un rimodellamento regionale, che porterà ad una retrazione del lembo posteriore (Agricola *et al.*, 2003; Kwan *et al.*, 2003). Nel primo caso il meccanismo produrrà un jet centrale, nel secondo un jet eccentrico diretto verso il tetto posteriore dell'atrio (Figura 1.5).

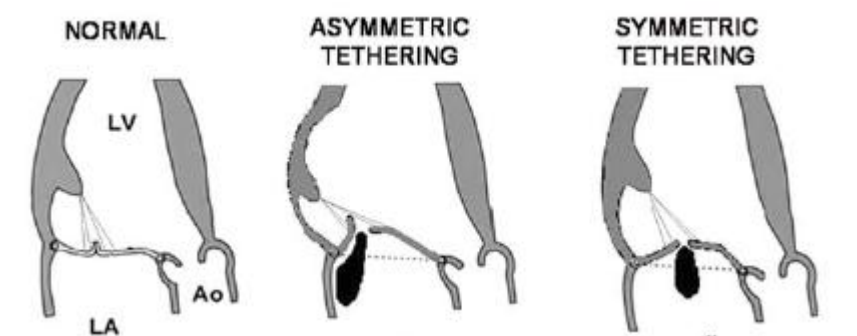


Figura 1.5 Nella prima immagine si riporta la normale coaptazione dei lembi valvolari; nella seconda e nella terza immagine sono rappresentati il *tethering* asimmetrico e quello simmetrico.

L'insufficienza mitralica reumatica causa un accorciamento e retrazione delle corde e dei foglietti che, amplificato dalla dilatazione anulare, risulta anch'esso in una mancata coaptazione. L'insufficienza mitralica post-infiammatoria presenta meccanismi simili. La retrazione del tessuto rappresenta uno dei maggiori motivi di fallimento della riparazione mitralica.

L'insufficienza su base endocarditica può essere causata da rottura cordale o perforazione tissutale. In tutte le cause la dilatazione anulare è comune, solitamente limitata alla porzione posteriore e per tale motivo la riparazione chirurgica si avvale sempre dell'annuloplastica.

1.5 Tecniche riparative dell'insufficienza mitralica funzionale

L'intervento di riparazione valvolare è diventato la scelta più frequente quando si ha a che fare con la maggior parte delle patologie a carico della valvola mitrale (Jillinov *et al.* 2003). Lo sviluppo di nuove tecniche ha aumentato la percentuale di sopravvivenza così come la qualità di vita.

Le regole fondamentali per la riparazione mitralica sono tre: preservare il movimento dei lembi, ristabilire un'ampia superficie di coaptazione e rimodellare l'*annulus*. La natura e la combinazione di varie tecniche riparative è dettata dalla localizzazione e dal tipo di lesione.

Il 20-30% dei pazienti con insufficienza mitralica severa operata avranno una insufficienza mitralica ricorrente (Bax *et al.*, 2004). La maggior parte degli insuccessi è dovuta a una bassa durabilità della prima riparazione, ad esempio per l'inadeguata correzione del prolasso, l'eccessiva retrazione del tessuto o la rottura di un'altra corda tendinea. Di conseguenza ulteriori studi circa la meccanica e il funzionamento della valvola mitrale sono essenziali per risolvere questa problematica medica.

Il tasso di re-intervento è simile dopo riparazione o sostituzione (Mohty *et al.*, 2001; Suri *et al.*, 2006) e poiché sono indubbi i vantaggi della riparazione, essa è il trattamento preferibile per correggere il vizio mitralico.

L'alto numero di sostituzioni effettuate è associato alla complessità delle tecniche chirurgiche e al livello di abilità chirurgica necessario per eseguire una procedura di riparazione valvolare con successo.

Per quanto riguarda l'insufficienza mitralica funzionale, la dilatazione o il rimodellamento del ventricolo causano complessivamente un ingrandimento del ventricolo, che porta a sua volta a delle alterazioni nella geometria dell'apparato valvolare: la dilatazione dell'*annulus* e la dislocazione dei muscoli papillari. Di queste due alterazioni normalmente ci si occupa solo della dilatazione dell'*annulus* attraverso un intervento di anuloplastica.

1.5.1 Anuloplastica

La più comune procedura di riparazione associata al ripristino delle dimensioni e della funzione dell'apparato valvolare è l'inserimento di un anello per anuloplastica.

Il normale rapporto tra il diametro antero-posteriore e il diametro commisuro-commisurale (distanza tra le due commissure) è 3:4 in sistole (Figura 1.6). Questo rapporto si inverte in pazienti affetti da insufficienza mitralica cronica, causando insufficienza mitralica anche in assenza di prolasso. L'obiettivo dell'anuloplastica, introdotta da Carpentier nel 1970, è di ristabilire un normale rapporto tra i diametri anulari e conservare un'adeguata mobilità dei lembi diminuendo il carico sugli stessi e rendendo la riparazione più stabile e duratura aumentando la superficie di coaptazione ed annullando il rigurgito.

Gli anelli sono stati disegnati prendendo in considerazione il rapporto 3:4 dei diametri in sistole. L'anello viene quindi suturato intorno all'*annulus* mitralico in modo da riportarlo alle sue dimensioni fisiologiche. Gli anelli sono classificati come rigidi o flessibili, in base appunto al grado di flessibilità, e completi o incompleti a seconda della loro geometria.

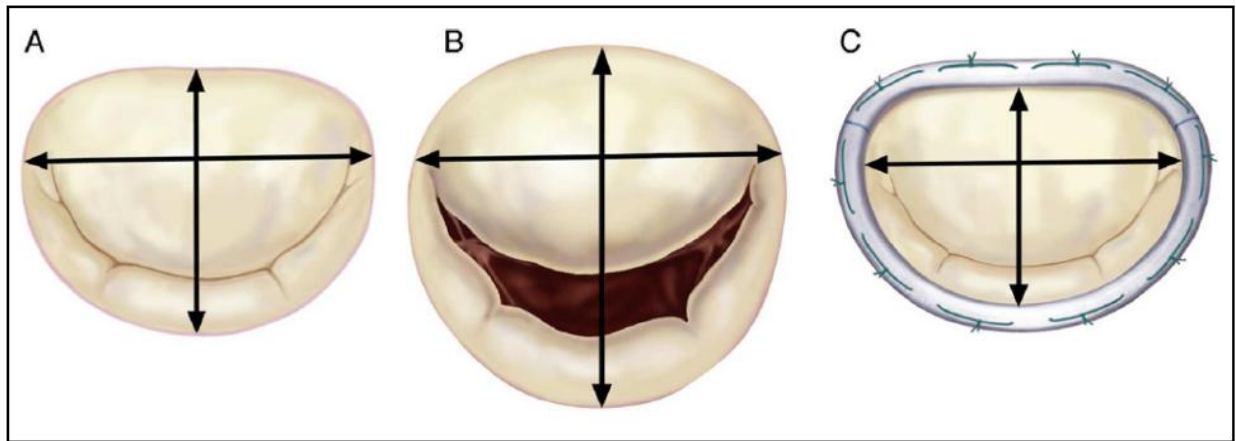


Figura 1.6 Annulus Mitralico. A: Rapporto normale tra il diametro antero-posteriore e commissuro-commissurale (3:4). B: Inversione del rapporto nella valvola con rigurgito cronico. C: Correzione del rapporto mediante posizionamento di anello protesico.

I primi anelli per annuloplastica erano rigidi, completi e piani. L'*annulus* mitralico ha però una forma a sella con la parte più elevata in corrispondenza della zona centrale dell'*annulus* anteriore e una rilevazione prospiciente anche nella parte posteriore. L'aumento della curvatura dell'anello può consentire una miglior distribuzione delle forze sui foglietti: a questo scopo si è assistito a un'evoluzione dei precedenti anelli in modo che riproponessero la forma a sella.

Nuovi anelli mitralici sono stati sviluppati per venire incontro all'esigenza di assecondare i movimenti dell'*annulus* nel ciclo cardiaco, utilizzando quindi materiali flessibili. Nonostante questa maggiore armonia fisiologica (Kunzelman *et al.*, 1998; David *et al.*, 1989; Yamaura *et al.*, 1995), non esistono ancora risultati che dimostrino la superiorità di tali anelli (Tahta *et al.*, 2002; Mc Gee *et al.*, 2004; Spoor *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2007). La maggior parte di questi dispositivi comunque riduce severamente la dinamica annulare della valvola mitrale in quanto l'anello deve avere qualche componente rigido che impedisca all'*annulus* di dilatarsi di nuovo (Dagum *et al.*, 2001).

Recentemente ci si è concentrati sulla progettazione di anelli volti a correggere la specifica causa dell'insufficienza mitralica, disegnati con l'obiettivo di correggerne i difetti a discapito della conservazione della normale fisiologia (figura 1.7).

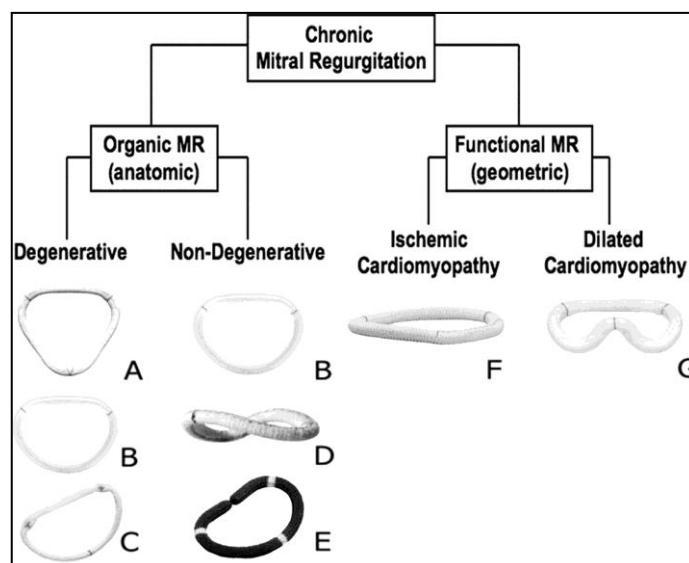


Figura 1.7 L'insufficienza mitralica, può essere trattata con vari modelli di anello a seconda che l'eziologia sia degenerativa, non degenerativa o funzionale. A, Myxo Etlogix annuloplasty ring (Edwards Lifesciences); B, Carpentier-Edwards Classic mitral Annuloplasty ring (Edwards Lifesciences); C, Colvin-Galloway Future Composite Ring (Medtronic); D, Rigid Saddle Ring (St. Jude Medical); E, AnnuloFlo annuloplasty ring (CarboMedics/Sorin Group); F, Carpentier-McCarthy-Adams IMR Etlogix ring (Edwards Lifesciences); and G, GeoForm annuloplasty ring (Edwards Lifesciences).

Ad esempio per correggere l'insufficienza mitralica ischemica normalmente si esegue un'annuloplastica sottodimensionata al fine di ottimizzare la coaptazione dei lembi ed eliminare l'insufficienza. È importante che la distanza antero-posteriore venga diminuita e fissata per mantenere una adeguata coaptazione: sono quindi stati progettati nuovi anelli con una forma tridimensionale che permette di spingere i muscoli papillari uno vicino all'altro ridisegnando l'*annulus* mitralico.

Per quanto riguarda gli anelli incompleti, essi sono stati sviluppati per evitare di ostacolare il flusso in uscita dall'aorta, dal momento che gli anelli completi possono alterare le caratteristiche meccaniche della radice aortica.

1.5.2 La tecnica *Edge-to-Edge* (tecnica Alfieri)

La tecnica *Edge-to-Edge* può essere utilizzata per la correzione di diversi tipi di insufficienza mitralica. La tecnica consiste nell'avvicinamento del margine libero dei lembi prolassanti mediante una sutura creando una valvola con un doppio orifizio qualora la sutura sia centrale, ed un orifizio singolo, ma più piccolo, qualora l'origine del jet e quindi la sutura sia paracommissurale (Figura 1.8). Solitamente è associata all'utilizzo di un anello.

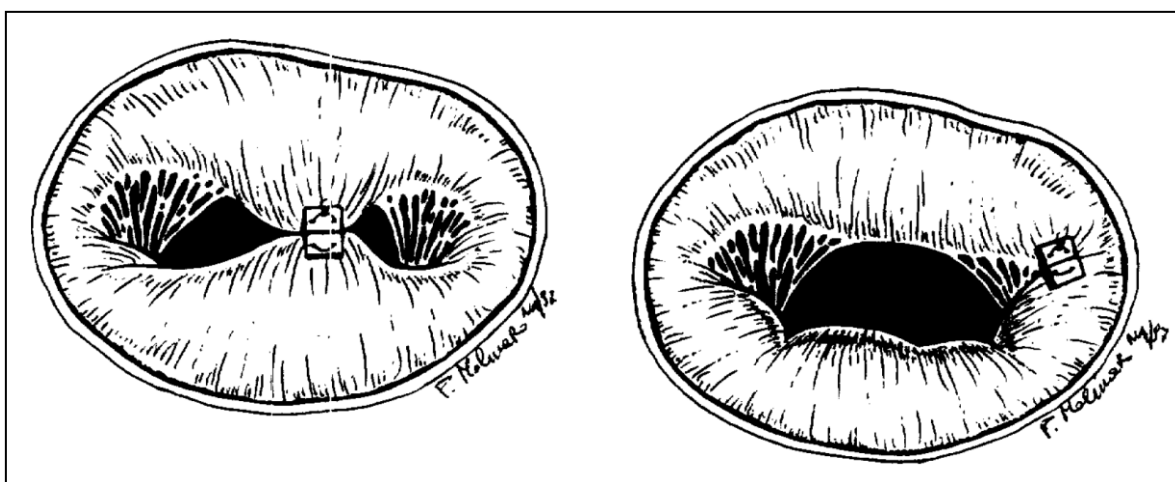


Figura 1.8 Tecnica *Edge to Edge*. Consiste nell'approssimazione del margine libero dei segmenti prolassanti mediante una sutura creando una valvola con un doppio orifizio (immagine a sx), qualora la sutura sia centrale, od un orifizio singolo (immagine a dx), ma più piccolo, qualora l'origine del jet e quindi la sutura sia paracommissurale.

Per migliorare la comprensione della meccanica valvolare in seguito a una riparazione *Edge-to-Edge* sono stati condotti alcuni studi considerando diverse variabili relative alla funzione e alla meccanica valvolare come il volume di rigurgito (Bhudia *et al.*, 2004; Kinnaird *et al.*, 2003, Timek *et al.*, 2003, Maisano *et al.*, 2003), il gradiente di pressione trans-valvolare (Kinnaird *et al.*, 2003; Timek *et al.*, 2001), lo sforzo sui foglietti (Votta *et al.*, 2002) e la forza relativa ai punti di sutura (Nielsen *et al.*, 2001; Timek *et al.*, 2004). La caduta di pressione a cavallo del doppio orifizio è stata studiata sia in vivo che attraverso

esperienze cliniche (Kinnaird *et al.*, 2003, Timek *et al.*, 2001): è stato dimostrato che il livello di stenosi causato dalla tecnica di Alfieri non è clinicamente rilevante.

La dimensione dell'*annulus* e la sua geometria sono statisticamente correlate alla forza relativa ai punti di sutura della tecnica Alfieri (Nielsen *et al.*, 2001; Timek *et al.*, 2004). Nonostante il fallimento di questa procedura non sia frequente, la forza relativa ai punti di sutura è un parametro importante che può influenzare la durabilità della riparazione.

La tecnica *Edge-to-Edge* è stata modificata per essere eseguita per via percutanea mediante l'impianto di una clip (Mitraclip® EValve Inc., Menlo Park, CA, USA) (figura 1.9) che avvicina ed unisce i due foglietti. Le limitazioni di tale tecnica sono la necessità anatomica di un jet centrale e l'assenza di correzione della dilatazione anulare.

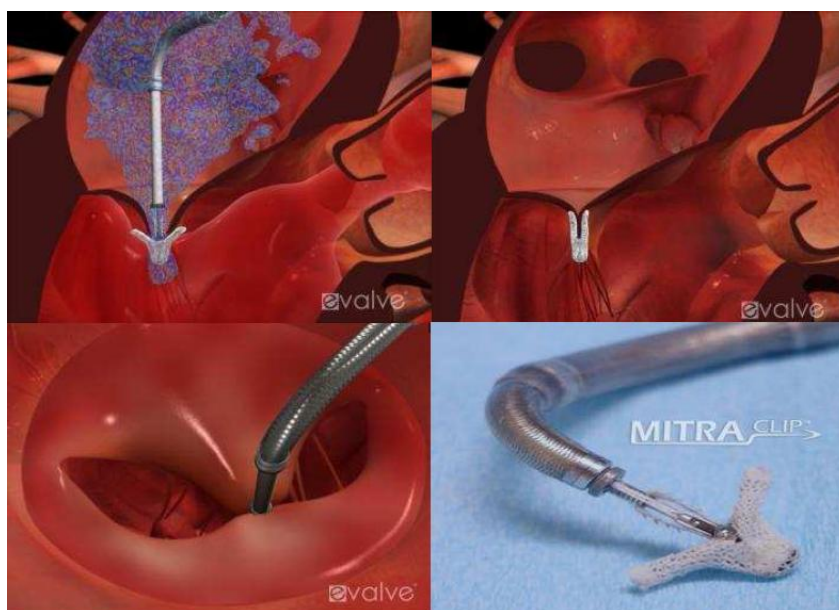


Figura 1.9: Dispositivo Mitraclip® (E-Valve, Menlo Place, CA, USA). Tale dispositivo permette di catturare i lembi mitralici con accesso percutaneo ed avvicinarli ottenendo un doppio orifizio valvolare.

1.5.3 Riduzione del diametro antero-posteriore dell'*annulus* mitralico

Nonostante l'annuloplastica ad anello si sia dimostrata essere una tecnica efficiente nel trattare l'insufficienza mitralica, essa annulla le normali dinamiche dell'*annulus* mitralico e del foglietto posteriore (Dagum *et al.*, 2001).

È stata proposta una nuova tecnica chirurgica per curare l'insufficienza mitrale ischemica che consiste nel ridurre il diametro setto-laterale dell'*annulus* mediante l'utilizzo di suture (Timek *et al.*, 2004; Tibayan *et al.*, 2004; Timek *et al.*, 2002; Timek *et al.*, 2002): cinque o sei suture (Figura 1.10) vengono fatte passare attraverso l'*annulus* mitralico e quindi tirate per ridurre il diametro antero-posteriore (mantenendo costante il diametro commisuro-commissurale). In questo modo si conservano le dinamiche caratteristiche dell'*annulus* e dei foglietti valvolari (Timek *et al.*, 2002; Timek *et al.*, 2002). Questa procedura potrebbe rappresentare un metodo semplice per il trattamento chirurgico dell'insufficienza mitralica ischemica sia da sola sia come tecnica aggiuntiva. La meccanica e l'emodinamica della valvola mitrale in seguito a questa procedura chirurgica devono ancora essere studiate nel dettaglio, per cui sono necessari ulteriori approfondimenti in questo ambito.

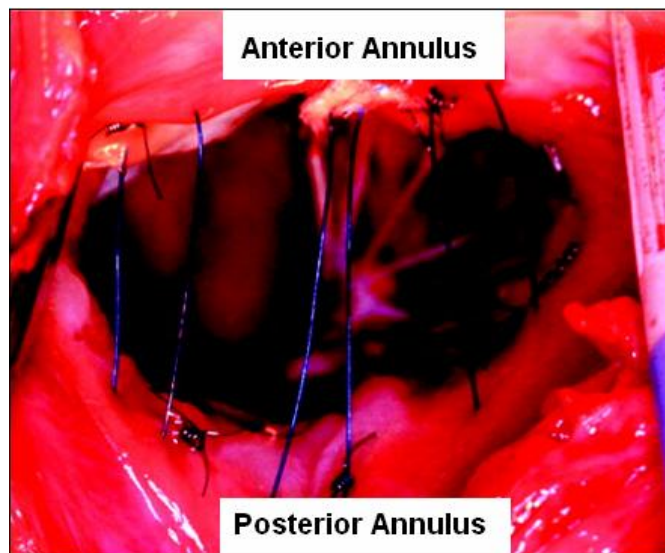


Fig 1.10 Fotografia dell'orifizio mitralico dopo una riduzione del diametro antero-posteriore dell'*annulus* mitralico.

1.5.4 Riposizionamento dei muscoli papillari

Chirurghi e clinici hanno proposto diverse procedure per correggere l'insufficienza mitralica dovuta a una dislocazione dei muscoli papillari. Sono state sviluppate procedure di ricostruzione del ventricolo, raramente utilizzate a causa della loro invasività (Liel-Cohen *et al.*, 2000) e sono oggetto di studio dei dispositivi che fungano da "freno" per evitare il rimodellamento del ventricolo dopo un evento ischemico. (Moanie *et al.*, 2002). Al momento però nessuna delle soluzioni sopra citate per il riposizionamento dei muscoli papillari è stata approvata dalla FDA (Food and Drug Administration).

1.5.5 Riparazione delle corde tendinee

La riparazione delle corde tendinee si divide in quattro differenti categorie: resezione, trasposizione, sostituzione e accorciamento. La riparazione delle corde si esegue generalmente al fine di correggere l'insufficienza mitralica associata a un prolasso della valvola o a una disfunzione relativa alle corde tendinee. Le corde più soggette a qualche tipo di malfunzionamento o danneggiamento sono le corde marginali che si inseriscono sul lato posteriore della valvola. Nonostante le procedure di riparazione delle corde si siano evolute negli ultimi anni, esse presentano ancora risultati sub-ottimali e in molti casi sono associate al re-intervento.

La resezione delle corde consiste nell'interruzione di entrambe le corde intermedie di un foglietto retratto in modo da migliorare la coaptazione. Nei modelli animali tale tecnica ha eliminato il rigurgito, non si è assistito a prolasso né a una diminuzione della frazione di eiezione (Messas *et al.*, 2001).

La sostituzione delle corde consiste nell'utilizzo di una sutura che prenda il posto di una corda danneggiata. Il materiale che si è scelto per effettuare questa tecnica è il PTFE (Politetrafluoroetilene) (Kasegawa *et al.*, 2006) che ha portato a buoni risultati a lungo termine; è stato anche utilizzato del pericardio autologo con lo scopo di minimizzare la risposta biologica all'impianto. Corde di tessuto ingegnerizzato a base di collagene sono in via di sviluppo (Shi *et al.*, 2003). L'ostacolo maggiore alla sostituzione delle corde tendinee non è però rappresentato dalla scelta del materiale ma dall'aggiustamento della

lunghezza di queste corde poiché il chirurgo lavora su un cuore passivo e non battente: si stanno sviluppando tecniche avanzate per affrontare e risolvere questa problematica (Duran *et al.*, 2003, Rankin *et al.*, 2006).

Sia la tecnica di trasposizione che quella di accorciamento delle corde tendinee vengono comunemente utilizzate per la riparazione di foglietti prolassanti. Il prolasso può essere dovuto a un danneggiamento delle corde tendinee (Figura 1.11) oppure a causa di un allungamento delle corde.



Fig 1.11 Trasposizione delle corde tendinee in un foglietto anteriore prolassante a causa di un danneggiamento delle corde tendinee.

Il prolasso del foglietto anteriore (meno frequente di quello posteriore) è il più complicato da riparare: la trasposizione delle corde è effettuata trasferendo le corde dal foglietto posteriore al margine libero del foglietto anteriore. Per le corde allungate il trasferimento delle corde è normalmente preceduto dalla resezione delle strutture che hanno subito l'allungamento. Quando si ha a che fare con corde allungate, l'accorciamento delle corde può essere effettuato in alternativa alla trasposizione: si effettua un taglio nel muscolo papillare e la lunghezza in eccesso della corda viene rimboccata all'interno di questa fessura. Le corde vengono quindi ancorate con suture e la fessura viene chiusa mediante una sutura. A causa dei risultati a lungo termine non ottimali della tecnica appena descritta la trasposizione delle corde è spesso considerata un'opzione migliore (Smedira *et al.*, 1997, Fundaro *et al.*, 1996).

Capitolo II

Stato dell'arte

Gli studi *in vitro* sulla valvola mitrale porcina sono volti a replicare e studiare la funzionalità della valvola in condizioni fisiologiche e ad analizzarne le alterazioni in condizioni patologiche e/o dopo una procedura di riparazione.

In questo capitolo viene descritto il banco prova realizzato presso il laboratorio μ BS del Dipartimento di Biongegneria del Politecnico di Milano (Pavesi A., 2007) che verrà utilizzato nella campagna sperimentale di questo lavoro.

Tale banco è stato progettato prendendo ispirazione e cercando di superare i limiti di quello sviluppato presso il Georgia Institute of Technology (Atlanta, Georgia, US) di cui si riporta una descrizione in sede introduttiva.

Entrambi i banchi prova permettono di riprodurre *in vitro* la condizione di insufficienza mitralica funzionale attraverso lo spostamento simmetrico o asimmetrico dei muscoli papillari nelle tre direzioni.

2.1 Georgia Tech left heart simulator

In questo paragrafo è presentato il banco prova sviluppato presso il Georgia Institute of Technology (Atlanta, Georgia, US) attraverso tre versioni cronologicamente ordinate, di cui sono descritte le caratteristiche salienti e i risultati.

2.1.1 Prima versione

La prima versione del banco prova “Georgia Tech left heart simulator” è stata presentata da Fontaine *et al.* nel 1996. Esso consiste in una camera atriale e in una camera ventricolare rigida collegata tramite un foro al sistema pompante necessario a generare un flusso pulsatile con forme d’onda di portata e di pressione fisiologiche (Figura 2.1). Il modello di ventricolo è stato realizzato in plexiglass in modo da fornire un’ottima visuale di ciò che accade all’interno e consentire l’acquisizione tramite doppler. Le dimensioni di 75x82x76mm sono state scelte in modo da replicare le dimensioni del ventricolo a fine diastole (Lefebvre *et al.*, 1992).

Su due pareti adiacenti della camera si trovano gli alloggiamenti per una valvola aortica meccanica e una valvola mitrale porcina. La parete posteriore del ventricolo è removibile e intercambiabile e permette così di simulare la dilatazione del ventricolo sinistro.

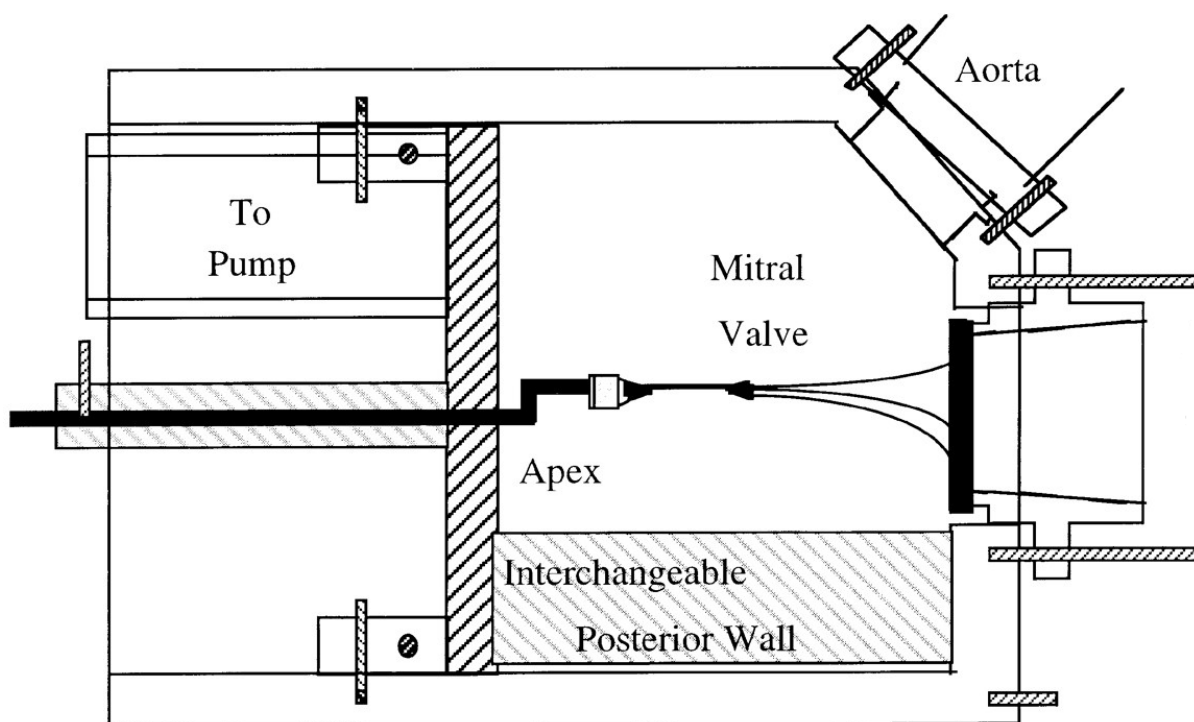


Figura 2.1 Illustrazione della prima versione del banco prova “Georgia Tech left heart simulator”.

La valvola porcina è inserita nel banco prova preservando l'apparato sottovalvolare e montandone l'*annulus* mitralico su un supporto costituito da due anelli rigidi (Figura 2.2).

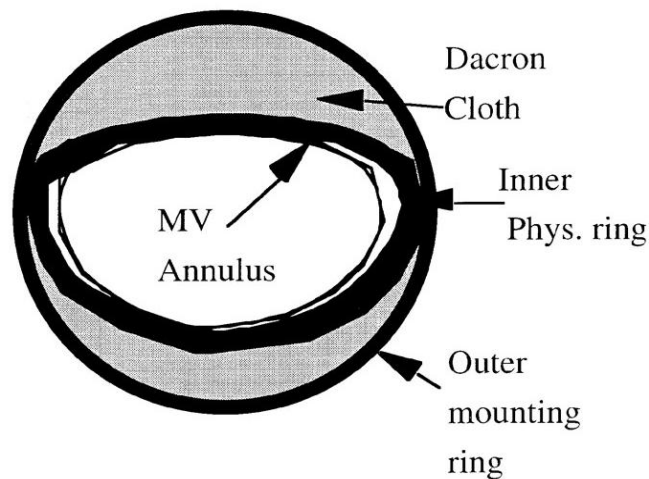


Figura 2.2 Rappresentazione dei due anelli rigidi su cui viene montata la valvola mitrale porcina.

L'anello più interno è di forma ellissoidale e la sua taglia viene determinata utilizzando i *sizer* per valvola mitrale usati in chirurgia per dimensionare gli anelli per annuloplastica.

L'*annulus* della valvola viene suturato direttamente sul perimetro dell'anello interno che a sua volta viene fissato all'anello esterno attraverso del patch in Dacron impermeabile stirato tra i due anelli. L'anello esterno viene fissato all'atrio rispettando la posizione che la valvola assume nel ventricolo naturale, con il lembo anteriore rivolto verso la valvola aortica.

I muscoli papillari vengono avvolti in un pezzo di patch e fissati con fili di sutura a una ghiera forata posta alla fine di due aste a forma di "L" (Figura 2.3). Queste ultime consentono la movimentazione dei muscoli papillari dall'esterno nelle direzioni antero-posteriore (direzione y), laterale (direzione x) e apicale (direzione z) (Figura 2.4). Questo sistema di attuatori ha la limitazione di poter posizionare i papillari unicamente in punti che appartenengono ad una superficie cilindrica.

Il meccanismo di afferraggio dei papillari consente ad essi di poter assecondare il movimento di rotazione cui vengono sottoposti durante le fasi di apertura/chiusura della valvola.



Figura 2.3 Immagine della camera ventricolare, in particolare del meccanismo di movimentazione dei muscoli papillari.

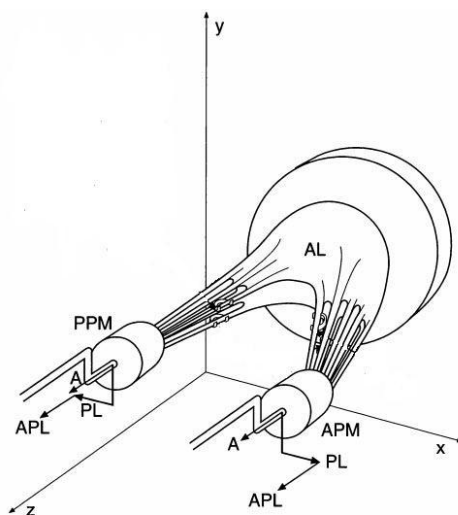


Figura 2.4 Rappresentazione schematica del meccanismo di movimentazione dei muscoli papillari e del sistema di riferimento utilizzato. Il papillare può essere spostato nelle direzioni apicale (A), posterolaterale (PL) e apical-posterolaterale. Il foglietto anteriore è indicato con la sigla AL.

Per ogni valvola il posizionamento dei muscoli viene impostato grazie alle informazioni ricavate dalle registrazioni simultanee eco-doppler. La posizione normale dei muscoli viene definita come la condizione nella quale le immagini ecocardiografiche

bidimensionali mostrano la completa coaptazione dei lembi valvolari e l'assenza di rigurgito.

Sulle corde tendinee vengono posizionati dei trasduttori di forza a forma di "C" in rame in modo da poter ricavare l'andamento delle forze sulle singole corde.

Con questo banco sono stati effettuati studi con obiettivi diversi.

Nielsen *et al.* nel 1999 hanno analizzato l'impatto della posizione dei muscoli papillari sulla competenza della valvola. Sono state riprodotte diverse configurazioni dei papillari spostandoli indipendentemente l'uno dall'altro nelle tre direzioni: si è così studiato l'effetto delle diverse configurazioni riprodotte sul grado di insufficienza mitralica indotto, prestando particolare attenzione ai diversi risultati ottenuti in caso di dislocazione simmetrica e asimmetrica.

Nello stesso anno lo stesso gruppo di ricerca ha studiato l'impatto della distribuzione della forza sulle corde tendinee sulla geometria dei foglietti mitralici e sulla competenza della valvola.

In entrambi gli studi per simulare la dislocazione dei muscoli papillari che può verificarsi in caso di ischemia o di cardiomiopatia dilatativa i muscoli papillari sono stati mossi in direzione apicale (A), posterolaterale (PL) e apical-posterolaterale (APL) (Figura 2.4).

Un'incompleta coaptazione dei lembi è stata ottenuta in tutti i test effettuati sia nel caso di dislocazione simmetrica che asimmetrica; inoltre una distribuzione alterata della forza sulle corde tendinee causata dalla dislocazione dei papillari riproduce una configurazione *tented* dei lembi valvolare e un' insufficienza mitralica funzionale.

Un altro studio è stato effettuato per identificare il ruolo della dilatazione dell'*annulus* nell'insufficienza mitralica funzionale e la sua interazione con la dislocazione dei muscoli papillari (He *et al.*, 1999). A questo scopo è stato progettato un anello regolabile a forma di "D" composto da una molla in acciaio inossidabile e da un'asta in metallo rigida, entrambe ricoperte di Dacron (Figura 2.5).

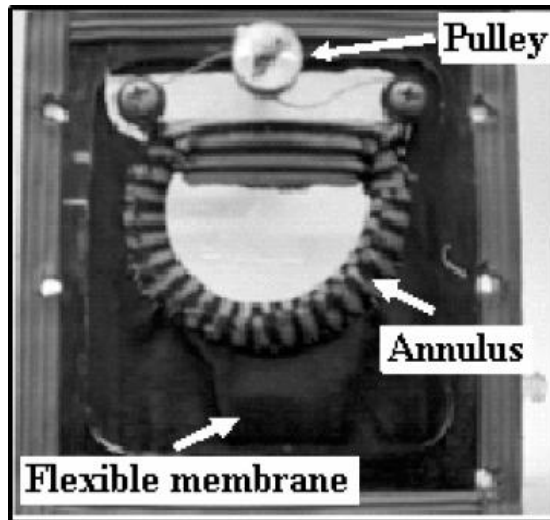


Figura 2.5 Fotografia dell'anello regolabile a forma di "D".

L'*annulus* valvolare viene suturato all'anello che a sua volta viene fissato all'atrio attraverso una lastra di gomma elastica impermeabile stirata tra l'anello e il profilo della sezione atriale. La dimensione dell'anello è regolabile attraverso un filo di ferro e un meccanismo costituito da due viti: avvitando queste ultime il filo si accorcia e la taglia dell'anello diminuisce estendendo la lastra in gomma; svitandole, le dimensioni dell'anello aumentano riportando la lastra in gomma alle sue dimensioni normali. I risultati ottenuti sono mostrati in figura 2.6.

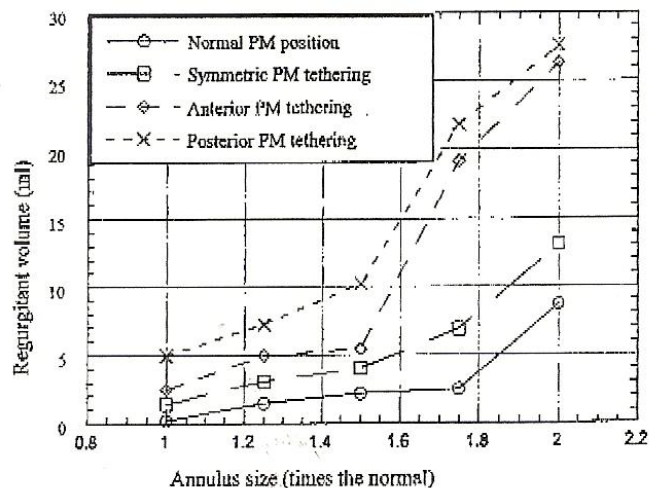


Figura 2.6 Volumi di rigurgito ottenuti in funzione della taglia dell'anello per ogni configurazione testata.

2.1.2 Seconda versione

Nel 2001 Jensen *et al.* hanno presentato una versione modificata del banco prova Georgia Tech affinando il sistema di posizionamento del papillare. Come mostrato in figura 2.7, anche in questa nuova versione il principio di funzionamento del sistema di afferraggio è rimasto pressoché il medesimo ed è costituito da una ghiera forata dove il muscolo viene vincolato attraverso fili di sutura.

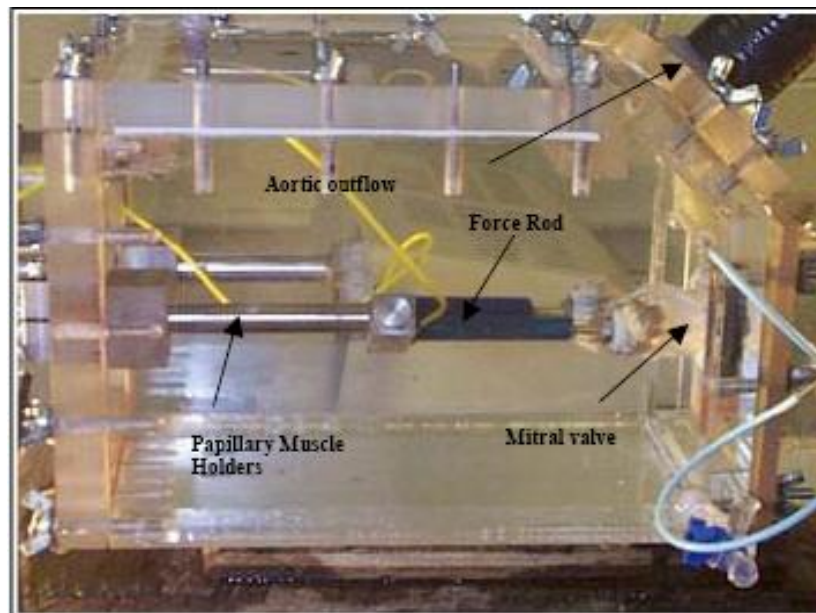


Figura 2.7 Immagine della seconda versione del banco prova Georgia Tech.

Sono state apportate modifiche al diametro delle aste ed è stato aggiunto un meccanismo di regolazione in più, nel particolare una vite in grado di modificare il braccio del sistema di afferraggio (Figura 2.8), la quale ha come limite l'impossibilità di modifica durante un ciclo di test perché per poter mutare la corsa della vite di regolazione è necessario aprire completamente il banco.

Una seconda modifica riguarda l'introduzione di tre coppie di estensimetri che sono state incorporate in ogni asta a "L" allo scopo di misurare il valore di forza totale che il muscolo papillare trasmette alla parete ventricolare, invece di concentrarsi unicamente sul valore di forza misurato sulle singole corde.

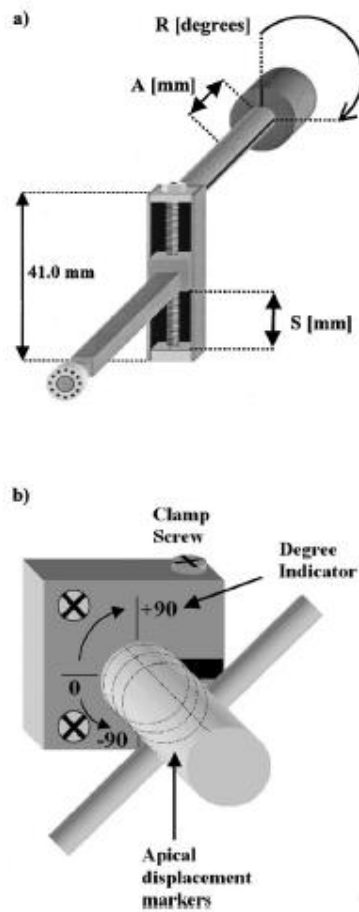


Figura 2.8 (a) Rappresentazione schematica delle modalità di azionamento del sistema di posizionamento. La posizione del papillare è identificata dalla coordinata R [rotazione (degree)], A [spostamento apicale (mm)], e S [spostamento in direzione anteroposteriore (mm)]; (b) Meccanismo di posizionamento situato all'esterno del banco prova.

Negli studi di nostro interesse effettuati con questo banco prova la posizione normale dei muscoli papillari viene identificata nel seguente modo:

- posizionamento laterale: i muscoli papillari vengono allineati all'*annulus* della valvola su ogni commissura in modo che le corde commissurali risultino essere perpendicolari al piano annulare.
- posizionamento antero-posteriore: le aste vengono spostate in direzione antero-posteriore finchè si osserva un'estensione uniforme delle corde commisurali

- posizionamento apico-basale: le aste vengono spostate verso l'*annulus* fino a che si osserva un allentamento di tutte le corde tendinee; in questo punto viene azzerata la forza rilevata dagli estensimetri. In seguito ogni asta viene tirata apicalmente fino ad ottenere una variazione di forza corrispondente a 0.092N, corrispondente a una variazione di tensione di 0.002V, ovvero alla risoluzione del sistema.

La verifica della configurazione trovata viene fatta assicurandosi che ci sia un'appropriata coaptazione dei lembi valvolari nelle immagini Doppler registrate.

Gli andamenti e i valori trovati da Jensen *et al.* nel 2001 sono riportati in Figura 2.9 e in Figura 2.10.

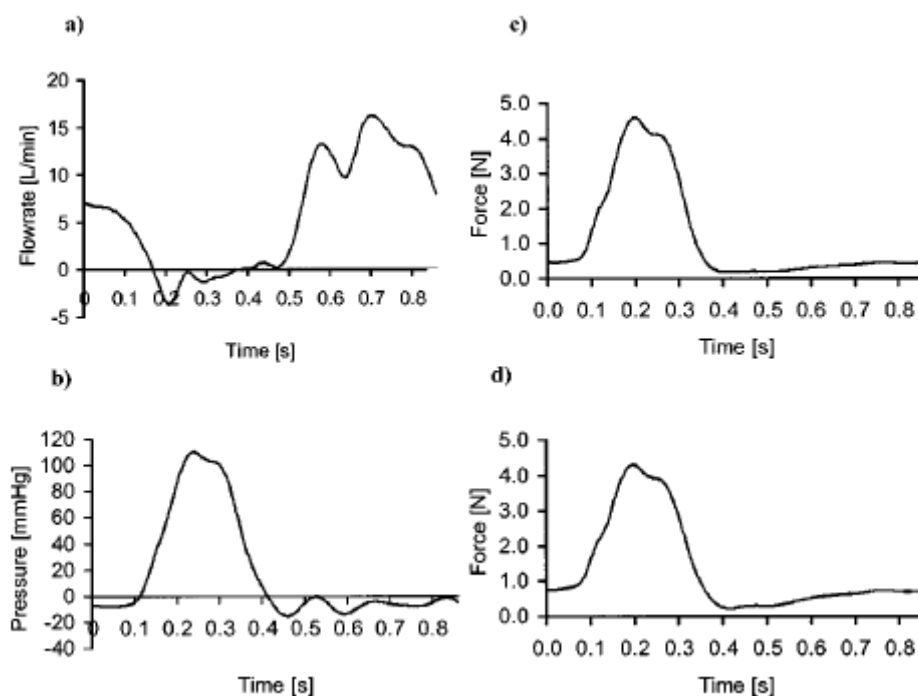


Figura 2.9 Grafici raffiguranti gli andamenti nel tempo (a) della portata transmitralica, (b) della pressione transmitralica, (c) della forza relativa al muscolo posteromediale, (d) della forza relativa al muscolo anterolaterale (Jensen *et al.*, 2001).

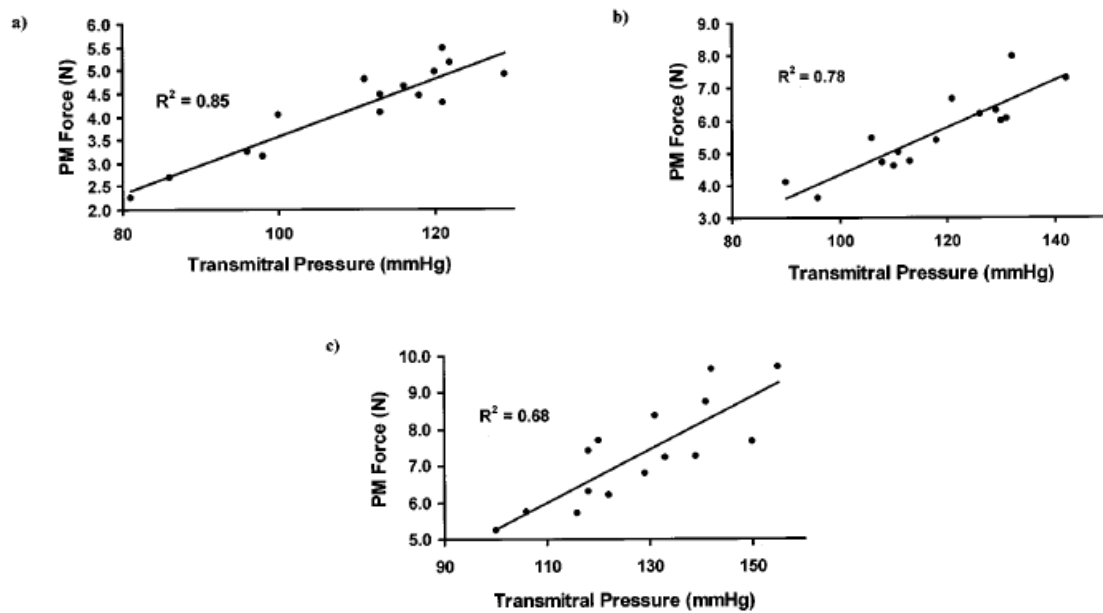


Figura 2.10 Grafici raffiguranti il valore di forza rilevata dagli estensimetri in funzione del valore di pressione transmitralica per (a) posizione fisiologica, (b) spostamento di 3mm in direzione apicale, (c) 3mm in direzione apicale e 45° di retazione dell'afferraggio in senso laterale (Jensen *et al.*, 2001)

Con questo banco sono stati effettuati studi per quantificare la deformazione cui sono soggetti la regione centrale del foglietto anteriore (He *et al.*, 2002; Sacks *et al.*, 2002), la regione basale del foglietto anteriore (Conrad *et al.*, 2001) e la regione centrale del lembo posteriore (He *et al.*, 2005). A questo scopo sono stati posizionati 16 piccoli *marker* in grafite (diametro compreso tra 200µm e 300µm) nelle regioni e nelle direzioni interessate (Figura 2.11), andando a costituire una matrice 4x4 (9 *marker* e matrice 3x3 nel caso di Conrad).

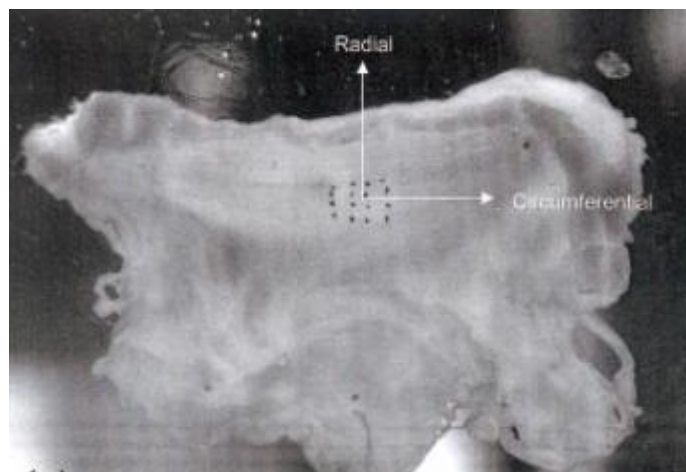


Figura 2.11 Immagine raffigurante la matrice 4x4 realizzata con 16 *marker* posti sulla regione centrale del foglietto anteriore (Sacks *et al.*, 2002).

Con l'ausilio di due videocamere per stereo-fotogrammetria si è valutata la deformazione della superficie compresa nella matrice in funzione della pressione transmitralica.

Jimenez *et al.* nel 2003 hanno analizzato gli effetti della geometria “a sella” dell'*annulus* sulla funzionalità valvolare e sulla distribuzione della forza sulle corde tendinee. A questo scopo hanno realizzato un anello *ad hoc* la cui forma può essere regolata in base alla geometria dell'*annulus* che si desidera riprodurre. L'anello realizzato è costituito da una struttura a catena (Figura 2.12) in grado di deformarsi tridimensionalmente mantenendo però un perimetro approssimativamente costante e la tipica forma a “D” caratteristica dell'orifizio mitralico; l'anello è ricoperto in Dacron per consentire di essere suturato all'*annulus* della valvola.

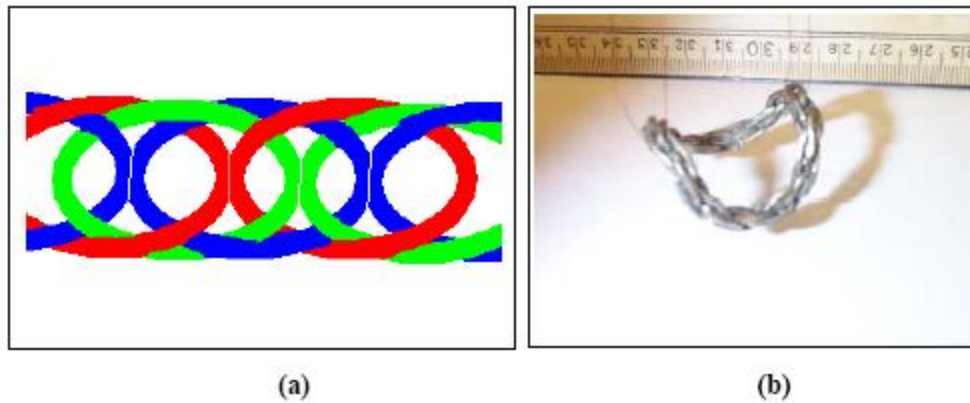


Figura 2.12 (a) Rappresentazione schematica del *design* della catena. (b) Fotografia dell'anello in configurazione "a sella".

Un sistema costituito da due aste di controllo permette di modulare la forma dell'*annulus* variandone l'altezza di sella: l'anello può così assumere diverse configurazioni geometriche, in particolare le configurazioni "piatto" e "a sella".

Sono stati ricavati gli andamenti delle forze sulle singole corde tendinee e della pressione transmitralica in entrambe le configurazioni (Figura 2.13; Figura 2.14).

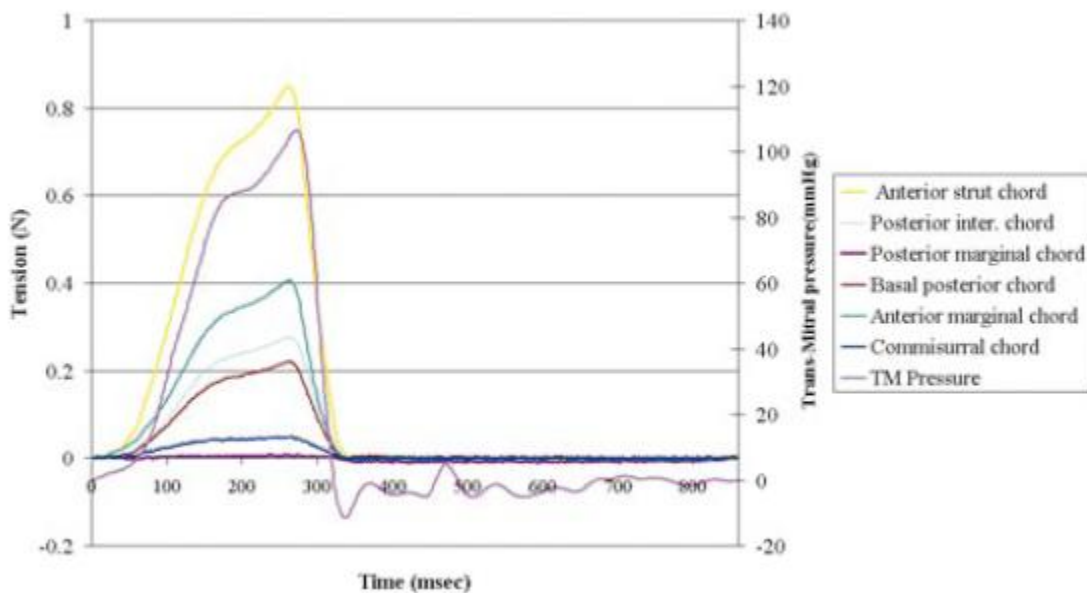


Figura 2.13 Andamenti delle forze e della pressione transmitralica in un ciclo cardiaco per l'*annulus* piatto (Jimenez *et al.*, 2003).

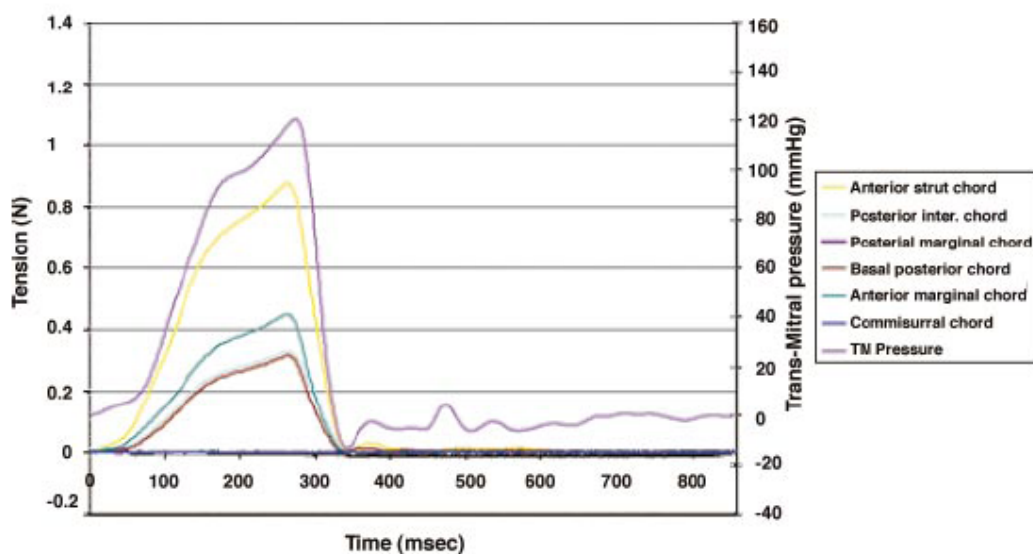


Figura 2.14 Andamenti delle forze e della pressione transmitralica in un ciclo cardiaco per l'*annulus* a sella (Jimenez *et al.*, 2003).

La valvola è stata prima testata in configurazione normale, per poi simulare un'insufficienza mitralica funzionale spostando i papillari in modo simmetrico di 5mm in tutte le direzioni.

Da tale studio è emerso che non sussiste una differenza significativa tra le due configurazioni di *annulus* per quanto riguarda la percentuale di rigurgito mitralico mentre si può affermare che la forma dell'*annulus* influisce sulla distribuzione delle forze sulle corde tendinee.

Nel 2005 lo stesso gruppo di ricerca ha analizzato gli effetti della flessibilità e della motilità dell'*annulus* e della dislocazione dei muscoli papillari sulla funzionalità valvolare e sulle forze agenti sulle corde tendinee. È stato così realizzato un componente aggiuntivo, un *annulus* flessibile in grado di deformarsi a seconda delle caratteristiche geometriche della valvola sottoposta al flusso sanguigno (Figura 2.15).

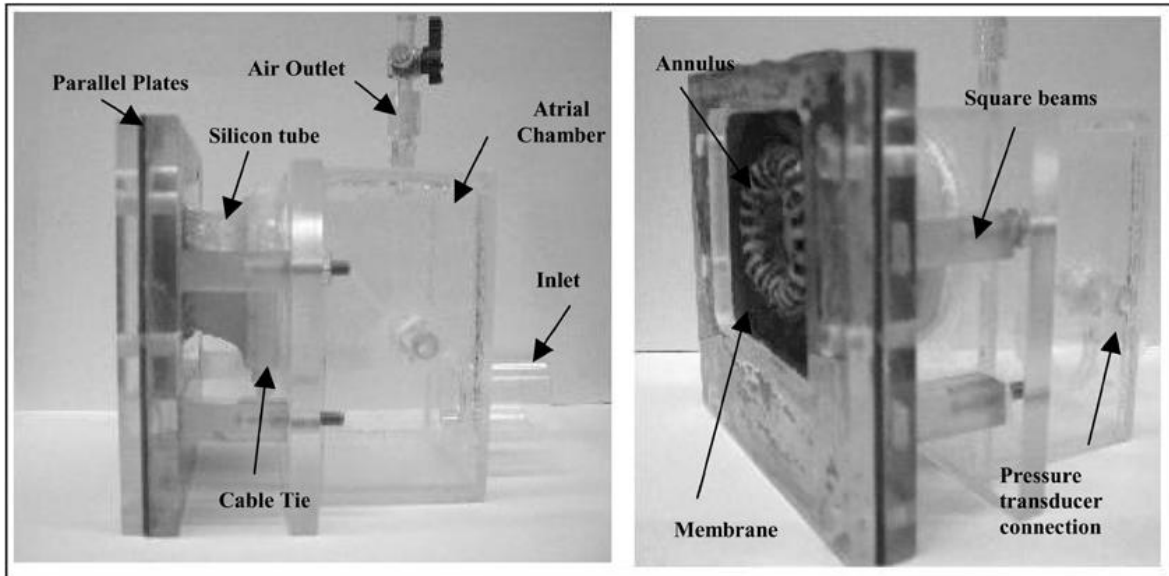


Figura 2.15 Immagine del modello di *annulus* flessibile e dei suoi componenti.

L'*annulus* viene suturato a una membrana in silicone posizionata tra due strutture in materiale acrilico fissate alla camera atriale per mezzo di quattro tiranti: in questo modo l'*annulus* si può deformare liberamente in direzione apicale. Questa scelta è stata effettuata dopo che studi anatomici di patologie come la cardiomiopatia dilatativa e il rigurgito mitralico ischemico (Kaplan *et al.*, 2000) hanno provato che sussiste un dislocamento del piano valvolare oltre che un dislocamento della posizione dei papillari. L'insufficienza mitralica viene qui ottenuta muovendo in modo simmetrico i papillari di 5mm in tutte e tre le direzioni ottenendo diversi valori nel volume di rigurgito a seconda della forma dell'*annulus* utilizzata. In particolare in figura 2.16 si osserva che la frazione di rigurgito mitralico utilizzando l'*annulus* flessibile subisce un incremento significativo rispetto a quello misurato con un modello annulare rigido, accompagnato da un aumento significativo della forza agente sulle corde.

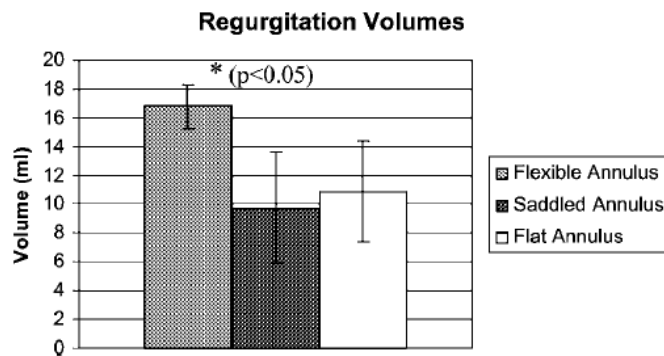


Figura 2.16 Volume di rigurgito medio per *annulus* flat, a sella e flessibile. I risultati mostrano un aumento significativo del volume di rigurgito con *annulus* flessibile (Jimenez *et al.*, 2005).

2.1.3 Terza versione

Nel 2006 Ritchie *et al.* hanno presentato un'ulteriore modifica del banco prova Georgia Tech al fine di valutare le proprietà meccaniche delle corde tendinee e dei foglietti valvolari. Il sistema di posizionamento dei muscoli papillari è rimasto invariato mentre la geometria della camera ventricolare è stata modificata per minimizzare le problematiche legate all'imaging.

Le pareti della camera sono state costruite parallele all'ottica della videocamera in modo da evitare gli errori dovuti all'inefficienza ottica che le pareti in plexiglass, necessariamente spesse per esigenze meccaniche, possono creare (Figura 2.17).

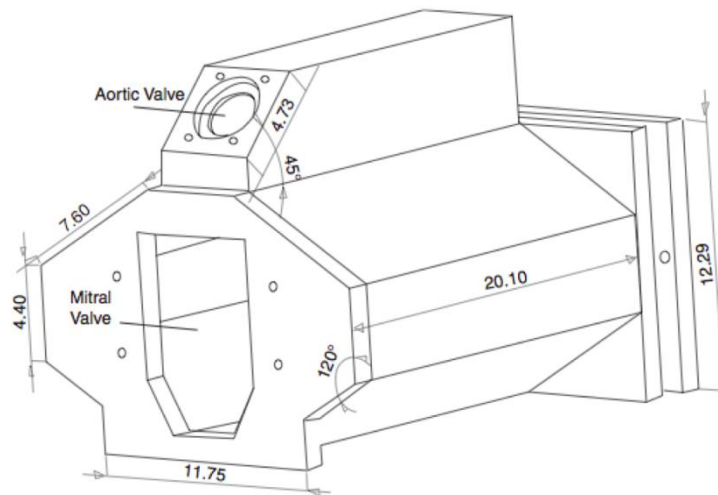


Figura 2.17 Rappresentazione della nuova geometria del banco prova Georgia Tech. Tutte le quote sono espresse in mm (Ritchie *et al.*, 2006).

Nel 2007 Jimenez *et al.* hanno studiato l'effetto della geometria “a sella” dell'*annulus* sullo stato di deformazione della regione centrale del foglietto anteriore in condizioni fisiologiche e nel 2009 lo stesso gruppo (Padala *et al.*, 2009) ha analizzato l'impatto della forma a sella dell'*annulus* mitralico sulla meccanica del segmento P2 del foglietto posteriore. È stata utilizzata la tecnica dei *marker* descritta in precedenza e si è ricavato che lo stato di deformazione nella regione centrale del foglietto anteriore e nel segmento P2 del lembo posteriore si riduce aumentando la curvatura della forma a sella.

Il Georgia Tech Left Heart Simulator è stato inoltre utilizzato per testare alcune tecniche chirurgiche riparative della valvola mitrale. In particolare è stato valutato l'effetto della tecnica Edge-to-Edge sulla geometria e sulla dinamica della valvola (Jimenez *et al.*, 2006) e l'efficacia della stessa in caso di dilatazione del ventricolo sinistro (Croft *et al.*, 2007).

2.2 Banco prova realizzato al μ BS

Nel laboratorio μ BS del Dipartimento di Biongegneria del Politecnico di Milano è stato realizzato un banco prova utile a testare la valvola mitrale (Pavesi A., 2007). Il banco è stato progettato con l'obiettivo di ottenere un'evoluzione del banco della Georgia Tech, cercando di superare i limiti presenti nel posizionamento dei muscoli papillari unicamente in punti appartenenti a una superficie cilindrica e l'impossibilità di modifica del posizionamento in direzione anteroposteriore durante un ciclo di test senza dover aprire completamente il banco. Le specifiche di progetto fondamentali sono dunque state quelle di realizzare un banco prova in cui il ventaglio di configurazioni riproducibili fosse molto più ampio e che potesse variare la posizione del muscolo papillare senza dover interrompere il test sperimentale.

2.2.1 Descrizione del banco prova

Il banco prova (Figura 2.18) è costituito da un complesso atrio-ventricolare realizzato in plexiglass per garantire la trasparenza delle pareti e quindi un'ottima visibilità all'interno del banco.

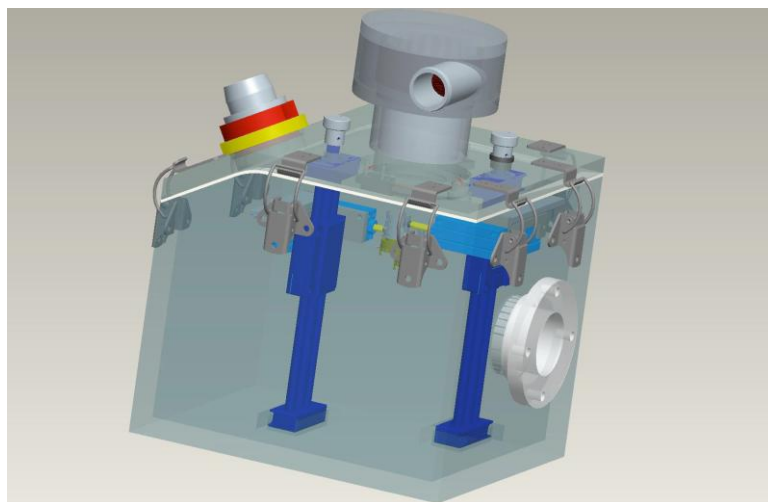


Figura 2.18 Disegno del banco prova nel suo insieme realizzato in Pro|Engineer.

La camera atriale (Figura 2.19; Figura 2.20) è costituita da un elemento precamera e un cilindro interno. L'elemento precamera permette la piena visibilità della valvola dall'alto, poiché l'ingresso del raccordo di collegamento al *reservoir* è stato posizionato tangenzialmente all'elemento stesso. Il cilindro interno è dotato di una serie di aperture che permettono di ripartire la portata e consentire una adeguata distribuzione di fluido: il liquido circola all'interno della precamera, mantenendosi aderente alle pareti laterali per poi convergere radialmente alla camera ventricolare mediante le aperture poste sulla parete, le quali, per limitare ulteriormente la vorticosità, sono state ricoperte da una strato di materiale poroso. Il coperchio del volume atriale è dotato di un sistema di chiusura a baionetta e la tenuta è garantita un anello di tenuta (o-ring) in silicone.

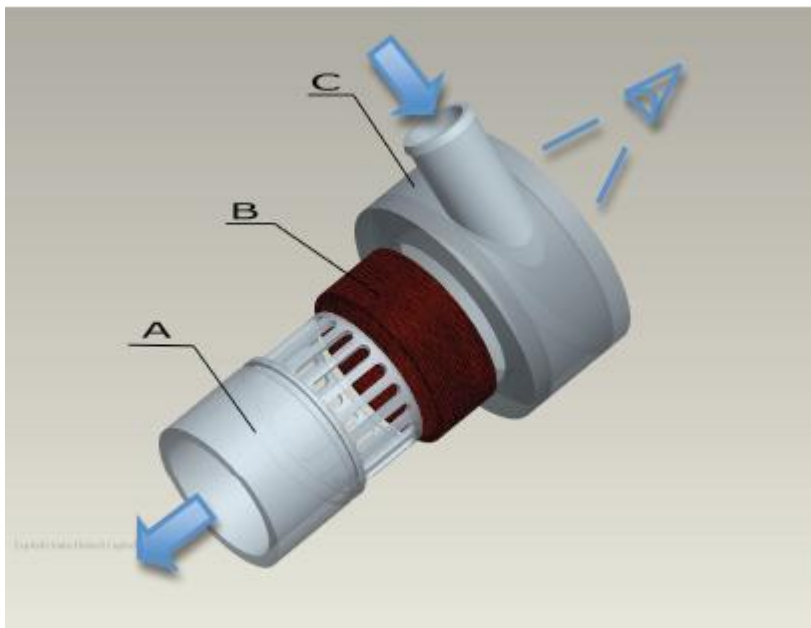


Figura 2.19 Disegno 3D esploso del blocco atriale realizzato in Pro|Engineer: con la lettera A viene indicato il volume della camera atriale con i fori di ingresso del fluido e cava per alloggiamento dell'o-ring in silicone, con B l'elemento poroso, con C il coperchio con per il fluido in posizione tangenziale. Le frecce indicano il verso di percorrenza del fluido e il triangolo schematizza il piano di vista per la valvola mitrale.

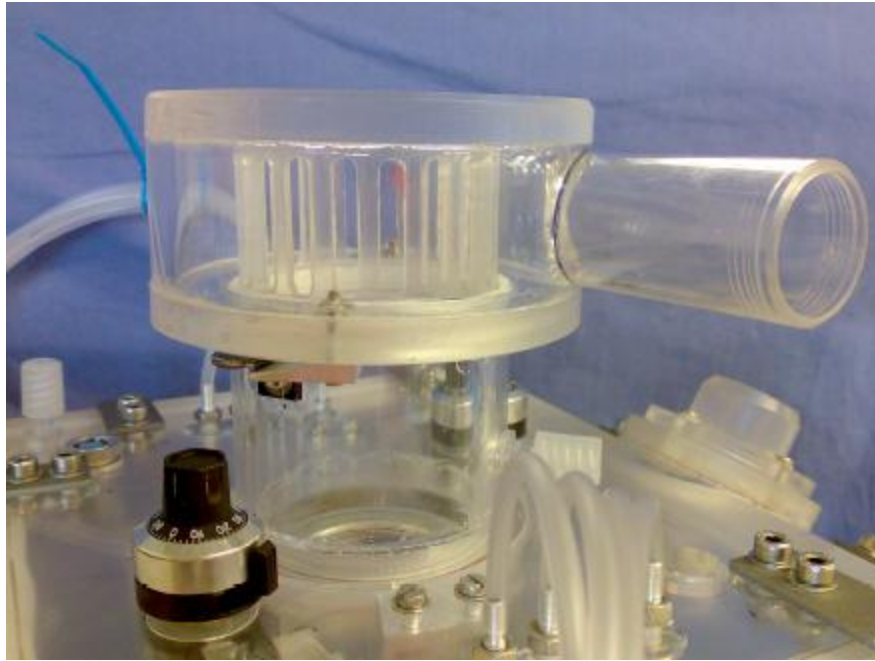


Figura 2.20 Precamera e camera atriale vincolate con sistema a baionetta: si possono osservare l'ingresso tangenziale e i fori di passaggio del fluido (l'elemento poroso è stato rimosso per permettere la visualizzazione).

La camera ventricolare è costituita da un volume ventricolare su cui viene fissato con chiusure a leva un coperchio che garantisca l'inclinazione fisiologica del piano valvolare aortico rispetto a quello mitralico. Il coperchio è sede del sistema di afferraggio della valvola mitralica porcina e della valvola aortica meccanica, del sistema di posizionamento dei muscoli papillari e delle interfacce con l'esterno.

La valvola mitralica porcina, suturata su un apposito patch in materiale impermeabile, viene alloggiata in un sistema di afferraggio a baionetta che comprime il patch tra un o-ring in silicone e un altro anello metallico (Figura 2.21). Quest'ultimo può avere un orifizio prossimo alla dimensione dell'annulus e in questo caso si avrà un irrigidimento del piano valvolare oppure può essere di dimensioni maggiori e permettere così una deformazione del patch e quindi un movimento apicale del piano valvolare.

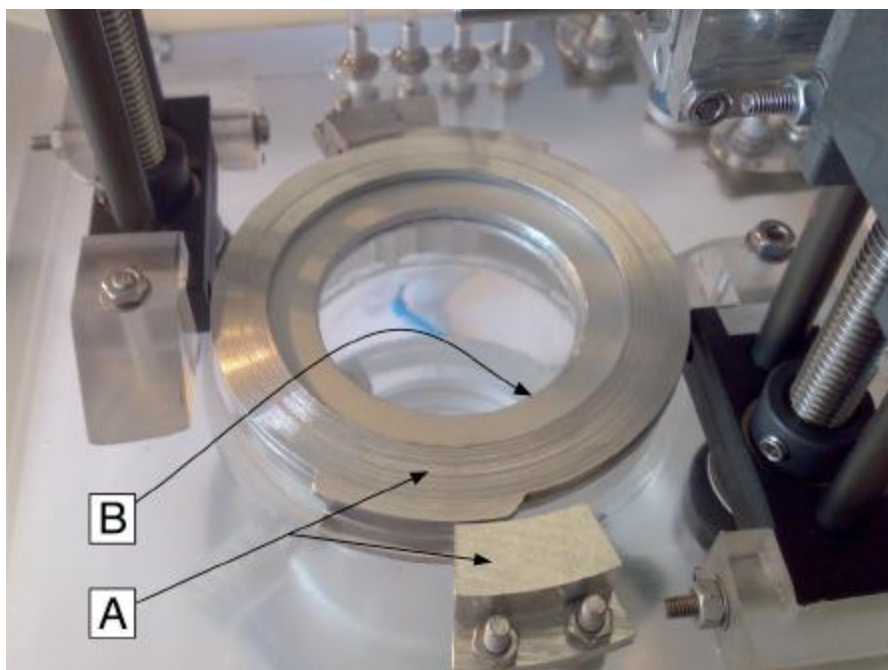


Figura 2.21 Sistema di afferraggio della valvola mitrale: con la lettera A si indica il sistema di bloccaggio a baionetta e con la lettera B gli anelli per l'irrigidimento del piano valvolare.

I muscoli papillari vengono fissati ognuno ad un sistema di afferraggio costituito da due elementi, i quali sono stati realizzati in modo tale che tra i due possa essere alloggiata una cella di carico miniaturizzata a compressione prodotta da Honeywell.

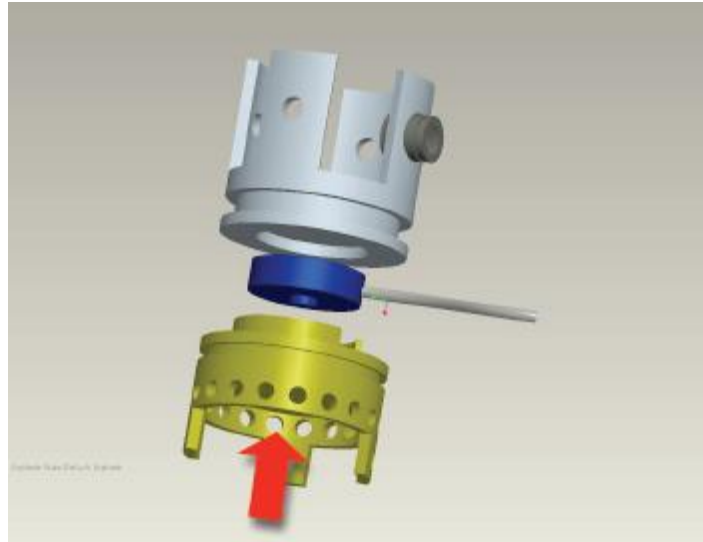


Figura 2.22 Esploso del sistema di afferraggio realizzato in Pro|Engineer. In grigio è indicato il sistema di alloggiamento del papillare, in blu la cella di carico e in giallo il sistema al quale viene ancorato il muscolo papillare mediante suture e che mette in compressione la cella di carico. La freccia indica la direzione di applicazione della forza, verso il piano valvolare.

In riferimento alla figura 2.22, in grigio è raffigurato l'alloggiamento del muscolo papillare, il quale è vincolato tramite fili per suture chirurgiche al componente sottostante (in giallo), attraverso i fori presenti su tale componente. Il muscolo papillare, trasmettendo una forza in direzione del piano valvolare, fa sì che l'elemento sottostante alla cella di carico (in blu) comprima la stessa contro l'alloggiamento del papillare (in grigio), rilevando così un valore di forza.

I due afferraggi così descritti sono connessi a un sistema di slitte e pistoni che consentono la loro movimentazione e quindi la movimentazione del muscolo papillare, ad essi ancorato, nelle tre direzioni apicale, anteroposteriore e laterale (Figura 2.23).

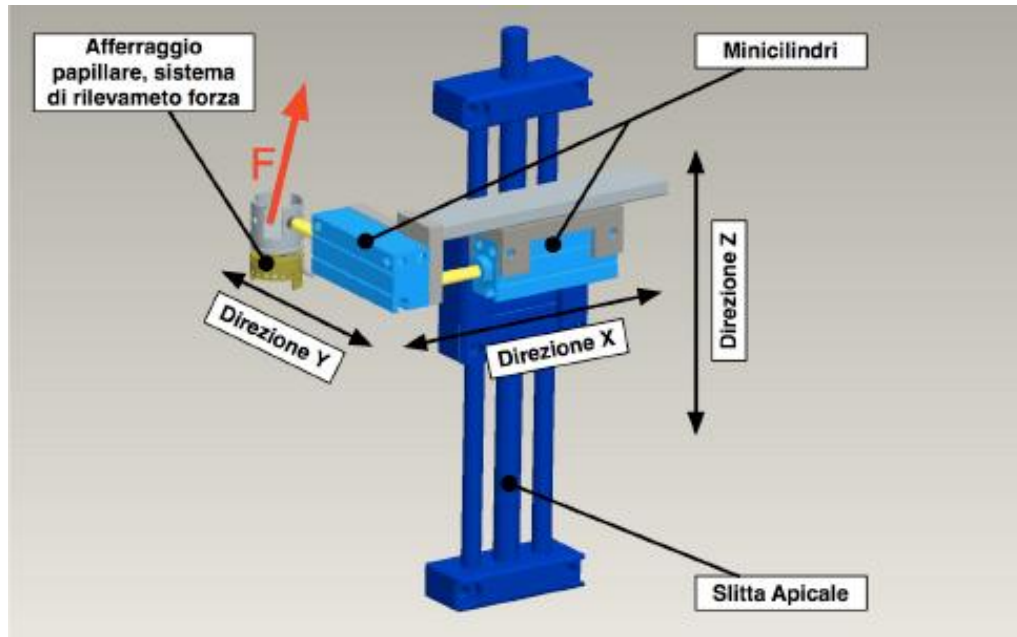


Figura 2.23 Sistema di posizionamento triassiale del muscolo papillare: slitta lineare per l'asse z (direzione apicale), pistoni pneumatici per gli assi x (direzione laterale) e y (direzione anteroposteriore) (Disegno realizzato in Pro|Engineer).

Lo spostamento in direzione apicale è garantito da una vite di Archimede posta su una guida lineare vincolata saldamente al coperchio della camera ventricolare e controllata dall'esterno per mezzo di una manopola graduata; tale vite causa un avanzamento del suo pattino di 1.25mm per ogni rotazione di 360°.

Gli spostamenti nelle direzioni laterale e antero-posteriore sono invece garantiti da minicilindri pneumatici a doppio effetto (serie CUJ prodotta da SMC). Il pistone che permette il movimento in direzione antero-posteriore (direzione y) è fissato al pistone che permette il movimento laterale (direzione x) su di una piastrina in lega di alluminio, il quale è vincolato a sua volta al pattino mobile della guida lineare.

Al pistone in direzione y è avvitato il sistema di afferraggio del muscolo papillare: tale sistema è basculante attorno al suo vincolo, costituito dalla vite, per meglio posizionarsi in direzione del vettore forza.

A ogni minicilindro interno ne corrisponde uno uguale esterno e i due sono connessi per mezzo di linee idrauliche riempite di un fluido incompressibile in modo tale che a un determinato spostamento del pistone esterno corrisponda uno spostamento di pari entità del

pistone interno. In questo modo viene rispettata la specifica di progetto prefissata secondo la quale per muovere i muscoli papillari nelle tre direzioni in fase di test non dovesse essere necessario aprire il banco.

Il fluido con cui vengono riempite le linee idrauliche di comando dei minicilindri è un olio minerale caratterizzato da una viscosità cinematica comparabile a quella dell'aria (viscosità ISO VG 2). Le linee idrauliche utilizzate sono tubi in PVC (Polivinilcloruro) per cateteri con diametro interno 10Fr (3.33mm) e per garantirne il passaggio attraverso le pareti della camera ventricolare si utilizzano dei connettori *ad hoc* in alluminio (Figura 2.24).



Figura 2.24 Interfaccia di collegamento per i tubi che controllano il movimento dei minicilindri.

L'interfaccia delle celle di carico sulla parete del banco è costituita da connettori impermeabili a quattro poli (Figura 2.25).



Figura 2.25 Connettore a quattro poli che collega la cella di carico con il sistema di amplificazione del segnale.

La cella e il cavo di trasmissione del segnale vengono quindi completamente immersi nel volume ventricolare e la tenuta viene garantita da uno strato di silicone.

Per fare in modo che la cella di carico sia completamente isolata dall'ambiente acquoso esterno si utilizza una camicia in silicone realizzata *ad hoc* che svolge anche la funzione di tenuta tra gli elementi dell'afferraggio (Figura 2.26).



Figura 2.26 Camicia in silicone ottenuta con l'utilizzo del silicone bi componente ELASTOSIL® RT 601 US.

Ogni cella di carico comprende un sistema di amplificazione e gli amplificatori sono posti in un contenitore avente come interfaccia con l'esterno due connettori a quattro poli per le due celle di carico e due connettori jack a due poli per la trasmissione del segnale al sistema di acquisizione (Figura 2.27).



Figura 2.27 Centralina contenente il sistema di amplificazione del segnale proveniente dalle celle e alimentazione per le stesse: sul coperchio si possono osservare i due connettori per le celle di carico e i due connettori jack femmina per il segnale destinato alla scheda di acquisizione.

2.2.2 Studi effettuati

Con questo banco è stato effettuato solo uno studio preliminare allo scopo di verificare il corretto funzionamento dei sensori all'interno del banco prova. Nonostante la loro natura preliminare, i dati acquisiti rappresentati nelle figure 2.28 e 2.29 trovano conferma in quanto riportato nella letteratura scientifica, in particolare nello studio di Jensen *et al.*, 2001 citato nel paragrafo precedente.

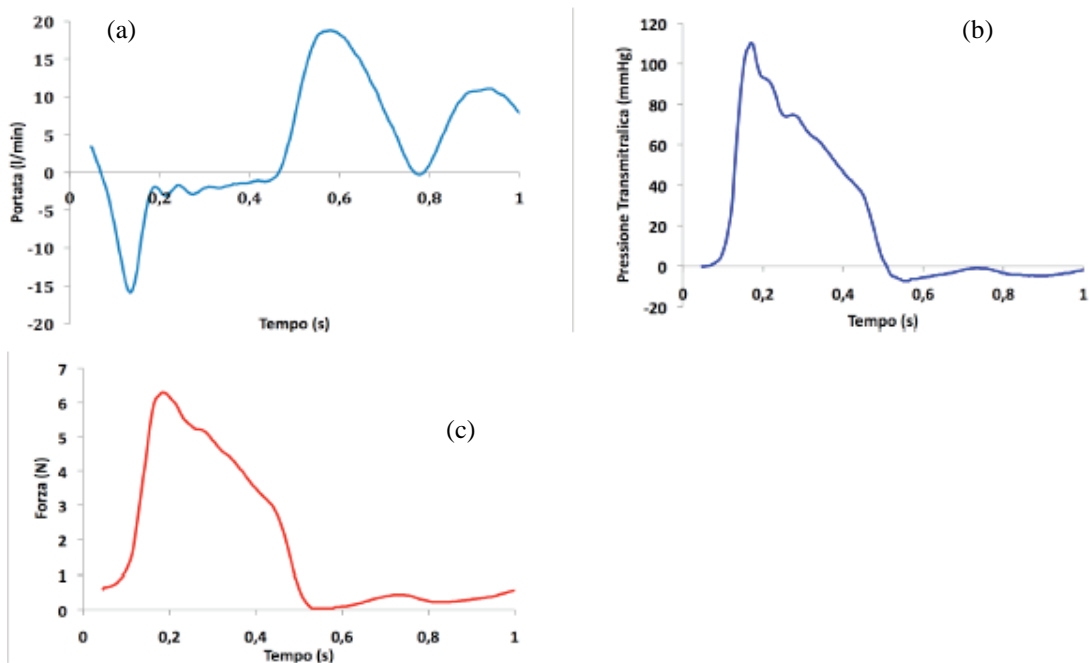


Figura 2.28 Andamenti nel tempo (a) della portata trans mitralica, (b) della pressione trans mitralica, (c) della forza del muscolo papillare (Pavesi A., 2007).

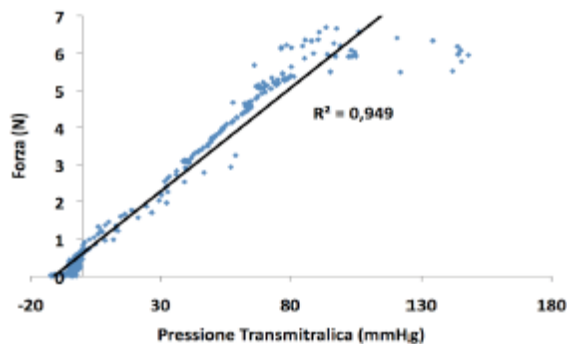


Figura 2.29 Grafico raffigurante il valore di forza rilevata dagli estensimetri in funzione del valore di pressione transmitrale per la posizione fisiologica (Pavesi A., 2007).

2.2.3 Criticità del banco prova

Il banco prova descritto presenta alcune criticità relative al sistema di posizionamento dei muscoli papillari, all'isolamento delle celle di carico e alle modalità di debollamento della camera atriale.

La prima problematica riguarda il fluido di lavoro del circuito di comando dei minicilindri: l'olio minerale deteriora le guarnizioni dei pistoni e a lungo termine ne causa l'indurimento che porta a una perdita di elasticità e quindi di efficienza.

I sistemi di afferraggio dei papillari sono fissati ai minicilindri interni che permettono la movimentazione in direzione anteroposteriore. La piastrina in lega di alluminio su cui è vincolato il cilindro non è però sufficiente a mantenere fisso il pistone durante l'applicazione ciclica di forze da parte dei muscoli papillari quando il sistema è in esercizio. In fase di sistole infatti, quando la valvola si chiude e la forza sui papillari raggiunge i valori di picco, è presente un gioco in direzione apicale dei minicilindri: questo spostamento fa sì che la posizione dei papillari non rimanga fissa durante tutto il ciclo cardiaco ma la distanza dalla punta del papillare al piano annulare diminuisca durante la sistole. In presenza di gioco meccanico le dislocazioni apicali cui vengono sottoposti i muscoli papillari da parte dell'operatore risultano quindi non correttamente determinate.

Un ulteriore problema consiste nell'inefficienza del processo di debollamento della camera atriale. Prima di ogni acquisizione durante un test sperimentale è necessario eliminare

eventuali bolle d'aria presenti nel banco prova per evitare oscillazioni indesiderate nei segnali da rilevare. La procedura di debollamento della camera atriale si presenta difficoltosa a causa dell'assenza di una via di fuga per le bolle che rimangono intrappolate. Un'altra criticità riguarda il sistema di isolamento della cella di carico dall'ambiente acquoso esterno: il rischio di danneggiare le celle risulta elevato dal momento che la cella è isolata solamente da una camicia in silicone e tutto il cavo di trasmissione del segnale di forza al sistema di amplificazione è immerso nel volume ventricolare.

Capitolo III

Ottimizzazione del banco prova e set-up sperimentale

In questo capitolo si illustrano le modifiche apportate al banco prova realizzato nel laboratorio μ BS del Dipartimento di Bioingegneria del Politecnico di Milano. A partire dalle criticità del banco prova, già illustrate nel capitolo precedente, si evidenziano le soluzioni ideate per superare tali limitazioni. In alcuni casi è necessario approfondire alcuni aspetti che la modifica comporta e verificare che siano sempre rispettate le specifiche di progetto del banco prova.

3.1 Criticità del banco prova e soluzioni adottate

Il banco prova utilizzato per la campagna sperimentale di questo studio è quello realizzato nel laboratorio μ BS del Dipartimento di Bioingegneria del Politecnico di Milano (Pavesi A., 2007) descritto nel capitolo precedente.

I punti critici di questo banco sono riassunti di seguito:

- perdita di efficienza del movimento dei pistoni a causa dell'utilizzo di olio minerale come fluido di attuazione,
- presenza di gioco meccanico in direzione apicale dei minicilindri interni durante il funzionamento del banco,
- elevato rischio di danneggiamento della cella di carico a causa del suo utilizzo in ambiente acquoso,

- difficoltà nell'effettuare il debollamento della camera atriale.

Nei prossimi paragrafi si illustreranno le modifiche apportate per cercare di risolvere le problematiche elencate.

3.1.1 Sostituzione del fluido di lavoro e delle linee idrauliche

Il sistema di posizionamento dei muscoli papillari, come già detto nel capitolo 2, è costituito da una vite di Archimede che consente la movimentazione in direzione apicale e da quattro coppie di minicilindri pneumatici a doppio effetto che permettono lo spostamento nelle direzioni laterale e antero-posteriore.

L'utilizzo di olio minerale come fluido di lavoro nel circuito di comando dei minicilindri crea delle difficoltà in quanto deteriora le guarnizioni dei pistoni rendendo la loro movimentazione difficile. Poiché la movimentazione di pistoni è fondamentale per il funzionamento del banco prova in quanto consente di dislocare i muscoli papillari, è stato necessario cambiare il fluido di lavoro.

I risultati migliori dal punto di vista dell'interazione con le guarnizioni si sono ottenuti con acqua distillata. Questo ha però causato la formazione di bolle d'aria all'interno del fluido per la presenza di gas disciolti. La presenza di aria nel circuito idraulico di comando dei pistoni è indesiderata poiché trattandosi di un fluido incompressibile potrebbe causare l'assenza di corrispondenza tra lo spostamento dei pistoni interni e quelli esterni. È stato quindi necessario effettuare un processo di debollamento prima di ogni test sperimentale.

Al fine di facilitare questa procedura in primo luogo si è agito variando il materiale e il diametro dei tubi del circuito di comando dei minicilindri.

Il materiale costituente le linee idrauliche dovrebbe essere il meno possibile permeabile all'aria pertanto sono stati scartati materiali di comune utilizzo quali le gomme siliconiche a causa della loro eccessiva permeabilità ai gas. Inoltre i tubi devono essere il meno complianti possibile, in modo da non influenzare la corrispondenza tra gli spostamenti dei pistoni interni ed esterni, il che implica che siano fatti di un materiale sufficientemente rigido e caratterizzati da un diametro sufficientemente piccolo. Utilizzare tubi con un diametro interno molto piccolo significherebbe però avere un'elevata resistenza a valle del

minicilindro e di conseguenza avere nella fase di depressione un'espansione eccessiva delle bolle d'aria presenti. È stato trovato un compromesso tra tutti questi fattori utilizzando tubi in PVC per cateteri di diametro interno 8Fr (2.7mm) che hanno l'ulteriore vantaggio di calzare correttamente sui connettori metallici a livello dei minicilindri, evitando ulteriori connessioni con tubi di diametro diverso che complicano ulteriormente la fase di debollamento (Figura 3.1).

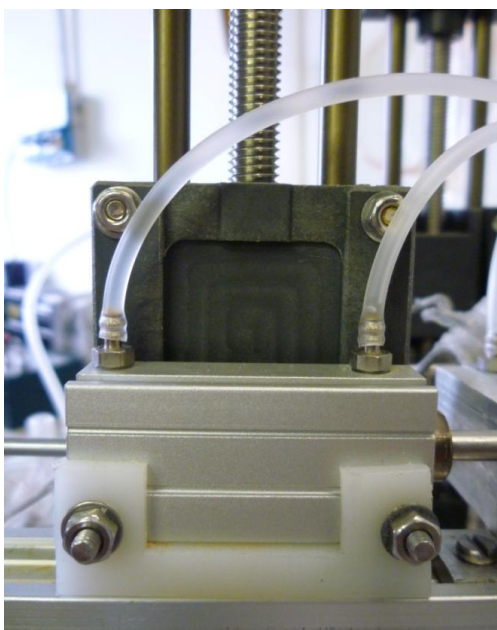


Figura 3.1 Linee idrauliche di comando dei minicilindri calzati direttamente sui connettori metallici evitando ulteriori connessioni.

Sono stati inoltre aggiunti alcuni elementi per lo spurgo delle bolle: sono stati utilizzati connettori a forma di “Y” (Figura 3.2) , posizionati con un'uscita verso l'alto dove porre la riserva utile al debollamento e le altre due uscite verso il basso, una connessa alla parte di circuito interna e una a quella esterna.



Figura 3.2 Connettori a forma di “Y” utilizzati per lo spurgo delle bolle.

La lunghezza delle linee idrauliche del circuito esterno è stata valutata a partire dal volume di riempimento dei minicilindri, in modo tale che tutto il volume di fluido circolante potesse raggiungere il punto di spurgo per poter essere debollato (lunghezza massima dei tubi esterni = 15cm). Non è stato possibile applicare lo stesso criterio per la lunghezza dei tubi del circuito interno poiché essa è vincolata dall'utilizzare agevolmente il banco prova (lunghezza massima dei tubi interni = 50cm).

Per facilitare ulteriormente il processo di debollamento, i connettori in alluminio che interfacciavano le linee idrauliche nella parete ventricolare sono stati rimossi e sono stati utilizzati tubi passanti, garantendo la tenuta tra interno e esterno per mezzo di silicone (Figura 3.3).

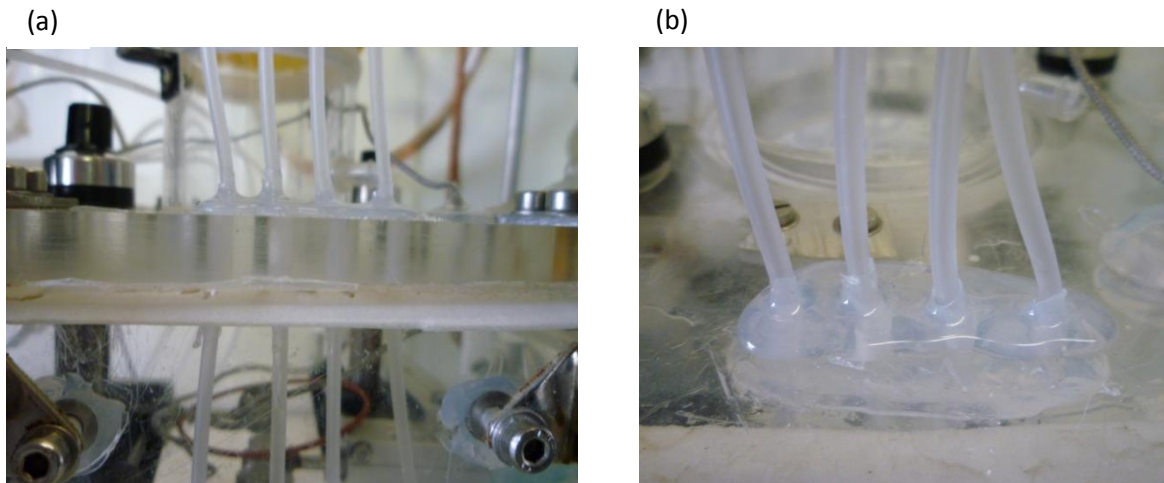


Figura 3.3 Interfaccia delle linee idrauliche di comando dei minicilindri sul coperchio del volume ventricolare: si utilizzano tubi passanti (a) e si garantisce la tenuta per mezzo di silicone (b).

3.1.2 Eliminazione del gioco meccanico

Un'altra modifica al sistema di posizionamento è stata apportata al fine di limitare il gioco in direzione apicale cui sono soggetti i minicilindri interni durante l'applicazione ciclica di forze da parte dei muscoli papillari quando il sistema è in esercizio. Infatti, in presenza di gioco meccanico le dislocazioni apicali cui vengono sottoposti i muscoli papillari da parte dell'operatore risultano non correttamente determinate.

Il meccanismo per diminuire il gioco in direzione apicale (Figura 3.4) è costituito da: due staffe in ABS (Acrilonitrile-Butadiene-Stirene), realizzate utilizzando una fresa a controllo numerico (Roland MDX40, Roland DG, Tokyo, Japan), fissati alla slitta del movimento apicale; un'asta in acciaio passante tra le due staffe e ancorata al pistone che permette lo spostamento in direzione anteroposteriore.

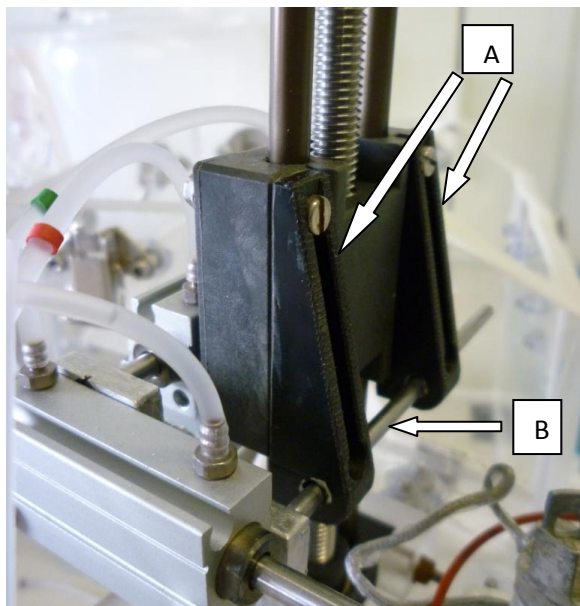


Figura 3.4 Meccanismo per diminuire il gioco in direzione apicale cui erano soggetti i minicilindri interni. Si notino le due staffe (A) fissate alla slitta del movimento apicale e l' asta metallica (B) passante nelle staffe e fissata al minicilindro che permette lo spostamento in direzione antero-posteriore.

3.1.3 Effetti delle modifiche al sistema di posizionamento dei papillari

È stato effettuato un test di affidabilità sul posizionamento attuato dai minicilindri al fine di valutare se le modifiche apportate per ridurre il gioco meccanico del sistema di posizionamento e la sostituzione delle linee idrauliche e del fluido di lavoro avessero influenzato la precisione degli spostamenti dei pistoni. Dopo aver collegato ogni pistone interno con il corrispettivo all'esterno attraverso le linee idrauliche precedentemente descritte, è stato estratto progressivamente lo stelo di ogni minicilindro esterno di intervalli di 5mm ed è stato misurato, in corrispondenza di ogni posizione, di quanto fosse rientrato lo stelo del pistone interno.

Con questa modalità di prova sono state testate tutte le coppie di cilindri, sempre partendo dalla configurazione in cui lo stelo del pistone esterno è completamente estratto (lunghezza

30mm) fino a che è completamente all'interno del corpo del cilindro, per poi riportarlo alla posizione di partenza.

È stato ottenuto quindi per tutte e quattro le coppie di minicilindri un grafico analogo al grafico in figura 3.5 che rappresenta le misurazioni eseguite su una coppia di minicilindri mediate su cinque prove (in blu è indicata la fase di inserimento dello stelo del minicilindro esterno e in rosso la fase di estrazione).

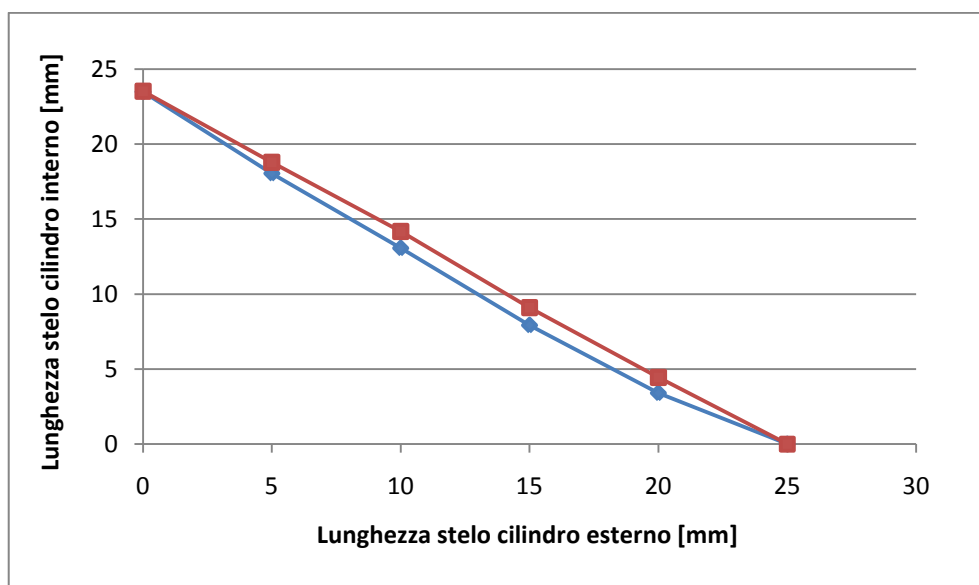


Figura 3.5 Test di affidabilità sul posizionamento attuato dai minicilindri: si è misurata la lunghezza dello stelo del cilindro interno in funzione dello spostamento controllato del minicilindro esterno.

Per tutte le coppie di minicilindri la differenza massima tra la variazione della lunghezza imposta allo stelo del minicilindro esterno e la variazione di lunghezza misurata su quello interno è stata inferiore al millimetro, in accordo con le specifiche di progetto del banco prova. (Pavesi A., 2007).

3.1.4 Isolamento cella di carico

Il sistema di afferraggio dei muscoli papillari, come già descritto nel capitolo 2, è costituito da due elementi che ne permettono l'alloggiamento; per poter rilevare la forza agente sul muscolo papillare, tra i due componenti viene alloggiata la cella di carico che lavora a compressione.

Le migliorie apportate a questo sistema hanno avuto lo scopo di ridurre i rischi di danneggiamento della cella di carico associati al suo utilizzo in ambiente acquoso.

La prima modifica è consistita nel minimizzare la lunghezza del cavo di trasmissione del segnale della cella all'interno del volume ventricolare. Questo si realizza eliminando i connettori a quattro poli presenti all'interfaccia della parete ventricolare e rendendo il cavo passante attraverso di essa; per garantire la tenuta idraulica in corrispondenza del foro realizzato, è stato depositato uno strato di colla siliconica da ambedue i lati della parete in plexiglass (Figura 3.6).

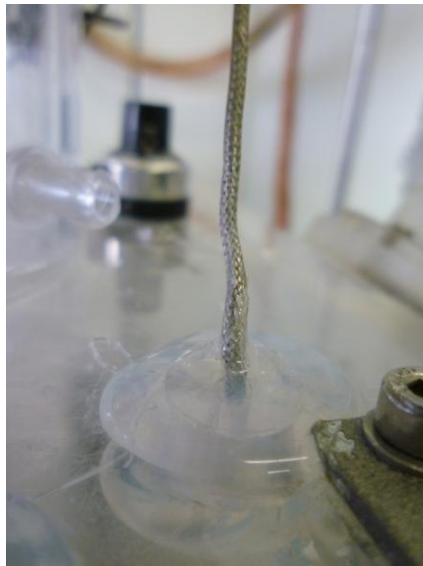


Figura 3.6 Interfaccia del cavo di trasmissione del segnale della cella di carico sul coperchio del volume ventricolare: il cavo è passante e la tenuta del banco è garantita per mezzo di silicone.

Avendo eliminato i connettori a quattro poli, è stato necessario sostituire anche le interfacce della centralina contenente i sistemi di amplificazione delle celle: per l'ingresso delle celle di carico sono stati utilizzati dei connettori commerciali miniaturizzati per cavi quattro poli LEMO con contatti dorati, mentre per la trasmissione del segnale dalla centralina al sistema di acquisizione sono stati utilizzati dei cavi BNC-BNC (Figura 3.7).

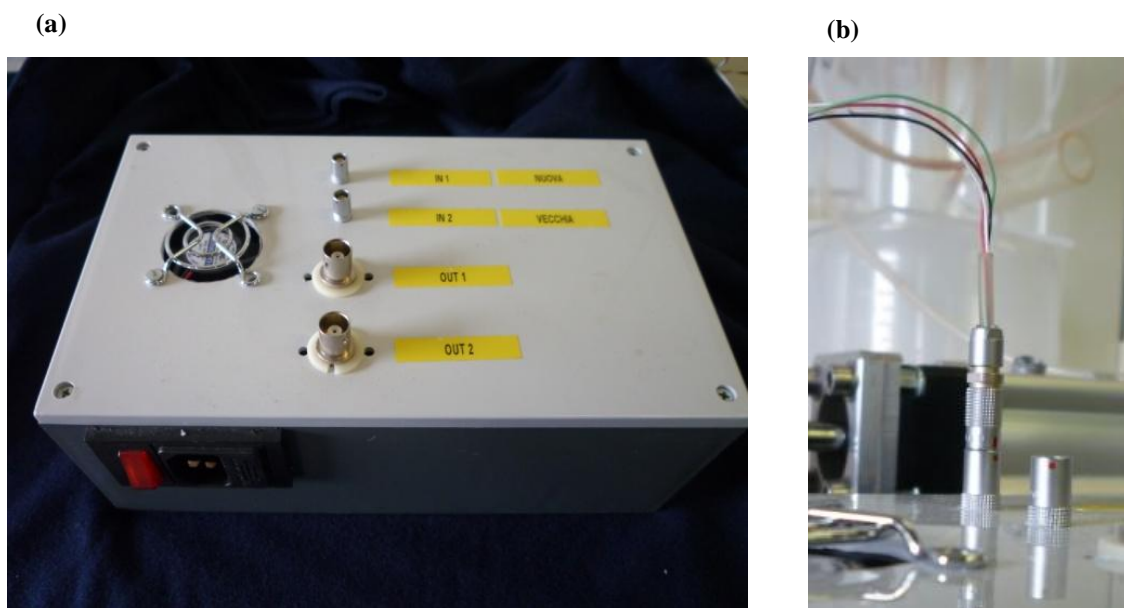


Figura 3.7 (a) Centralina contenente il sistema di amplificazione del segnale proveniente dalle celle e alimentazione per le stesse: sul coperchio si possono osservare i due connettori LEMO femmina miniaturizzati per ricevere il segnale dalle celle di carico e i due connettori BNC per inviare il segnale amplificato alla scheda di acquisizione. (b) Connettore miniaturizzato per cavi quattro poli LEMO.

Tale modifica ha apportato anche l'ulteriore vantaggio di migliorare la visibilità all'interno del banco prova.

La seconda miglioria è consistita in un'ulteriore impermeabilizzazione della cella di carico mediante la tecnica del *dipping*: la cella e la porzione del cavo di trasmissione che si trova

nella cassa ventricolare sono state immerse in silicone bicomponente Sylgard[®]184 (Dow Corning Corporation, Midland, MI, USA) e quindi messe in stufa a 70°C per 120 minuti. Le specifiche tecniche di questo silicone (Appendice A) mostrano una scala di essiccazione che comprende temperature molto più elevate dei 70°C imposti, ma le specifiche tecniche della cella di carico (Appendice B) vincolano il suo utilizzo a una temperatura massima di 120°C: per mantenere un margine di sicurezza adeguato si è operato alla temperatura di 70°C.

Sempre con la tecnica del *dipping* sono stati realizzati due nuovi rivestimenti in silicone *ad hoc*, uno per ogni cella, con la funzione sia di impermeabilizzazione della cella sia di tenuta meccanica tra i due elementi costituenti l'afferraggio. Per l'ottenimento dei rivestimenti della cella è stato utilizzato uno stampo *ad hoc* in POM (Poliossimetilene) già realizzato a questo scopo nel lavoro di tesi dell'Ing. Pavesi. Dapprima è stato utilizzato anche per questo componente il silicone Sylgard[®]184 ma il rivestimento ottenuto è risultato essere troppo poco elastico per essere calzato sul sistema cella-afferraggio senza rompersi. Si è optato quindi per il silicone NuSil (NuSil Silicone Technology, Carpinteria, CA) le cui specifiche sono riportate in Appendice C; sono stati necessari sette passaggi di *dipping* per ottenere uno spessore adeguato a garantire tenuta idraulica e stabilità meccanica.

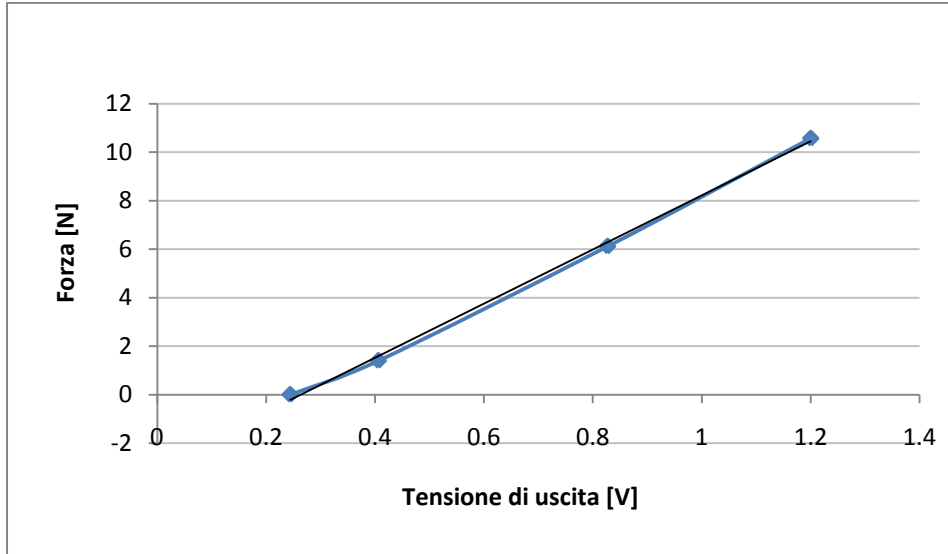
La camicia così realizzata è stata poi calzata sui due componenti del sistema di afferraggio; per poter inserire la cella tra i due pezzi è stata praticata una fessura che è stata poi richiusa con M-Coat C Air-Drying Silicone Rubber (Vishay Intertechnology, Malvern, PA, USA) (Appendice D), che è stato utilizzato anche per rifinire i margini della camicia (Figura 3.8). Un controllo tramite microscopio è stato eseguito al fine di controllare se sia l'afferraggio che il cavo di trasmissione della cella fossero ricoperti uniformemente da silicone.



Figura 3.8 Sistema di afferraggio di un muscolo papillare con all'interno la cella di carico: sul sistema d'afferraggio è stata calzata una camicia in silicone per isolare la cella dall'ambiente acquoso esterno e per lo stesso motivo il cavo di trasmissione del segnale è stato ricoperto di silicone.

In seguito alle modifiche apportate al sistema cella-afferraggio è stato necessario ricalibrare le celle per valutare l'effetto degli strati di silicone sulla misurazione della forza. Dalla letteratura (Jensen *et al.*, 2001) si evince come la massima forza esercitata dai muscoli papillari sia dell'ordine di una decina di N, valore che rientra nell'intervallo di lavoro della cella (*Full Scale Range*: 10libbre pari a 44,5N). Sono state quindi costruite le nuove curve di calibrazione delle celle imponendo diversi carichi noti (0Kg, 0.143Kg, 0.624Kg, 1.078Kg per la prima cella; 0Kg, 0.183Kg, 0.637Kg, 1.118Kg per la seconda cella) e misurando la tensione in uscita. Le curve risultanti sono state poi linearizzate e sono rappresentate in figura 3.9.

(a)



(b)

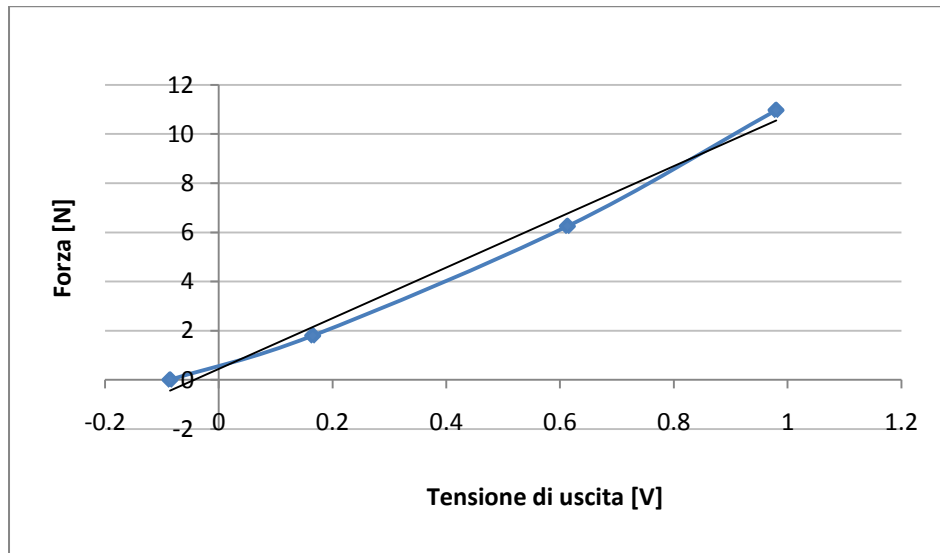


Figura 3.9 (a) e (b) Curve di calibrazione delle celle di carico per valutare l'effetto degli strati di silicone sulla misura della forza.

Le rette ottenute sono le rette di taratura delle celle di carico e di queste si è tenuto conto nel software di acquisizione.

3.1.5 Camera atriale

Il debollamento della camera atriale è fondamentale per la rilevazione del segnale di portata transimitralica in quanto la presenza di aria crea delle oscillazioni del segnale. Tuttavia la procedura di debollamento della camera atriale si presentava difficoltosa a causa dell'assenza di una via di fuga per le bolle che vi rimanevano intrappolate.

Per risolvere questo inconveniente è stata aggiunta una nuova via di spurgo costituita da un foro nella parete dal quale fosse possibile aspirare le bolle d'aria presenti.

Inoltre, al fine di smorzare le oscillazioni nel segnale di portata è stata aggiunta una resistenza nel circuito posizionando uno strato di materiale poroso in corrispondenza della sezione d'ingresso della camera atriale ed è stata ridotta al minimo l'inertanza accorciando il più possibile i tubi di connessione presenti.

3.2 Circuito idraulico

L'apparato sperimentale, rappresentato in figura 3.10, consiste in un circuito idraulico composto da un sistema pompante connesso alla camera ventricolare, a valle della quale si posizionano un simulatore di impedenza sistemica e un *reservoir* che riversa direttamente nella camera atriale.

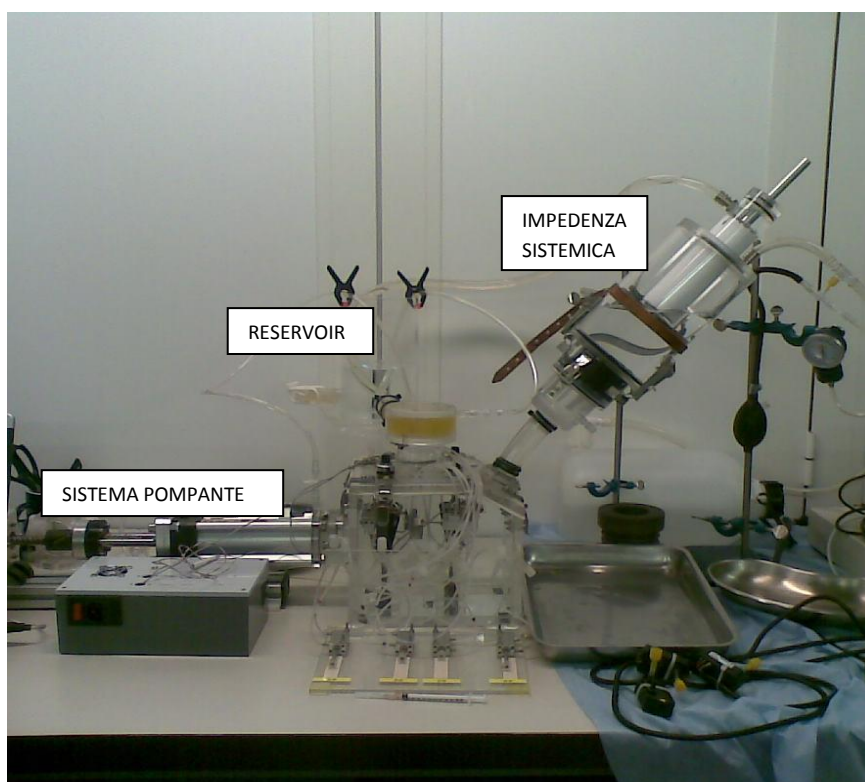


Figura 3.10 Immagine del *set-up* sperimentale per il banco prova. Sono indicati i componenti principali del circuito idraulico.

Il sistema pompante (Vismara R., 2007) è costituito da un sistema cilindro-pistone movimentato da un servomotore *brushless*, programmato per fornire forme d'onda di velocità che simulano la pulsatilità cardiaca fisiologica. È un sistema volumetrico che presenta la possibilità di essere comandato in portata producendo una curva che rispecchi l'andamento fisiologico. L'azionamento del servomotore è controllato da un PC attraverso un *software* dedicato (GDC, Global Drive Control) che permette di impostare i parametri per ottenere la movimentazione desiderata.

Nella sede della valvola aortica si inserisce una valvola meccanica *bileaflet* e a valle di questa il banco prova è connesso a un simulatore di impedenza sistemica a tre parametri (RCR) (Vismara *et al.*) che è poi connesso a un tubo che riversa nel *reservoir*.

Sia il porta-valvola aortico che l'ingresso atriale presentano raccordi per tubi da 1" per interfacciarsi correttamente alle sonde del flussimetro (vedi paragrafo 3.3).

3.3 Strumentazioni di misura

Le grandezze d'interesse rilevate sono gli andamenti delle forze agenti sui muscoli papillari, gli andamenti delle pressioni atriale, ventricolare e aortica, e l'andamento della portata transmitralica.

Le forze vengono rilevate dalle celle di carico poste all'interno del sistema di afferraggio del muscolo papillare, collegate al sistema di amplificazione e quindi ad una scheda di acquisizione A/D (NI DAQCARD 6036E, National Instruments, Austin, TX) gestita da PC attraverso un *software* di acquisizione sviluppato in ambiente *Labview* (LabView 7.1, National Instruments, Austin, TX).

Per quanto riguarda gli andamenti delle pressioni, essi vengono rilevati a monte della valvola mitrale nel tratto atriale con l'ausilio di un sensore di pressione differenziale 143PC05D di *Honeywell*, all'interno della camera ventricolare (143PC05D di *Honeywell*) e a valle della valvola aortica (143PC05D di *Honeywell*) all'ingresso dell'impedenza sistemica. Il posizionamento delle sonde di pressione è permesso grazie alla presenza sul banco prova di connessioni *luer lock*.

L'andamento della portata transmitralica viene rilevata da un flussimetro *Transonic system* HT110 (Ithaca, NY, USA) posto a monte del componente atriale, in prossimità del *reservoir*, con sonda di portata per tubi in PVC da 1".

I siti in cui le grandezze d'interesse vengono rilevate sono indicati in figura 3.11.

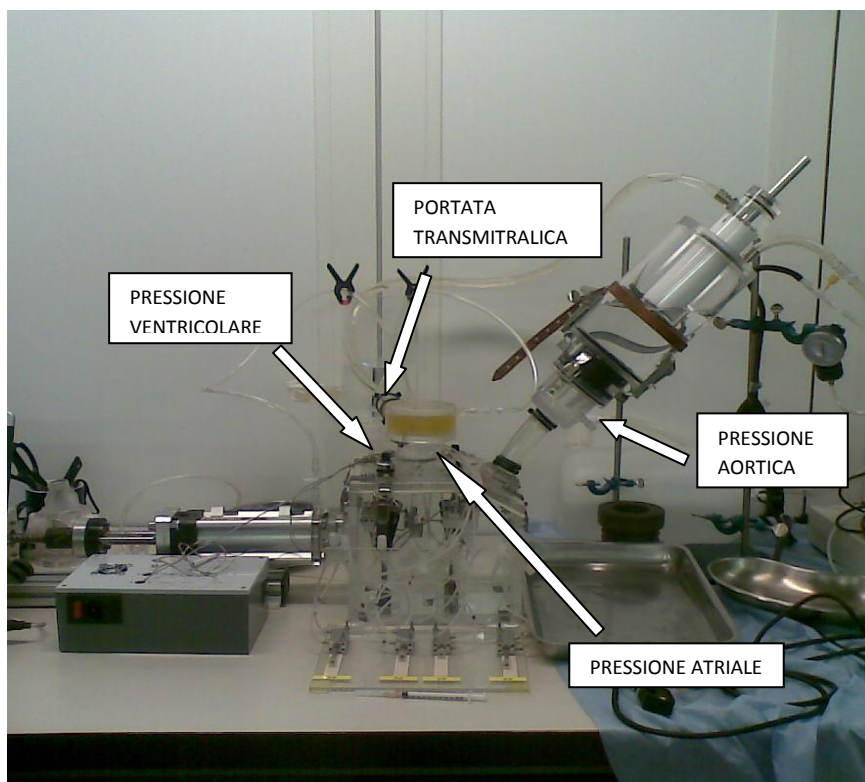


Figura 3.11 Immagine del *set-up* sperimentale per il banco prova. Con le frecce sono indicati i punti in cui vengono rilevati i dati di pressione e di portata.

3.4 Collaudo del banco prova in assenza di impedenza sistemica

La prova di collaudo del banco prova è stata effettuata in condizioni dinamiche, accoppiando il banco prova al sistema pompante pulsatile e collegando sia l'uscita aortica che l'ingresso all'atrio a un *reservoir* (Figura 3.12).

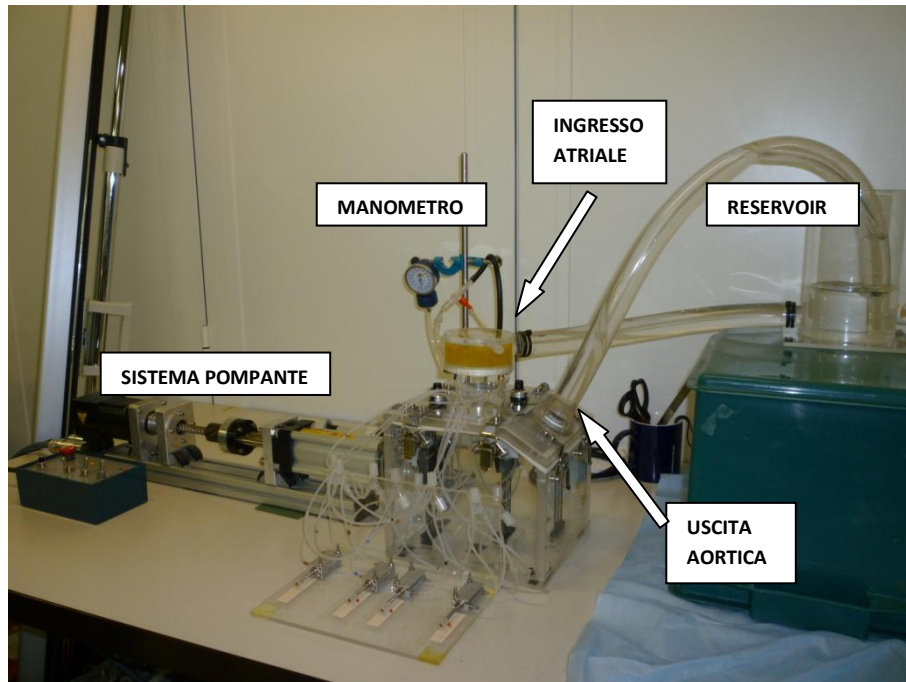


Figura 3.12 Banco prova in configurazione di collaudo. L'uscita aortica e l'ingresso all'atrio sono entrambi collegati al *reservoir*. Sono indicati anche il sistema pompante e il manometro utile a una misurazione qualitativa della pressione ventricolare.

In sostituzione della valvola mitrale è stata utilizzata in via preliminare una valvola formata da una membrana in silicone, realizzata all'uopo.

La prova viene eseguita ad un regime di 20 battiti per minuto così da garantire pressioni arteriose basse (*range*: 20-40mmHg) e quindi condizioni di sicurezza. Si valuta in modo qualitativo la pressione ventricolare utilizzando un manometro.

In queste condizioni sono state verificate le tenute delle connessioni idrauliche per ispezione visiva e si sono valutate e ottimizzate le procedure di riempimento e svuotamento del banco prova.

Capitolo IV

Protocollo di prova

Nel capitolo seguente si illustra il protocollo di prova operativo, comprendente la preparazione del campione biologico, il montaggio del set-up sperimentale e i metodi utilizzati nell'elaborazione e nell'analisi dei dati. In seguito si riportano i protocolli di prova sviluppati al fine di raggiungere gli obiettivi del lavoro di tesi.

4.1 Preparazione e montaggio del campione biologico

Le valvole utilizzate nella campagna sperimentale sono estratte da cuori di maiale preservando tutte le strutture sottovalvolari. I cuori possono essere freschi, macellati cioè entro le 24 ore precedenti gli esperimenti, oppure congelati entro 24 ore dalla macellazione. Nel primo caso devono essere conservati integri ad una temperatura inferiore ai 5°C, nel secondo caso ad una temperatura inferiore ai -18°C.

I cuori, una volta riportati a temperatura ambiente, sono immersi in soluzione fisiologica sodio-cloruro 0.9% e ripuliti del sangue ancora presente al loro interno prima di espianare la valvola.

Per ancorare la valvola al banco prova attraverso la chiusura a baionetta è necessaria una membrana di supporto che da un lato fornisca un sostegno per la valvola e dall'altro si possa fissare al banco prova: a questo scopo si utilizza un foglietto in Dacron di dimensioni 80mm per 80mm ricoperto su una delle due facce da uno strato siliconico che garantisce l'impermeabilità e la tenuta idraulica. In alcuni test sperimentali in alternativa al foglio

siliconico si è utilizzato un tessuto di PP rivestito da uno strato di PVC.

Sul patch viene effettuato un foro a forma di “D” attorno al quale viene cucita la valvola: per congiungere l’annulus mitralico e il foglio siliconico viene creata un’anastomosi utilizzando una sutura passante 2-0 Ethilbond (Ethicon UK, Livingston, UK) (Figura 4.1). In fase di sutura si cerca di evitare qualunque distorsione dell’annulus, che potrebbe comportare un’alterazione della fluidodinamica valvolare.

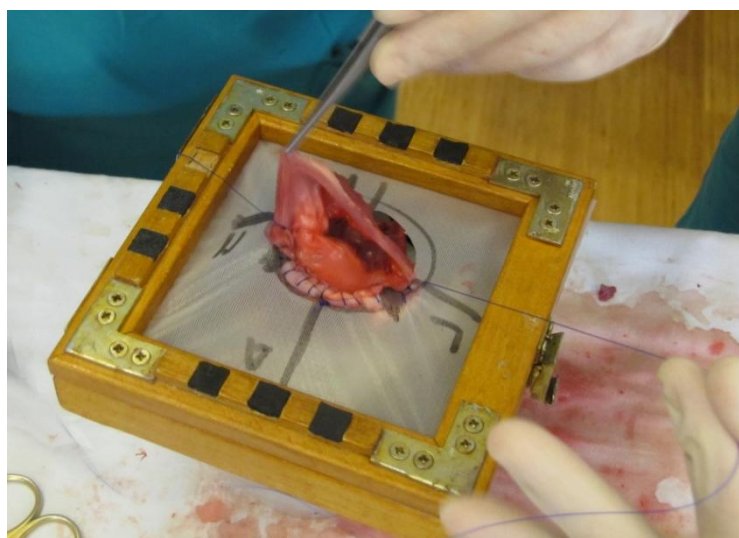


Figura 4.1 Fase di sutura della valvola mitrale al patch di supporto.

Il patch viene inserito all’interno del banco prova mantenendo lo strato ricoperto da silicone nella direzione della camera ventricolare, in modo da garantire la tenuta idraulica (nel caso si utilizzi il tessuto di PP entrambi gli strati possono essere rivolti verso la camera ventricolare poiché entrambi sono impermeabili).

In corrispondenza dell’annulus della valvola mitralica viene poi suturato con filo di sutura Ti-Cron 2-0 (Tyco Healthcare, Mansfield, MA) l’anello per annuloplastica Cardinal di Valtech Cardio (Figura 4.2) (Appendice E).

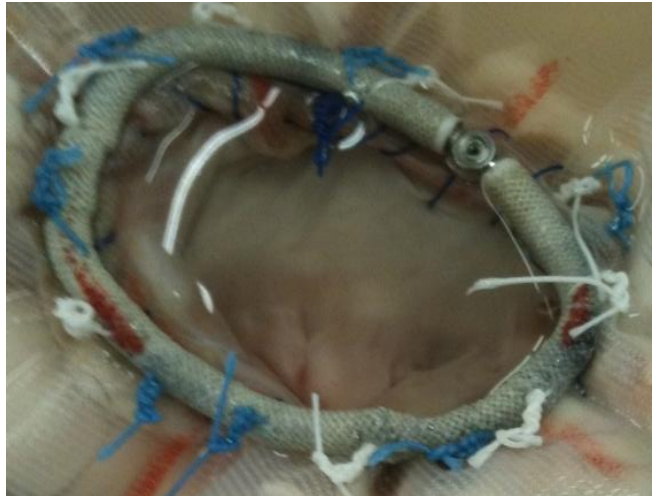


Figura 4.2 Valvola mitrale cucita al patch a cui si è poi applicato l'anello Cardinal di Valtech Cardio.

La connessione tra il campione mitralico e il foglio di ancoraggio non risulta però essere completamente impermeabile per cui si potrebbero verificare infiltrazioni del fluido di lavoro attraverso le aperture di tale connessione che si trovano in corrispondenza dei punti di sutura. Per evitare un eventuale passaggio di fluido attraverso i fori dei punti di sutura durante i test, l'anastomosi è impermeabilizzata con della resina epossidica bicomponente a presa rapida UHU plus (UHU Bison S.p.A.). Questo collante viene applicato in prossimità dell'interfaccia e viene lasciato riposare per un tempo minimo di 10 minuti.

I muscoli papillari sgrassati eliminando il tessuto in eccesso, prestando attenzione a non danneggiare le corde tendinee, così da poter essere alloggiati nei rispettivi sistemi di afferraggio. Inoltre vengono fissati in formaldeide per quindici minuti per renderli resistenti alle lacerazioni potenzialmente indotte dalle suture con cui sono vincolati agli afferraggi.

La valvola mitrale viene posizionata nel banco prova rivolgendo la parte anteriore dell'annulus verso la valvola meccanica situata in posizione aortica e il patch di supporto viene fissato nella chiusura a baionetta descritta nel capitolo 2 (Figura 4.3).

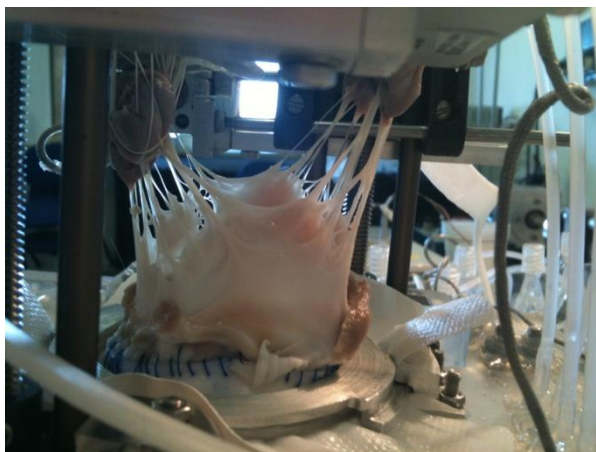


Figura 4.3 Valvola mitrale cucita al patch montata sul banco prova attraverso la chiusura a baionetta.

I muscoli papillari vengono quindi ancorati al sistema di afferraggio utilizzando fili da sutura Ti-Cron 2-0 (Tyco Healthcare, Mansfield, MA) in modo da riprodurre una configurazione il più simile a quella fisiologica (Figura 4.4).



Figura 4.4 Muscolo papillare ancorato al sistema di afferraggio tramite fili di sutura.

4.2 Preparazione del banco prova e protocolli operativi

Dopo aver montato la valvola nel banco prova si procede con il posizionamento della valvola nella configurazione di partenza, procedimento che verrà discusso nel paragrafo seguente, e successivamente si prosegue con il montaggio del *set-up* sperimentale descritto nel capitolo 3: si connette il blocco atrio-ventricolare con il sistema pulsatile, con l'impedenza sistemica e con il *reservoir*. Si riempie quindi il circuito con acqua distillata e si verifica che non ci siano perdite.

Dopo aver debollato la cassa ventricolare attraverso il *luer lock* utile alla misurazione della pressione ventricolare si posizionano i tre trasduttori di pressione, precedentemente calibrati per punti, si posiziona il flussimetro e si connettono le celle di carico alla centralina di amplificazione.

In seguito si aziona il sistema pompante impostando basse frequenze, tipicamente 30bpm, si debolla il sistema pulsatile attraverso un apposito rubinetto e si aumenta gradualmente la frequenza fino a raggiungere quella desiderata; prima di procedere con un'acquisizione dei dati è sempre necessario debollare l'atrio come descritto nel capitolo 3.

Tutte le prove sperimentali sono state condotte imponendo al sistema pompante uno stroke volume di 66 ml e una frequenza di 75 bpm (cardiac output di 5l/min). Sono stati acquisiti ed elaborati i dati relativi alla portata transmitralica, le forze relative ai muscoli papillari e le pressioni atriale, ventricolare e aortica per quattro cicli cardiaci consecutivi.

Per acquisire i dati relativi alle pressioni, alla portata e alle forze si collegano i tre trasduttori di pressione, il flussimetro e le celle di carico a un PC equipaggiato con scheda di acquisizione A/D (NI DAQCARD 6036E, National Instruments, Austin, TX) dalla quale i segnali vengono acquisiti e registrati da un software dedicato sviluppato in ambiente LabView (LabView 7.1, National Instruments, Austin, TX). Per organizzare, analizzare, rappresentare e memorizzare i dati e per ottenere gli andamenti mediati di ogni variabile acquisita si utilizza Microsoft Excel (Microsoft Corp., Santa Rosa, CA). La curva di calibrazione dei trasduttori di pressione e delle celle di carico viene impostata nel software di acquisizione, quindi i valori acquisiti sono già quelli nelle unità di misura desiderate.

Nell'analisi dei dati si è assunta come fase diastolica l'intervallo di tempo in cui la portata transmitralica assume valori positivi; le sistole è definita come l'intervallo di tempo in cui la portata transmitralica è negativa, corrispondente alla fase di eiezione ventricolare del ciclo cardiaco.

Il volume di rigurgito mitralico è calcolato come rappresentato a titolo d'esempio in Figura 4.5 (area in giallo): si calcola la portata media sistolica sull'intervallo da t_r a t_d , escludendo il picco di rigurgito (R_d), quindi utilizzando questo valore si calcola l'integrale della portata transmitralica negativa, esteso all'intero intervallo di sistole.

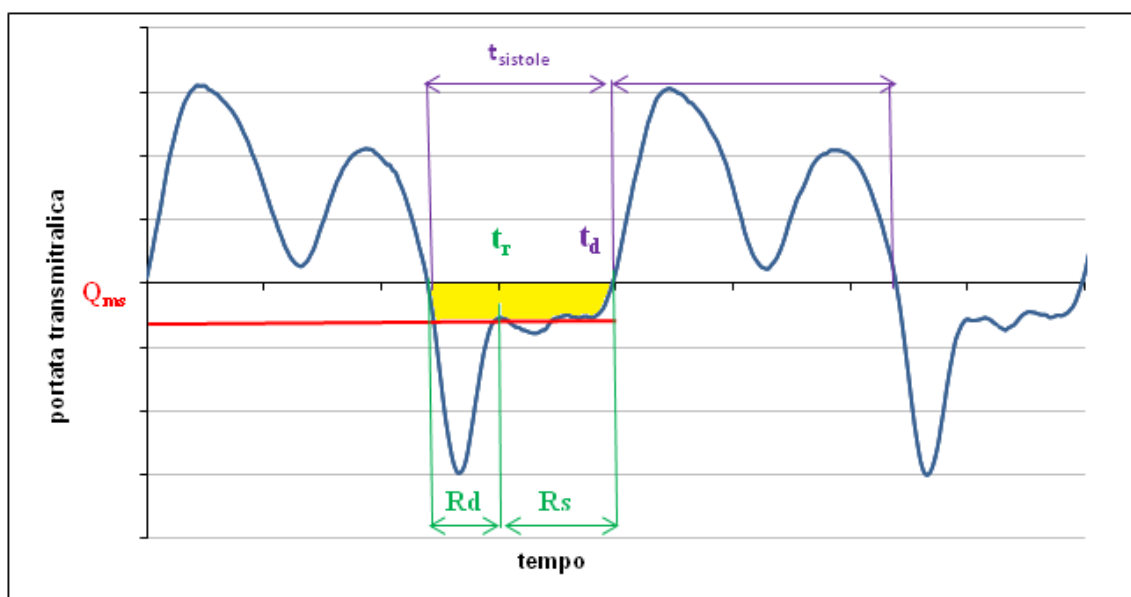


Figura 4.5 Andamento qualitativo della portata transmitralica nel tempo. L'area in giallo rappresenta il volume di rigurgito calcolato; t_r è l'istante di tempo in cui termina la fase di rigurgito dinamico; t_d è l'istante di tempo in cui si ha l'inversione di portata da negativa a positiva; Q_{ms} è la portata media sistolica ottenuta mediando la portata transmitralica sull'intervallo di tempo che va da t_r a t_d . In viola sono riportati gli intervalli di tempo relativi alla sistole e alla diastole come definiti in questo paragrafo; in verde R_d e R_s sono gli intervalli di tempo corrispondenti rispettivamente alla fase di rigurgito dinamico e alla fase di rigurgito statico.

Si è optato per questa modalità di calcolo poiché recenti studi *in vitro* (Vismara et al. 2010), effettuati sulla valvola aortica, hanno mostrato che le oscillazioni di portata che hanno luogo subito dopo la chiusura della valvola, sono un effetto transitorio la cui origine è da attribuirsi principalmente alle limitazioni di un set up sperimentale, *in vitro*, e in particolare

all'interazione tra l'inertanza dei condotti idraulici e la compliance dei foglietti valvolari. Non è pertanto immediato correlare il volume retrogrado misurato nella fase di rigurgito dinamico con una corretta continenza valvolare. Al contrario, la valutazione della continenza valvolare secondo una procedura che consideri il solo rigurgito statico è affetta da molte meno arbitrarietà: il volume di rigurgito può quindi essere calcolato a diastole già incominciata, a meno del picco di rigurgito. Si possono applicare queste considerazioni anche al caso in esame: il set-up sperimentale influenza la dinamica del sistema rallentando la fase di chiusura della valvola e quindi si registra un rigurgito dinamico R_d , non attribuibile, almeno non completamente, all'incompetenza della valvola; tuttavia come misura di sicurezza si decide di attribuire alla valvola una quota parte di questo volume di rigurgito calcolata come l'integrale della portata media sistolica sull'intero intervallo di tempo dall'inizio della sistole a t_r . Questa problematica sarebbe stata parzialmente risolta apportando qualche modifica al set-up sperimentale, in particolare eliminando l'inertanza causata dal tubo di connessione tra il reservoir e l'atrio. Questo avrebbe però significato non disporre di un sito per la rilevazione della portata transmitralica tramite il flussimetro: si è quindi scelto di mantenere invariato il set-up sperimentale e di tenere conto di questo aspetto in fase di elaborazione dei dati come detto sopra.

Le altre grandezze utilizzate sono la forza media diastolica, definita come la media della forza in fase di diastole, e la pressione transmitralica, definita come la differenza tra la pressione ventricolare e quella atriale.

Tutte le grandezze mediate sono mediate su quattro cicli cardiaci consecutivi. L'analisi statistica dei volumi di rigurgito e delle forze medie diastoliche è stata effettuata con Microsoft Excel mediante un t-test disaccoppiato a due code: valori di p inferiori a 0.05 sono stati considerati significativi ai fini del confronto delle medie.

4.3 Protocolli per il posizionamento dei muscoli papillari

Lo scopo di questo lavoro di tesi è quello di identificare un protocollo di prova affidabile e ripetibile al fine di svolgere campagne sperimentali su valvole mitrali porcine con il banco prova realizzato presso il laboratorio μ BS.

Gli obiettivi principali risultano quindi due:

- individuare un protocollo affidabile e ripetibile per posizionare la valvola in modo da riprodurre condizioni emodinamiche fisiologiche: questo costituirà un riferimento per eventuali studi volti ad analizzare le alterazioni a carico della valvola in condizioni patologiche e/o dopo una procedura di riparazione.
- definire un protocollo utile a indurre diversi gradi di insufficienza mitralica funzionale attraverso spostamenti dei muscoli papillari di diversa entità in modo controllabile: in questo modo si potranno effettuare studi al fine di indagare la meccanica di una valvola affetta da tale patologia e le relative tecniche chirurgiche riparative; la possibilità di regolare il grado di insufficienza indotta attraverso l'imposizione di diversi spostamenti dei papillari consentirà di indagare un'ampia varietà di casi.

4.3.1 Definizione di un protocollo per riprodurre la configurazione fisiologica dei muscoli papillari

Per posizionare la valvola in posizione fisiologica è stata inizialmente battuta la strada di riprodurre la procedura suggerita in letteratura eseguendo le operazioni descritte nel capitolo 2 (Jimenez et al., 2003). Le operazioni di posizionamento nelle direzioni laterale e antero-posteriore è sono risultate riproducibili mentre quelle di posizionamento in direzione apicale non sono risultate attuabili poiché una variazione di forza di 0.092N nel nostro set-up sperimentale è troppo ridotta per poter essere direttamente riconducibile al fatto di aver impostato la posizione cercata. Si è quindi resa necessaria l'identificazione di un protocollo alternativo.

Il nuovo protocollo prevede invece una fase preliminare di misura di alcune grandezze

morfometriche di rilievo durante il procedimento di sezionamento del cuore.

A cuore integro, dopo aver tolto solamente la camera atriale sinistra, vengono rilevate le seguenti misure con l'utilizzo di un calibro a corsoio (Figura 4.6):

- distanza commisuro-commissurale, che viene poi verificata utilizzando i *sizer* per anuloplastica,
- distanza tra l'annulus mitralico a livello dell'inserimento delle corde commissurali e la testa di ognuno dei muscoli papillari,
- distanza tra le teste dei muscoli papillari

La distanza commisuro-commissurale viene utilizzata per realizzare un foro a "D" nel patch in modo che la valvola venga suturata intorno ad un perimetro comparabile con il proprio. Il patch è costituito da un tessuto flessibile per cui alla valvola si sutura l'anello per anuloplastica Cardinal (Valtech Cardio Ltd, Or Yehuda, Israel) in modo da imporre all'annulus una forma più simile a quella fisiologica. Tra tutti gli anelli per anuloplastica disponibili si è scelto quello di Valtech perché, in previsione di campagne sperimentali future, presenta il vantaggio di essere regolabile, permettendo di ridimensionare l'annulus valvolare anche dopo l'impianto, senza dover interrompere quindi il test sperimentale.

Dopo aver montato il campione nel banco, si determina il posizionamento dei muscoli papillari utilizzando le misure rilevate precedentemente: i muscoli papillari vengono posizionati sopra le commissure e vengono spostati in direzione apicale fino a raggiungere la distanza tra testa del muscolo papillare e piano valvolare misurata prima dell'estrazione; si verifica inoltre che la distanza tra le due teste dei muscoli papillari sia quella misurata sulla valvola non ancora excisa. La posizione così ottenuta verrà da qui in avanti definita, per semplicità, "configurazione fisiologica".

Con questo protocollo si sono eseguiti test su quattro campioni valvolari.

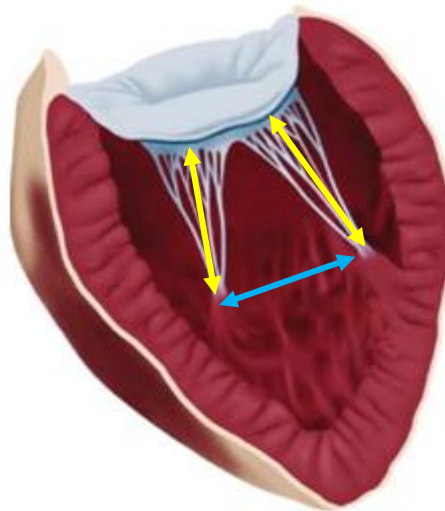


Figura 4.6 Misure rilevate a cuore integro: in giallo si evidenziano le distanze tra annulus mitralico e testa del muscolo papillare in corrispondenza delle corde commissurali (a sinistra per il muscolo papillare anterolaterale e a destra per il posteromediale); in blu la distanza tra le teste dei due muscoli.

4.3.2 Definizione di un protocollo per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari

Di seguito si riportano cronologicamente i tre protocolli formulati per riprodurre *in vitro* un'insufficienza mitralica funzionale. Ogni protocollo è il risultato degli aggiustamenti apportati per far fronte alle problematiche riscontrate nei protocolli precedenti.

4.3.2.1 Protocollo 1

Per riprodurre diversi gradi di insufficienza mitralica funzionale si segue il suggerimento dato dai cardiocirurghi dell'ospedale San Raffaele di Milano, con i quali si è collaborato nel corso del lavoro, per cui si impongono ai muscoli papillari spostamenti simmetrici di 3,6,9mm nelle direzioni apicale e laterale ,come mostrato in figura 4.7, rispetto alla configurazione fisiologica.

Quindi la valvola viene montata nel banco prova in configurazione fisiologica, come descritto nel paragrafo precedente, e a partire da questa i muscoli vengono spostati si 3,6,9

mm nelle direzioni sopra citate.

Con questo protocollo di prova sono state testate quattro valvole, le stesse utilizzate nel test descritto nel paragrafo 4.3.2.

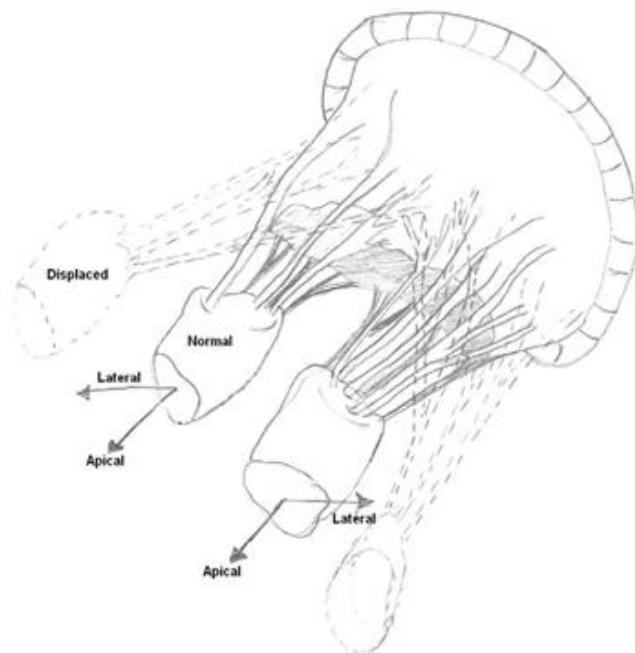


Figura 4.7 Schizzo della valvola raffigurante le direzioni degli spostamenti imposti ai muscoli papillari e (tratteggiata) la loro posizione dislocata.

4.3.2.2 Protocollo 2

Il protocollo 2 differisce dal protocollo 1 poiché nella fase di preparazione del campione si pratica sul patch un foro più grande di una taglia rispetto alle dimensioni della valvola.

Tale modifica al protocollo viene apportata poiché dopo l'estrazione della valvola l'*annulus* valvolare è libero di distendersi non essendo più contornato dal tessuto cardiaco che lo supportava, quindi suturare la valvola attorno ad un foro delle dimensioni pre-espanto equivale ad effettuare una sorta di annuloplastica che facilita la coaptazione dei lembi.

Per quanto riguarda il montaggio e il posizionamento della valvola in configurazione fisiologica, così come gli spostamenti imposti ai muscoli papillari, si segue il protocollo 1.

Con questo protocollo sono state sottoposte a test cinque valvole ma i risultati di una delle

prove sono stati scartati a causa della rottura dei punti di sutura tra la valvola e il patch in fase di test.

4.3.2.3 Protocollo 3

Questo protocollo differisce dal protocollo 2 per quanto riguarda la fase di induzione dell'insufficienza mitralica in quanto gli spostamenti di 3,6,9 mm non sono imposti partendo non dalla configurazione fisiologica, ma da una *configurazione limite* che si individua in corso d'opera come spiegato di seguito.

Si impostano nel banco prova le misure rilevate a cuore integro descritte precedentemente e, a partire dalla configurazione fisiologica, si spostano i muscoli papillari in modo simmetrico in direzione apicale e laterale di intervalli di 5mm fino a che un'analisi dei tracciati acquisiti fa supporre di aver raggiunto una configurazione in cui la valvola è gravemente insufficiente. In particolare si considerano indici rilevanti a tal fine il raggiungimento di un rigurgito statico importante nella portata transmitralica e di elevati i valori di forza in fase di diastole sono elevati. Si procede elaborando quantitativamente i dati relativi alle forze e calcolando i volumi di rigurgito dalle curve di portata acquisite. Analizzando questi dati si cerca la configurazione dei papillari a partire dalla quale ogni ulteriore spostamento in direzione apical-laterale ha provocato un aumento importante sia del valore del volume di rigurgito, sia del valor medio della forza in fase di diastole. Questa configurazione viene chiamata "configurazione limite" e rappresenta la posizione dei muscoli papillari in cui si ha la transizione da una condizione di continenza della valvola a una condizione di insufficienza, in relazione allo spostamento imposto ai papillari. Se dall'analisi dei dati si ritiene che tale configurazione non è ancora stata raggiunta, si muovono ulteriormente i muscoli papillari di intervalli di 5 mm nelle direzioni già citate. Una volta trovata la configurazione limite si procede spostando simmetricamente i papillari a partire da questa configurazione di 3, 6, 9mm in direzione laterale e apicale. Questo protocollo è stato utilizzato sperimentalmente con quattro valvole, ma i dati relativi a una valvola sono stati scartati perché non si è potuta acquisire la forza relativa a un muscolo papillare a causa di un malfunzionamento della cella di carico.

4.3.3 Una possibile applicazione: test sull'anello Cardinal di Valtech Cardio

Nella letteratura scientifica, le campagne sperimentali in vitro eseguite su valvole cardiache porcine sono finalizzate alla valutazione di tecniche chirurgiche e/o di nuovi dispositivi per la riparazione valvolare. Lo scopo di questo lavoro di tesi è quello di riuscire ad ottenere un protocollo di prova affidabile e ripetibile tale da permettere lo svolgimento di questi studi con il banco prova realizzato al μ BS per la valvola mitrale.

La scelta di testare le valvole con l'anello per annuloplastica Cardinal di Valtech suturato all'*annulus* è stata fatta per associare la ricerca di un protocollo ottimizzato ad una sua possibile applicazione.

In quest'ottica si è deciso di utilizzare il protocollo definito per caratterizzare la proprietà peculiare dell'anello Cardinal di consentire una variazione della taglia dell'anello anche dopo il suo impianto.

In particolare si è valutata l'influenza della riduzione di una e poi di due taglie dell'anello Cardinal sull'insufficienza valvolare in ognuna delle configurazioni testate.

Il protocollo utilizzato è il protocollo 3: per ogni valvola si trova la configurazione limite, a partire da questa si impongono gli spostamenti di 3,6,9 mm in direzione apical-laterale, si tracciano sul patch dei segni con un pennarello (Figura 4.8) in modo da avere dei punti di riferimento per la successiva fase di riposizionamento, dopodiché si smonta la valvola dal banco prova, si riduce l'anello di una taglia tramite l'apposita manopola di regolazione, e si monta nuovamente la valvola prestando attenzione a posizionarla nella stessa posizione di prima

Queste operazione viene ripetuta due volte per ogni valvola al fine di ottenere dati relativi a due riduzioni di taglia.

Il test sull'anello Cardinal è stato effettuato su tre valvole.

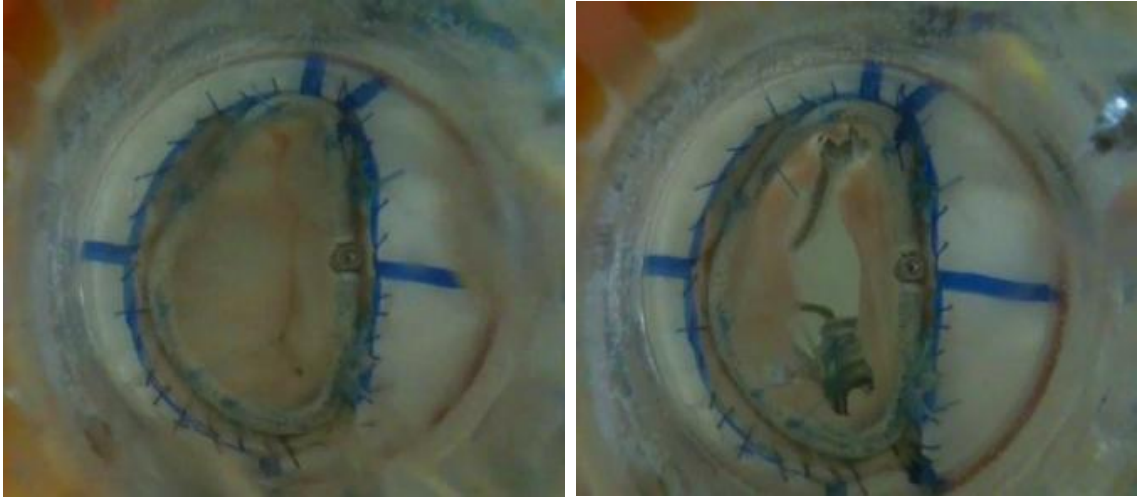


Figura 4.8 Test valvolare con anello Valtech: a sinistra la valvola in fase di sistole; a destra in fase di diastole. Si notino i riferimenti disegnati con un pennarello sul patch utili a un corretto riposizionamento della valvola dopo la riduzione di taglia.

Capitolo V

Risultati e discussione

I risultati di questo lavoro di tesi sono esposti in questo capitolo divisi in tre sezioni: nelle prime due si riportano i risultati ottenuti in relazione ai due obiettivi descritti nel capitolo precedente mentre la terza è riferita all'applicazione dell'anello Cardinal di Valtech.

In tutti i test effettuati la portata transmitralica, le pressioni atriale, ventricolare e aortica e le forze relative ai muscoli papillari sono state acquisite per quattro cicli cardiaci. Per questioni di chiarezza nelle figure si riportano gli andamenti relativi a due cicli cardiaci.

I dati morfometrici di tutte le valvole testate sono riportati in Appendice F.

5.1 Protocollo per riprodurre la configurazione fisiologica dei muscoli papillari

5.1.1 Andamenti delle variabili di interesse

Applicando il protocollo descritto nel precedente capitolo si è riusciti a identificare la posizione della valvola all'interno del banco prova in corrispondenza della quale la valvola si comporta come una valvola naturale in condizioni fisiologiche. A titolo esemplificativo si riportano di seguito gli andamenti delle variabili d'interesse (pressioni atriale, ventricolare e aortica, forze relative ai due muscoli papillari, pressione transmitralica) relativi al test effettuato sulla valvola 1 (Figure da 5.1 a 5.5).

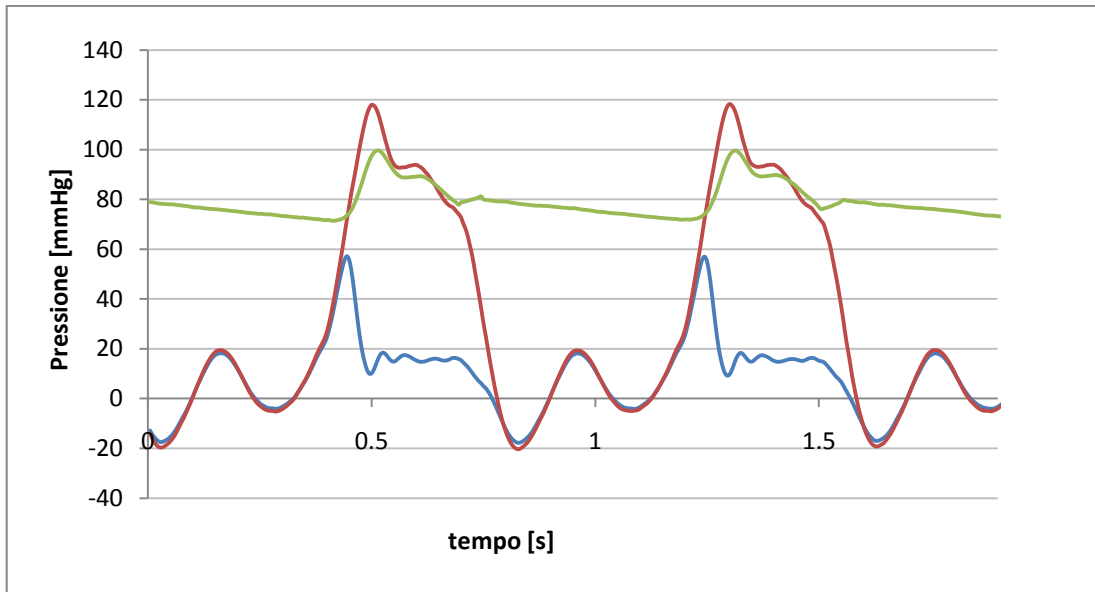


Figura 5.1 Grafico raffigurante gli andamenti delle pressioni atriale (rappresentata in blu), ventricolare (in rosso) e aortica (in verde) durante due cicli cardiaci (valvola 1).

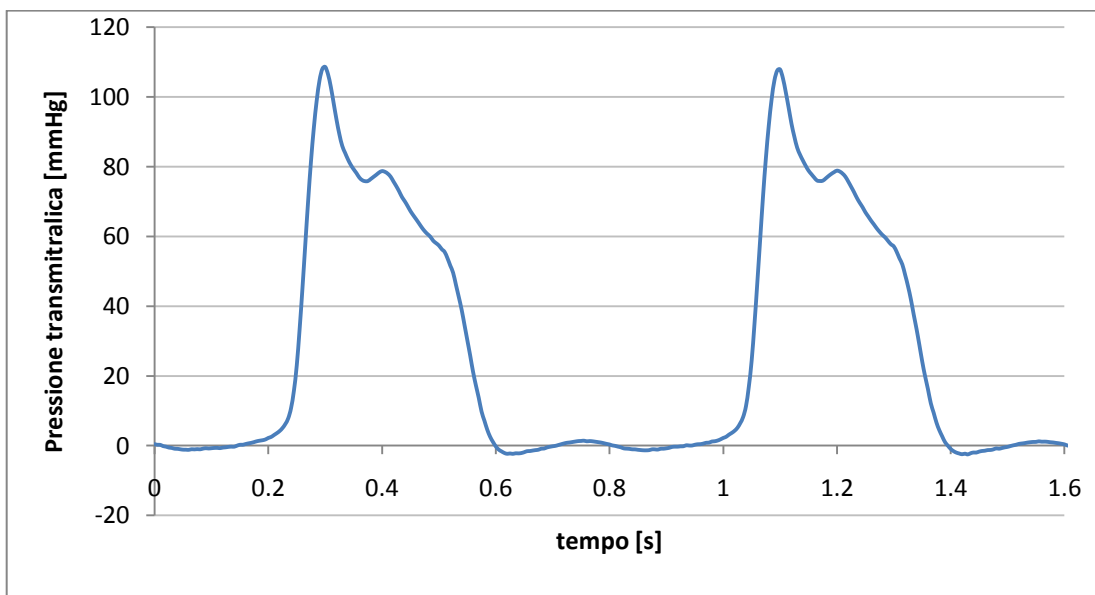


Figura 5.2 Grafico raffigurante l'andamento della pressione transmitralica durante due cicli cardiaci (valvola 1).

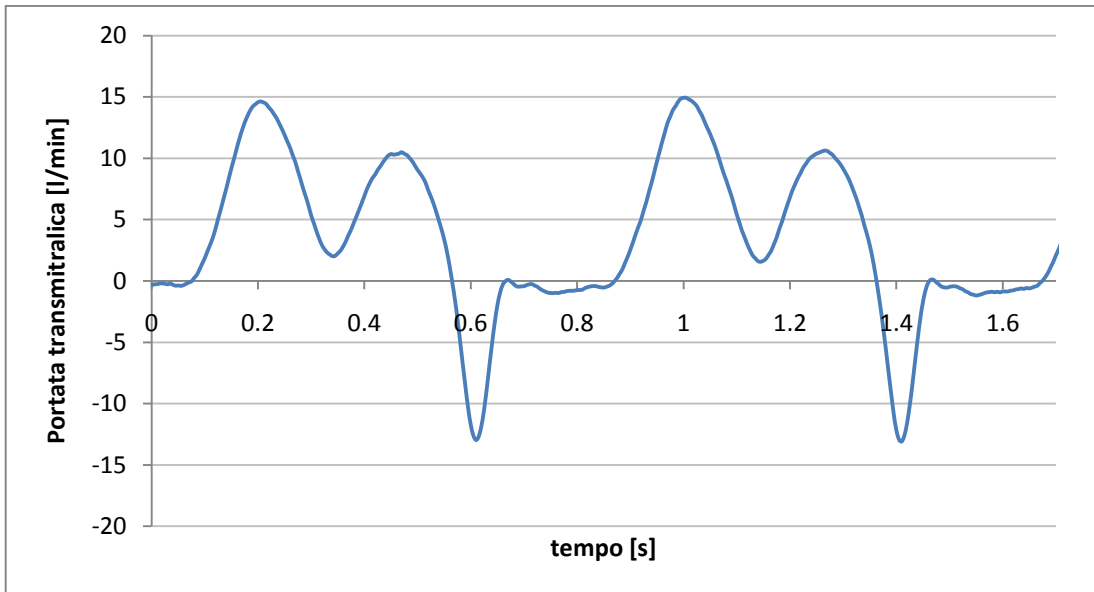


Figura 5.3 Grafico raffigurante l'andamento della portata trans mitralica durante due cicli cardiaci (valvola 1).

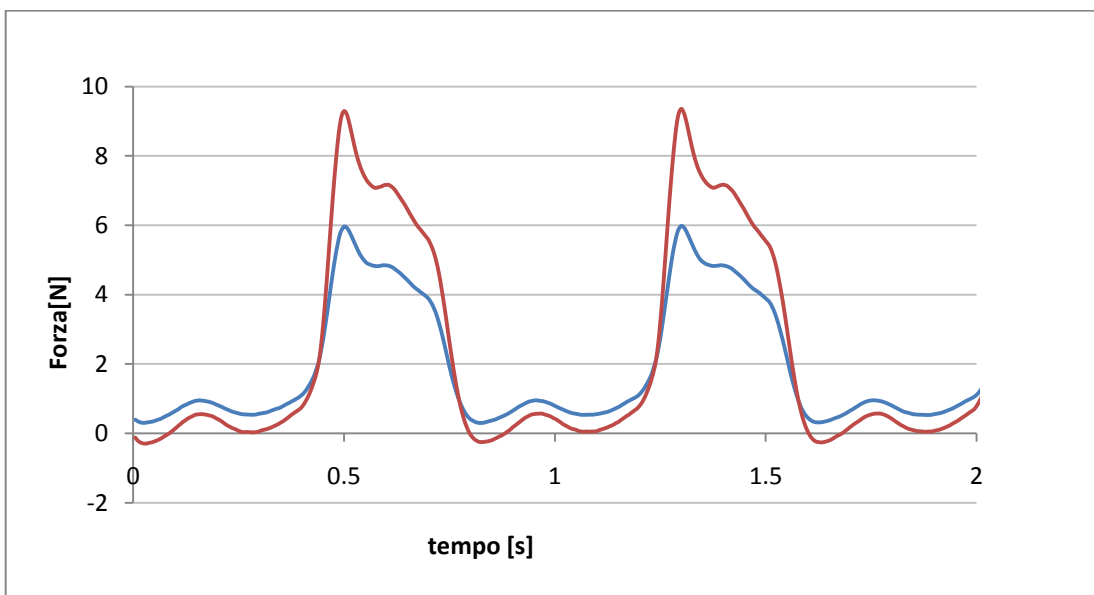


Figura 5.4 Grafico raffigurante l'andamento delle forze relative al muscolo papillare anterolaterale (in blu) e al papillare posteromediale (in rosso) durante due cicli cardiaci (valvola 1).

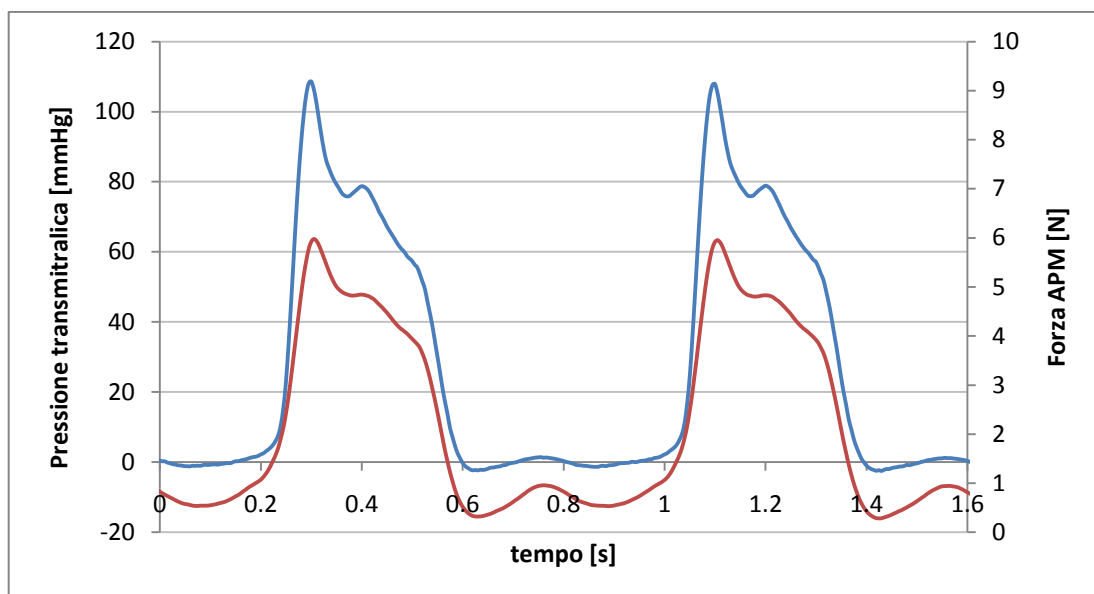


Figura 5.5 Grafico raffigurante l'andamento della pressione transmitralica (in blu) e della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale (in rosso) durante due cicli cardiaci (valvola 1).

Sono stati calcolati inoltre i valori del volume di rigurgito per tutte e quattro le valvole testate, ottenendo valori compresi tra 1 e 5ml.

5.1.2 Analisi dei risultati

Per tutte le valvole testate è stata raggiunta la configurazione fisiologica all'interno del banco prova. Come si può osservare nelle figure 5.1 e 5.2 gli andamenti e i valori delle pressioni trovate rispecchiano quelli fisiologici, ad eccezione dei picchi negativi che si riscontrano nelle curve di pressione ventricolare e atriale in fase diastolica, che sono causati dal sistema pompante che in questa fase aspira volume all'interno del proprio cilindro. Anche l'andamento della portata transmitralica (Figura 5.3) rispecchia quello fisiologico ad eccezione del rigurgito dinamico che, come già detto nel precedente capitolo, è più elevato di quello che si riscontra in vivo a causa di effetti dinamici relativi set-up sperimentale che rallentano la chiusura valvolare. Dalla figura 5.3 si osserva anche l'assenza di rigurgito statico e ciò è confermato dal calcolo dei valori di volume di

rigurgito che risultano essere compresi tra 1 e 5ml. Questi sono valori sufficientemente bassi da non essere imputati a un posizionamento errato della valvola per cui si riproduca una condizione patologica, ma piuttosto a problemi relativi al banco prova come piccole perdite di volume, ad esempio in corrispondenza dei punti di sutura.

La figura 5.4 relativa agli andamenti delle forze misurate per entrambi i muscoli papillari trova conferma nella letteratura, in particolare è paragonabile gli andamenti ricavati da Jensen *et al.* nel 2001 (Figura 5.6).

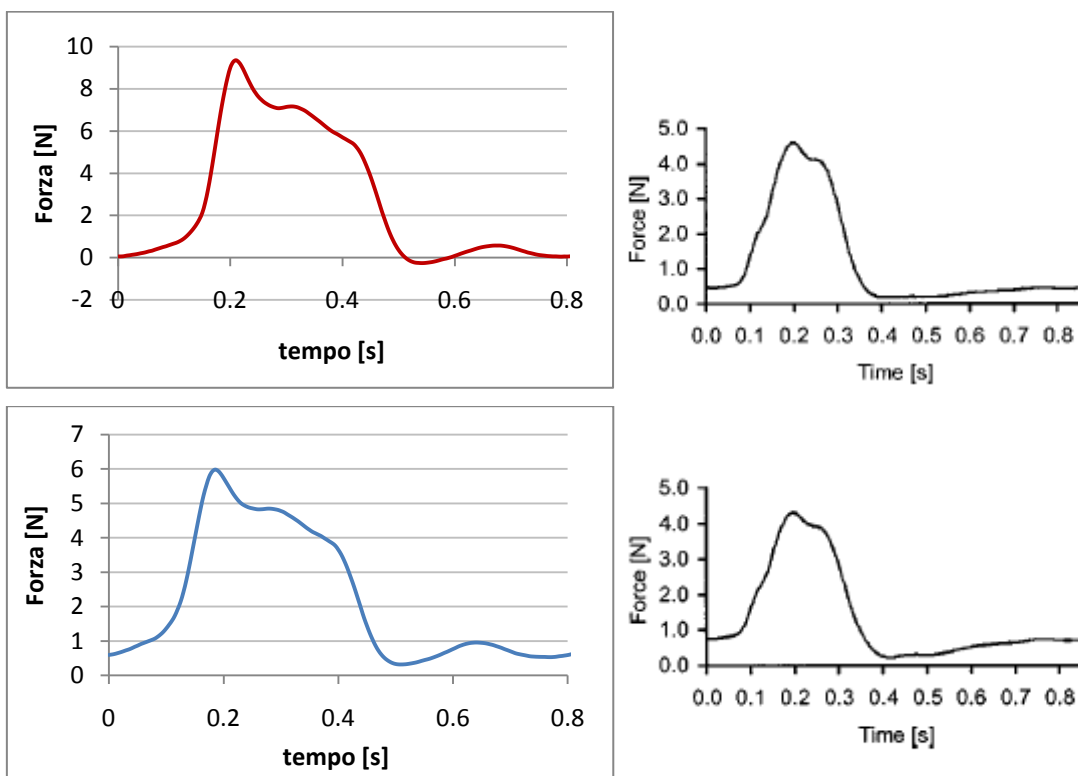


Figura 5.6 A sinistra si mostrano gli andamenti delle forze relative al muscoli papillari posteromediale (in alto) e anterolaterale (in basso) ricavati in questo studio. A destra si riportano gli stessi andamenti (forza relativa al papillare posteromediale in alto e anterolaterale in basso) ricavati nello studio di Jensen nel 2001.

Si noti come gli andamenti ricavati nei due studi abbiano andamenti simili ad eccezione dei valori di forza raggiunti. In questo studio infatti la forza dei muscoli papillari raggiunge valori di picco più elevati rispetto a quelli trovati nello studio di Jensen poiché i test sono stati eseguiti a una frequenza maggiore.

La figura 5.5 mette a confronto l'andamento della forza dei muscoli papillari con l'andamento della pressione transmitralica: si evidenzia la sincronia con cui variano le due grandezze in esame, in accordo con le informazioni presenti in letteratura (Jimenez *et al.*, 2003).

5.2 Protocollo 1 per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari

5.2.1 Andamenti delle variabili di interesse

Applicando il protocollo 1 descritto nel precedente capitolo (paragrafo 4.3.3) si è tentato di riprodurre una condizione di insufficienza mitralica funzionale con diversi gradi di severità in relazione agli spostamenti imposti ai papillari. Si riporta a titolo d'esempio in figura 5.7 l'andamento del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti nel test effettuato sulla valvola 1.

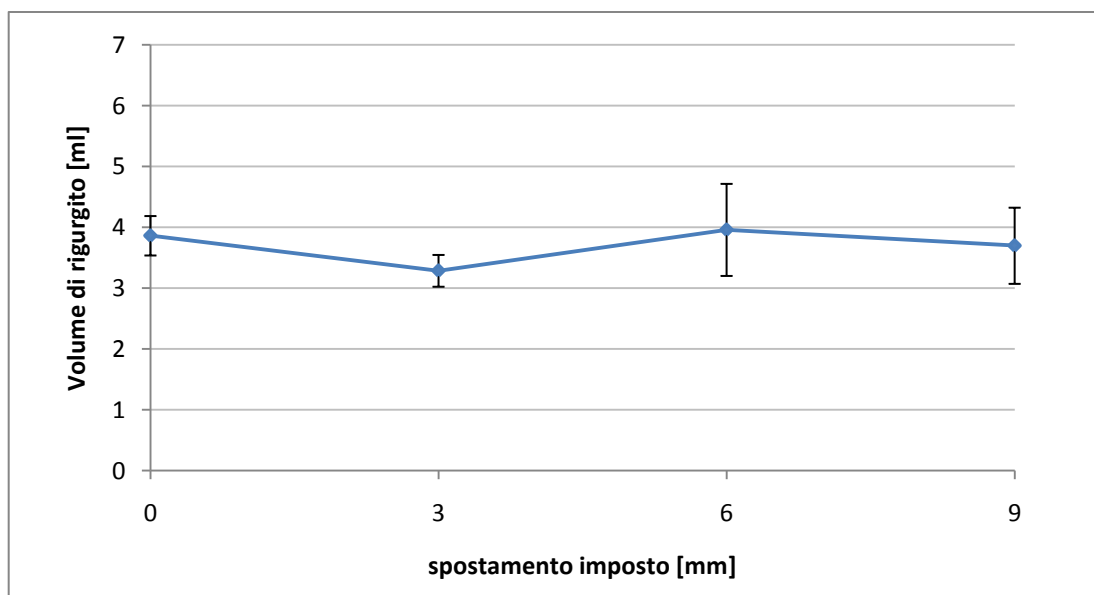


Figura 5.7 Grafico raffigurante l'andamento del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti relativi alla valvola 1. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

I valori del volume di rigurgito nella configurazione relativa a uno spostamento dei papillari di 9mm sono stati confrontati statisticamente con i valori di rigurgito ottenuti in configurazione fisiologica (spostamento nullo) attraverso un t-test disaccoppiato a due code ottenendo valori di p per le singole valvole di 0.061, 0.317, 0.071 e 0.66.

Le figure da 5.8 a 5.10 mostrano gli andamenti delle variabili d'interesse (pressioni atriale, ventricolare e aortica, portata transmitralica, forze relative ai due muscoli papillari, pressione transmitralica) relativi alla valvola 1.

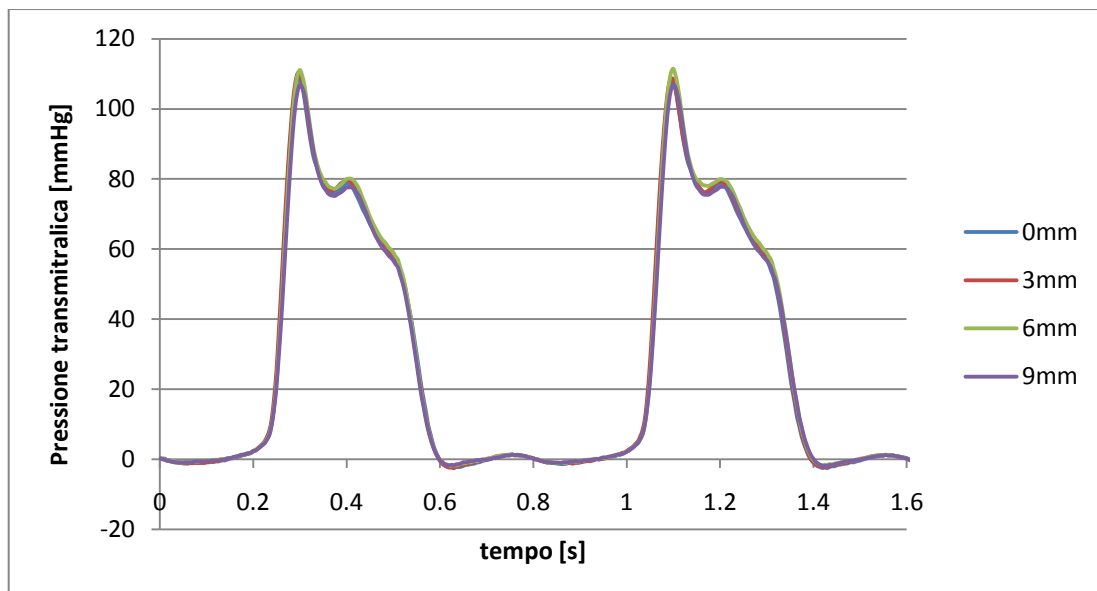


Figura 5.8 Grafico raffigurante gli andamenti della pressione transmitralica per ogni configurazione testata durante due cicli cardiaci (valvola 1).

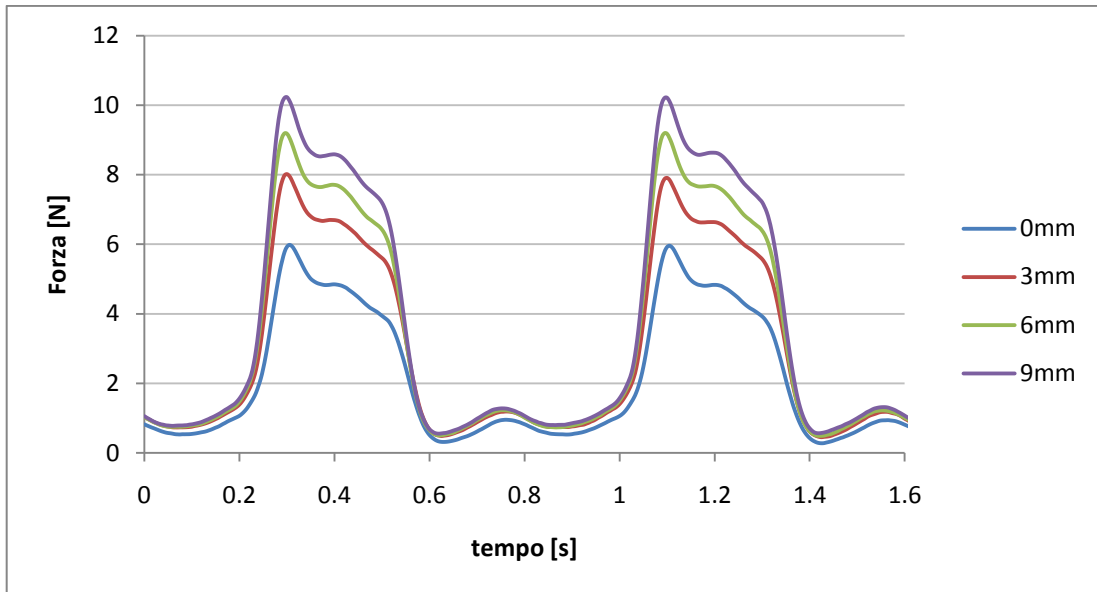


Figura 5.9 Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale per ogni configurazione testata durante due cicli cardiaci (valvola 1).

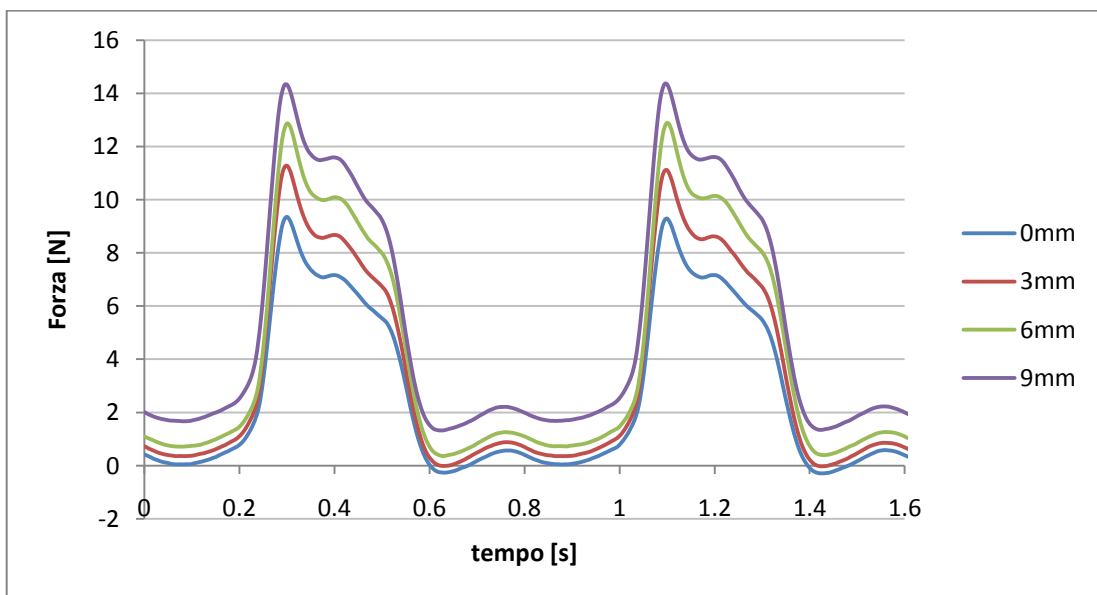


Figura 5.10 Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare posteromediale per ogni configurazione testata durante due cicli cardiaci (valvola 1).

5.2.2 Analisi dei risultati

Lo spostamento dei muscoli papillari in direzione apico-laterale avrebbe dovuto consentire di riprodurre un'insufficienza mitralica funzionale con un grado di severità crescente all'aumentare degli spostamenti imposti. Osservando la figura 5.7 si nota come l'andamento del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti sia pressoché costante, contrariamente alle aspettative. Coerentemente, la figura 5.8 evidenzia come la pressione transmitralica raggiunga gli stessi valori di picco in tutte le configurazioni esaminate convalidando la continenza valvolare e quindi il fallimento nella riproduzione della patologia. Ciò è confermato dal fatto che le variazioni di volume di rigurgito tra la configurazione fisiologica e quella patologica nella condizione corrispondente a 9mm di spostamento non sono statisticamente significative, nonostante la configurazione patologica presa in considerazione sia quella in cui ci si sarebbe aspettata un'insufficienza mitralica importante.

La responsabilità del mancato raggiungimento dell'obiettivo potrebbe essere attribuita a un errore commesso nel definire il protocollo. Le valvole testate sono state suturate al patch attorno a un foro delle dimensioni della valvola prima dell'espianto. Dopo l'estrazione l'annulus valvolare è però libero di distendersi poiché non è più contornato dal tessuto cardiaco che lo supportava, quindi suturare la valvola attorno ad un foro delle dimensioni pre-espianto equivarrebbe ad effettuare una sorta di annuloplastica che faciliterebbe la coaptazione dei lembi.

In riferimento agli andamenti delle forze sui muscoli papillari in funzione del tempo, parametrati con gli spostamenti imposti (Figura 5.9, Figura 5.10) si può osservare come esse aumentino sia in termini di valori di picco sistolico sia di forza diastolica. L'aumento della forza diastolica si spiega in base al fatto che le strutture naturali della valvola, montate in un apparato essenzialmente rigido, sono dotate di notevole elasticità. Pertanto lo spostamento progressivo degli estremi delle corde tendinee, realizzato dislocando volontariamente il muscolo papillare, causa un precarico elastico delle corde stesse. Inoltre all'aumentare dello spostamento può verificarsi un progressivo reclutamento di differenti corde tendinee, che nella condizione iniziale non erano in tensione. Questo può spiegare perché nei tracciati riportati a titolo d'esempio nelle figure citate il precarico diastolico è evidente per uno dei due muscoli papillari (per il quale pertanto deve essere avvenuto un

reclutamento di diverse corde tendinee) e di entità molto inferiore per l'altro muscolo papillare (per le cui corde tendinee si riscontra un reclutamento molto minore).

Quando inizia la fase sistolica, in assenza di rigurgito valvolare, i lembi valvolari si chiudono e il carico pressorio causato dalla sistole si scarica in parte sulle corde tendinee, sia quelle già precaricate in diastole, sia quelle che vengono reclutate solo in fase sistolica. Si ingenera dunque un ulteriore incremento di forza sul muscolo papillare, rispetto alla situazione precaricata, il cui andamento nel tempo (Figura 5.9, 5.10) è infatti in fase con l'andamento della pressione transmitralica che lo ha causato (Figura 5.8).

5.3 Protocollo 2 per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari

5.3.1 Andamenti delle variabili di interesse

Applicando il protocollo 2 descritto nel precedente capitolo sono stati ottenuti gli andamenti del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti rappresentati in figura 5.11.

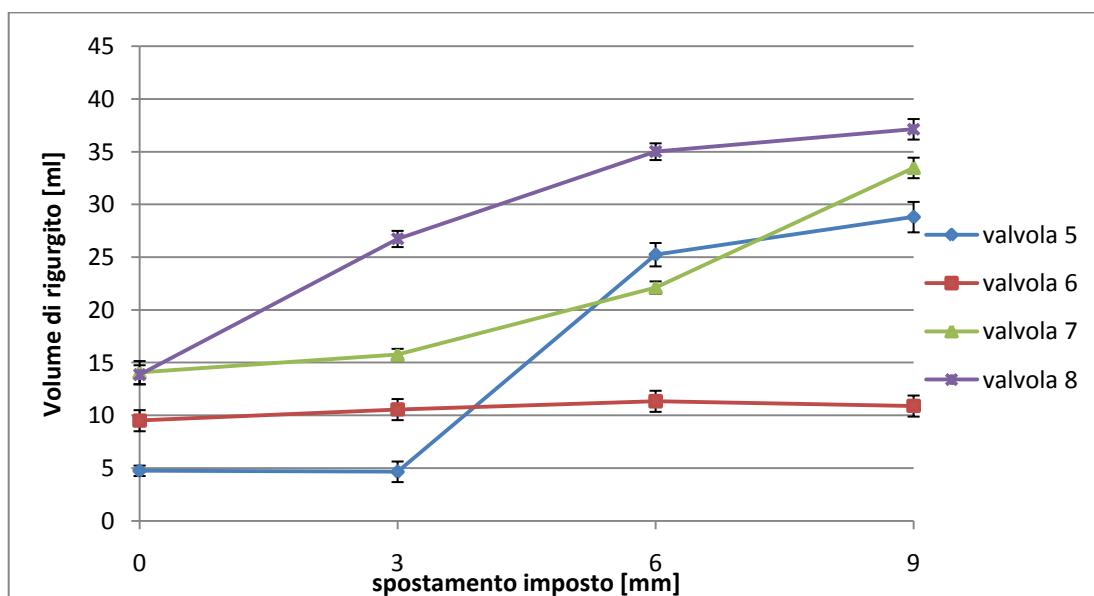


Figura 5.11 Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti per ognuna delle quattro valvole testate. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

I valori del volume di rigurgito relativi ad ogni configurazione dei papillari sono stati confrontati statisticamente con quelli ottenuti nella posizione iniziale attraverso un t-test disaccoppiato a due code ottenendo i seguenti valori di p riportati nella tabella 5.1.

Tabella 5.1 Tabella riportante i valori di p ricavati attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito nelle condizioni di spostamento dei papillari e quelli nelle condizioni iniziali.

	Spostamento di 3mm	Spostamento di 6mm	Spostamento di 9mm
Valvola 5	0.87	<0.01	<0.01
Valvola 6	0.26	0.05	0.17
Valvola 7	0.02	<0.01	<0.01
Valvola 8	<0.01	<0.01	<0.01

Sono stati confrontati statisticamente anche i valori del volume di rigurgito relativi a ogni configurazione testata con quelli ottenuti nella configurazione precedente e sono stati ottenuti i valori di p riportati nella tabella 5.2.

Tabella 5.2 Tabella riportante i valori di p ricavati attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito in una configurazione dei papillari e i valori di rigurgito nella configurazione precedente.

	Spostamento da 3mm a 6mm	Spostamento da 6mm a 9mm
Valvola 5	<0.01	<0.01
Valvola 6	0.36	0.67
Valvola 7	<0.01	<0.01
Valvola 8	<0.01	0.04

A titolo d'esempio nelle figure 5.12, 5.13, 5.14, 5.15 si mostrano anche gli andamenti delle variabili di interesse relativi alla valvola 7.

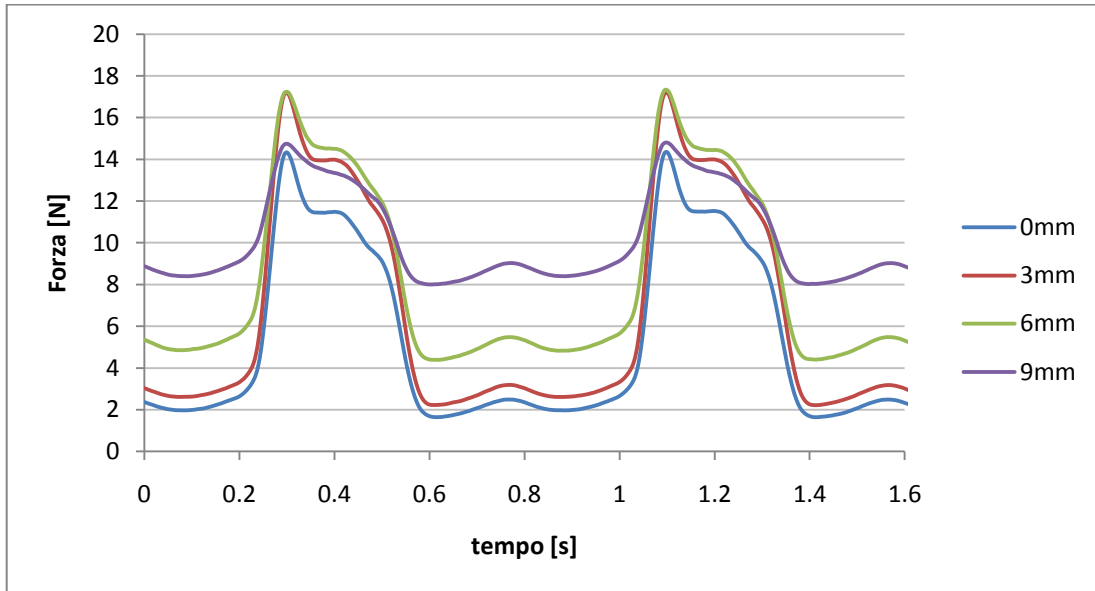


Figura 5.12 Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).

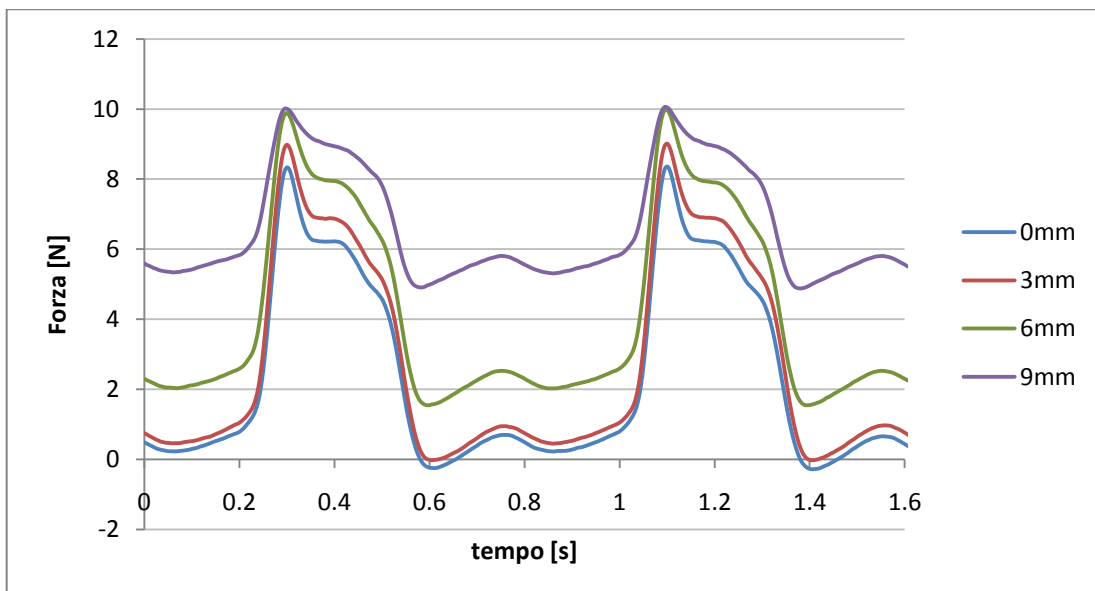


Figura 5.13 Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare posteromediale per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).

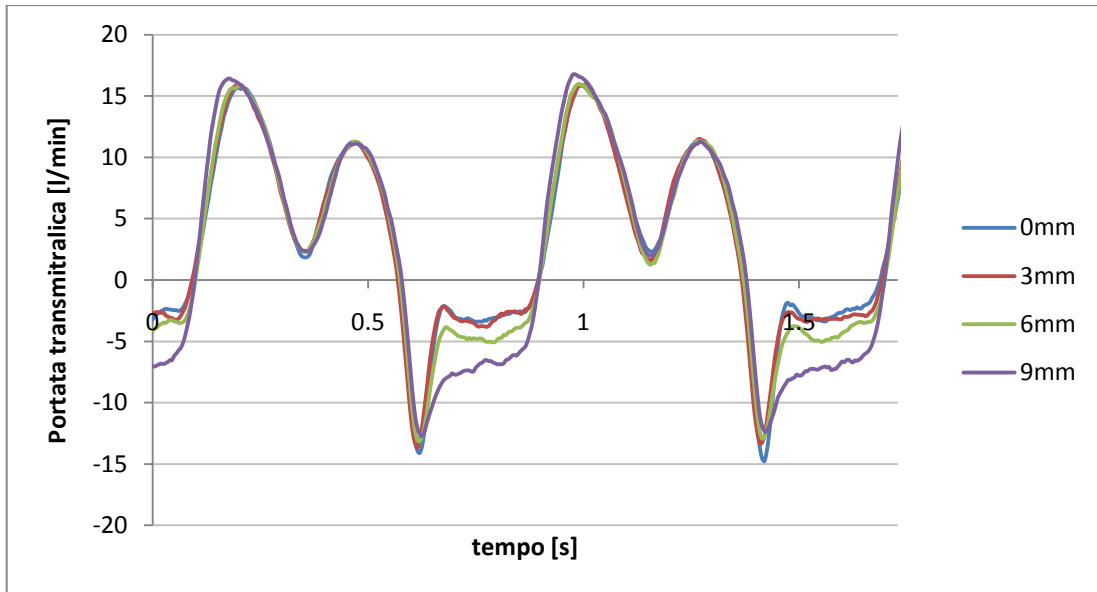


Figura 5.14 Grafico raffigurante gli andamenti della portata transmitralica per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).

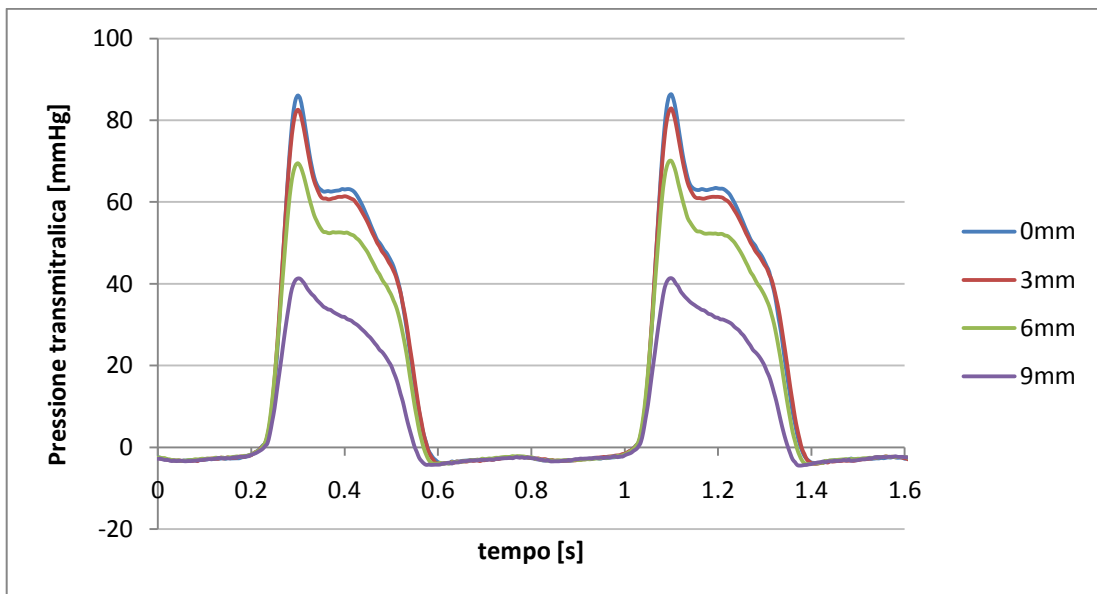


Figura 5.15 Grafico raffigurante gli andamenti della pressione transmitralica per ognuna delle configurazioni testate durante due cicli cardiaci (valvola 7).

5.3.2 Analisi dei risultati

Con il sovradimensionamento del foro nel patch attorno al quale viene suturata la valvola ci si aspettava di raggiungere l'obiettivo di indurre nella valvola un rigurgito mitralico crescente all'aumentare delle dislocazioni dei papillari.

In riferimento alla figura 5.11 si osserva come si siano ottenute diverse tipologie di andamento del volume di rigurgito. Una valvola ha mostrato un andamento del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti pressoché costante (valvola 6) perciò si deduce che non è stata indotta alcuna patologia e che il rigurgito presente è indipendente dagli spostamenti e quindi riconducibile ad altre cause come ad esempio le perdite di volume dovute ai punti di sutura. A conferma di ciò l'analisi statistica ha mostrato che le variazioni del volume di rigurgito tra la configurazione fisiologica e le configurazioni in cui si sono dislocati i papillari non sono statisticamente significative (Tabella 5.1). Una valvola ha invece mostrato un andamento del volume di rigurgito crescente con lo spostamento imposto e caratterizzato da elevati valori di rigurgito (valvola 8) per cui in questo caso si è ottenuto il risultato sperato. Altre due valvole hanno mostrato un andamento inizialmente costante per poi presentare un aumento consistente della pendenza della curva e quindi un andamento crescente (valvola 5 e valvola 7): questo fa supporre che si sia riusciti a indurre rigurgito a partire dalla configurazione in corrispondenza della quale si osserva la variazione di pendenza, che nel caso delle valvole 5 e 6 si presenta in corrispondenza di uno spostamento pari a 3 mm.

L'andamento del rigurgito di queste due ultime valvole potrebbe quindi far supporre che esista una posizione dei papillari in corrispondenza della quale ogni ulteriore spostamento in direzione apical-laterale provochi un rigurgito nella valvola non trascurabile, sintomo dell'incompetenza valvolare. Quanto detto può essere confermato osservando le figure 5.14 e 5.15 relativi alla valvola 7: l'andamento della portata transmitralica mostra un aumento importante del rigurgito statico in corrispondenza di uno spostamento imposto di 6mm e l'andamento della pressione transmitralica mostra una diminuzione del valore di picco in corrispondenza della stessa configurazione dei papillari. Un'ulteriore conferma è data dal fatto che, per entrambe le valvole, le variazioni dei volumi di rigurgito tra la configurazione a 3mm di spostamento e quella a 6mm sono statisticamente significative (Tabella 5.2).

Per approfondire quanto detto si osservino gli andamenti nel tempo delle forze relative ai papillari (Figura 5.12; Figura 5.13): essi mostrano una traslazione importante nella direzione positiva dell'asse y in corrispondenza della stessa configurazione per cui si aveva un aumento della pendenza nell'andamento del rigurgito. Ad esempio nella figura 5.12 e nella figura 5.13, riferiti alla valvola 7, l'andamento della forza relativa ai muscoli papillari mostra una traslazione nella direzione positiva dell'asse y in corrispondenza di uno spostamento di 6mm. Questa traslazione coinvolge in misura maggiore la forza diastolica rispetto ai valori di picco sistolico a differenza di quanto accadeva nel caso di valvola continent (paragrafo 5.2.2) quando l'incremento riguardava entrambe le fasi.

Riferendosi nuovamente alla figura 5.11 si può ipotizzare che anche gli andamenti del volume di rigurgito delle valvole 5 e 8 potrebbero essere ricondotti al ragionamento fatto per le valvole 6 e 7. Ad esempio la valvola 6 presenta un andamento che potrebbe corrispondere alla zona costante delle curve ottenute per le valvole 6 e 7 e quello relativo alla valvola 8 potrebbe corrispondere alla zona crescente delle stesse: in entrambi i casi non si sarebbe evidenziato l'aumento di pendenza che caratterizza gli andamenti delle valvole 6 e 7 poiché non è stata testata la configurazione corrispondente.

Ipotizzando che ciò sia vero, per ogni valvola esisterà una posizione dei papillari tale per cui ogni ulteriore spostamento in direzione apical-laterale provocherebbe valori importanti di volume di rigurgito, indice del fatto che si è indotta insufficienza nella valvola. Per ogni valvola si potrebbe dunque rappresentare il volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti con una sigmoide caratterizzata da tre zone (Figura 5.16): una zona costante (zona 1), una zona in cui si assiste a un aumento della pendenza della curva crescente con lo spostamento (zona 2) e una zona in cui la pendenza torna a diminuire (zona 3).

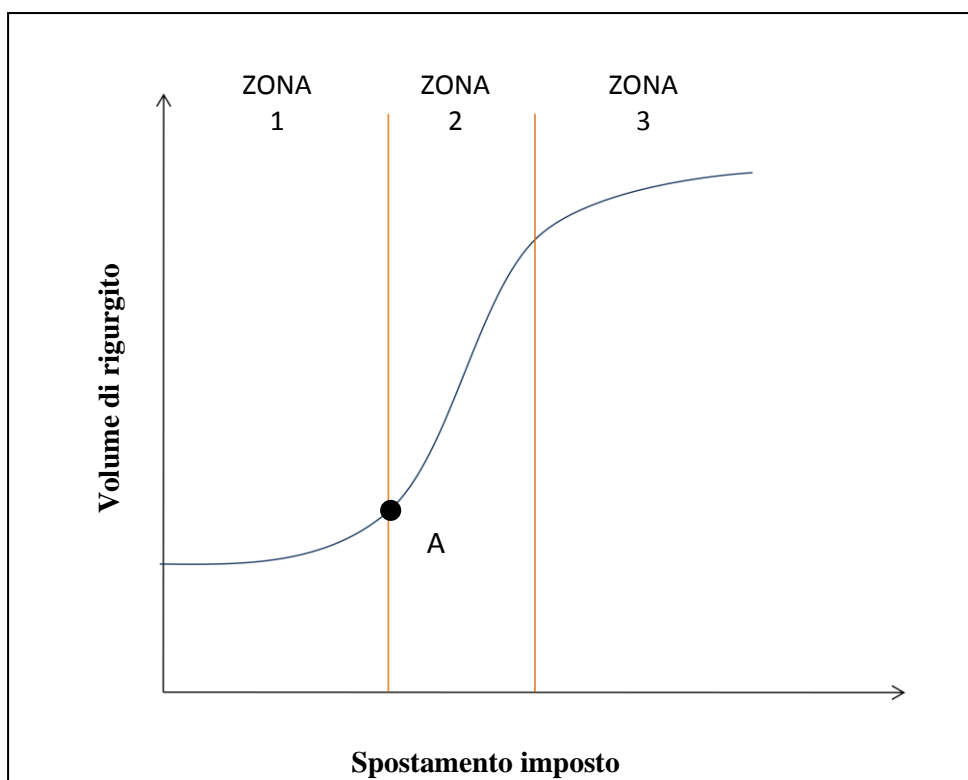


Figura 5.16 Immagine schematica dell’andamento sigmoideale del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti ipotizzato per ogni valvola.

La “zona 1” corrisponderebbe a un range di configurazioni dei papillari in cui la valvola rimane continente riuscendo a compensare gli spostamenti imposti ai papillari. La configurazione relativa al passaggio dalla “zona 1” alla “zona 2” (punto A) corrisponderebbe alla configurazione limite nella quale la valvola non riesce più a compensare gli effetti dovuti agli spostamenti cominciando a diventare insufficiente. Dislocando quindi i papillari a partire da questa configurazione limite si riuscirebbe a raggiungere l’obiettivo preposto.

Da ultimo, la “zona 3” corrisponderebbe al range di configurazioni in cui la valvola è talmente incontinente per cui un ulteriore aumento degli spostamenti non provoca più un aumento consistente del volume di rigurgito. La “zona 3” potrebbe anche corrispondere alle configurazioni in cui si può assistere a un cedimento dei punti di sutura che devono ancorare il papillare al sistema di afferraggio a causa della perdita di consistenza del tessuto muscolare. Questo fatto insieme alla diminuzione della pressione transmitralica porterebbe a incrementi del volume di rigurgito molto più bassi rispetto a quelli della “zona 2”.

5.4 Protocollo 3 per la simulazione della dislocazione dei muscoli papillari

5.4.1 Andamenti delle variabili di interesse

Si mostrano nelle figure dalla 5.17 alla 5.19 i grafici relativi alla ricerca della configurazione limite, posizione dalla quale si parte per riprodurre l' insufficienza.

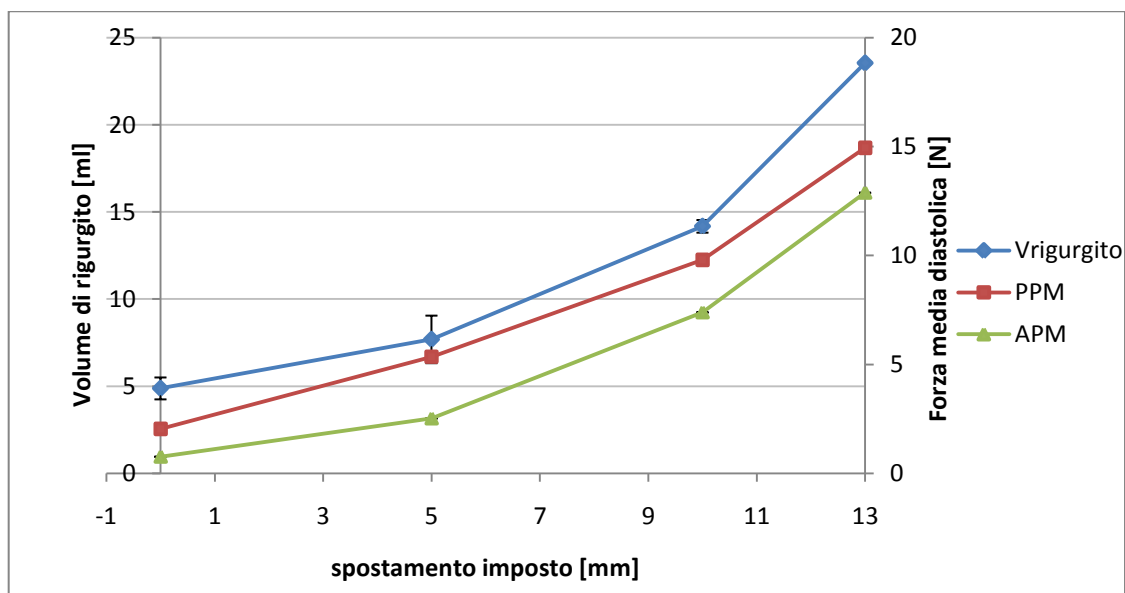


Figura 5.17 Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche relative al muscolo papillare anterolaterale (APM) e posteromediale (PPM) per la valvola 9 testata.

Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

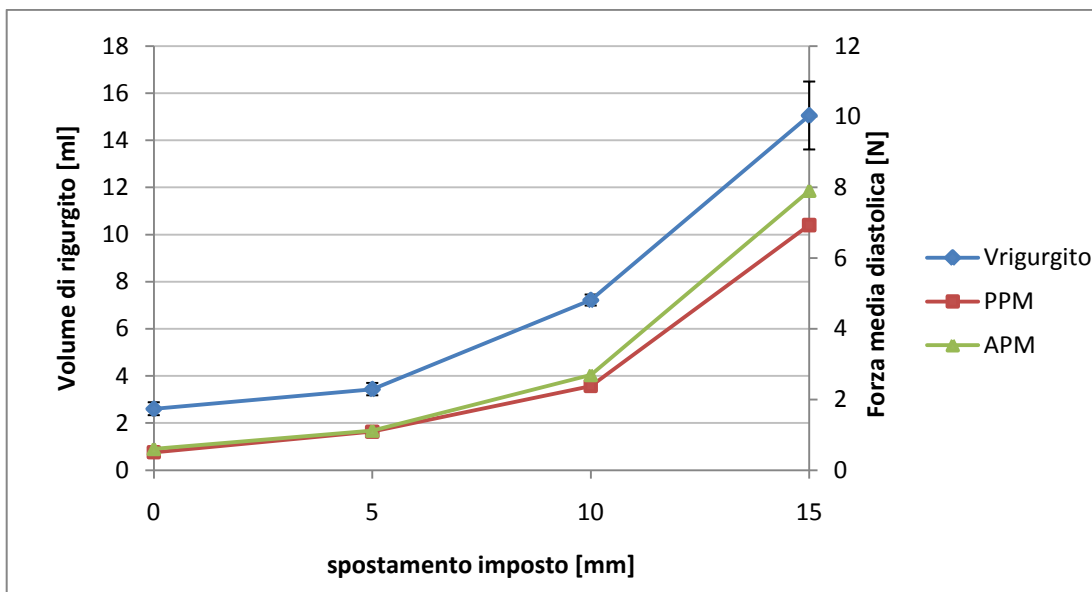


Figura 5.18 Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche relative al muscolo papillare anterolaterale (APM) e posteromediale (PPM) per la valvola 10 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

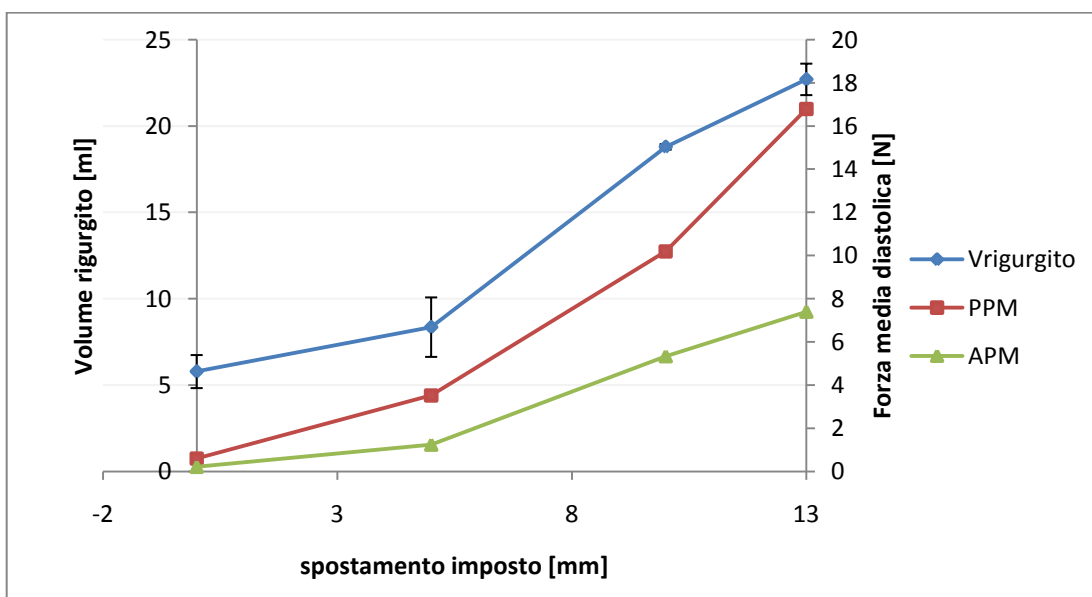


Figura 5.19 Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche relative al muscolo papillare anterolaterale (APM) e posteromediale (PPM) per la valvola 11 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

Sono stati confrontati statisticamente i valori del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche ricavati in ogni configurazione con i corrispondenti valori relativi alla configurazione di spostamento precedente. I valori di p trovati sono riportati nella tabella 5.3.

Tabella 5.3 Tabella riportante i valori di p ottenuti attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito e delle forze medie diastoliche ricavati in ogni configurazione con i corrispondenti valori relativi alla configurazione di spostamento precedente.

	Valvola 9			Valvola 10			Valvola 11		
	Spostamento [mm]			Spostamento [mm]			Spostamento [mm]		
	0-5	5-10	10-13	0-5	5-10	10-15	0-5	5-10	10-13
Vrigurgito	0.03	<0.01	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.18	<0.01	<0.01
ForzaAPM	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.13	<0.01	0.38
ForzaPPM	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01

Procedendo con il protocollo si ottengono gli andamenti del volume di rigurgito che si ricavano spostando i muscoli papillari di 3, 6, 9mm a partire dalla configurazione limite (Figura 5.20).

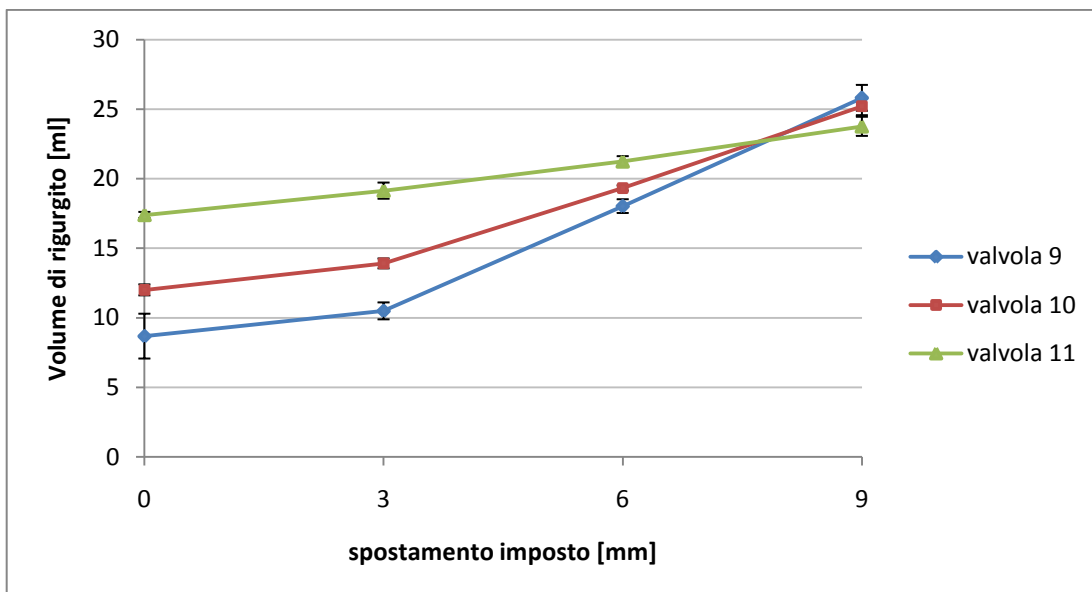


Figura 5.20 Grafico raffigurante gli andamenti del volume di rigurgito che si ricavano spostando i muscoli papillari di 3, 6, 9mm a partire dalla configurazione limite. Le barre d'errore rappresentano la deviazione standard.

In figura 5.21 si riporta anche l'istogramma mostrante le variazioni del volume di rigurgito per ogni valvola testata in ogni configurazione riprodotta.

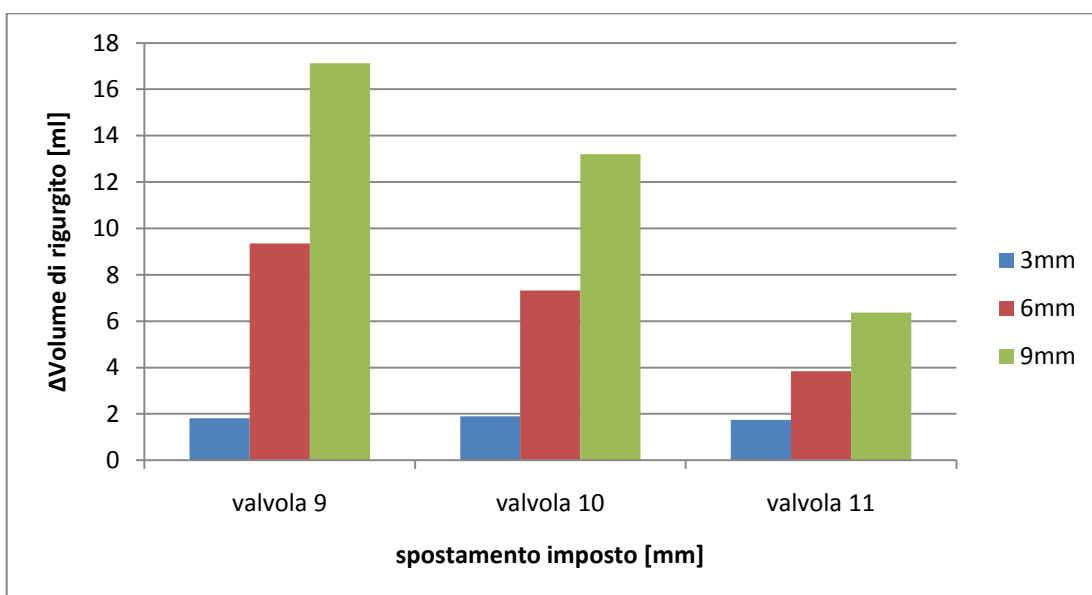


Figura 5.21 Istogramma mostrante le variazioni del volume di rigurgito per ogni valvola testata in ogni configurazione riprodotta.

Sono stati confrontati statisticamente i valori del volume di rigurgito in ognuna delle configurazioni patologiche con i valori di rigurgito che si hanno in corrispondenza della configurazione limite attraverso un t-test disaccoppiato a due code ottenendo i valori di p riportati in Tabella 5.4.

Tabella 5.4 Tabella riportante i valori di p ricavati attraverso un t-test disaccoppiato a due code tra i valori del volume di rigurgito nelle configurazioni di dislocamento dei papillari e i valori di rigurgito relativi alla configurazione limite.

	Spostamento di 3mm	Spostamento di 6mm	Spostamento di 9mm
Valvola 9	0.14	<0.01	<0.01
Valvola 10	<0.01	<0.01	<0.01
Valvola 11	0.14	<0.01	<0.01

A titolo d'esempio si riportano nelle figure dalla 5.22 alla 5.25 anche gli andamenti della portata transmitralica, della pressione transmitralica e delle forze dei muscoli papillari in funzione dello spostamento imposto relativi alla valvola 10.

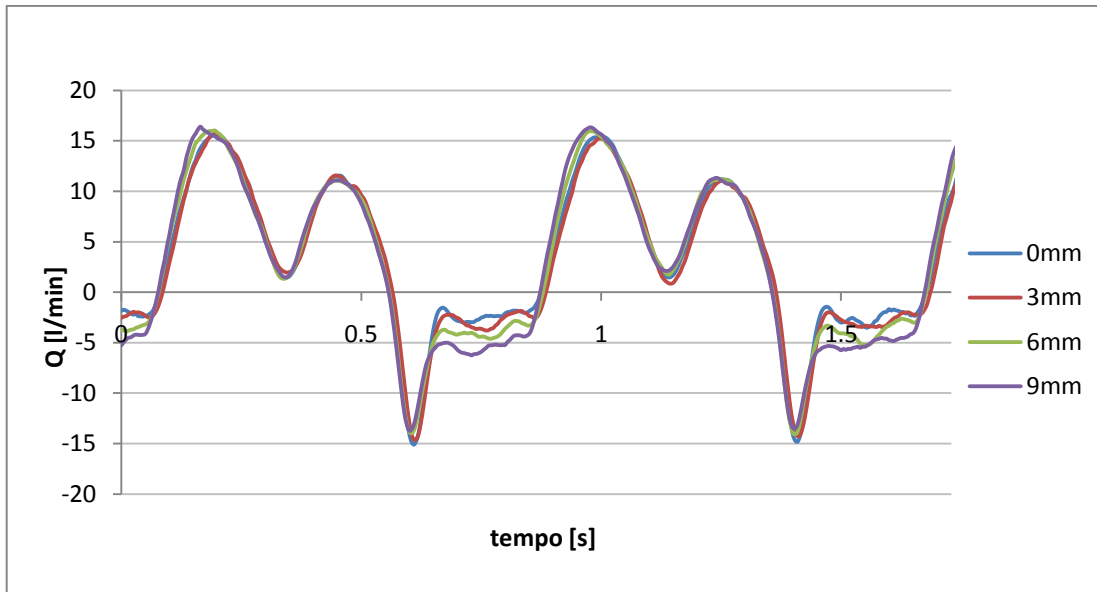


Figura 5.22 Grafico raffigurante gli andamenti della portata trasmitralica per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).

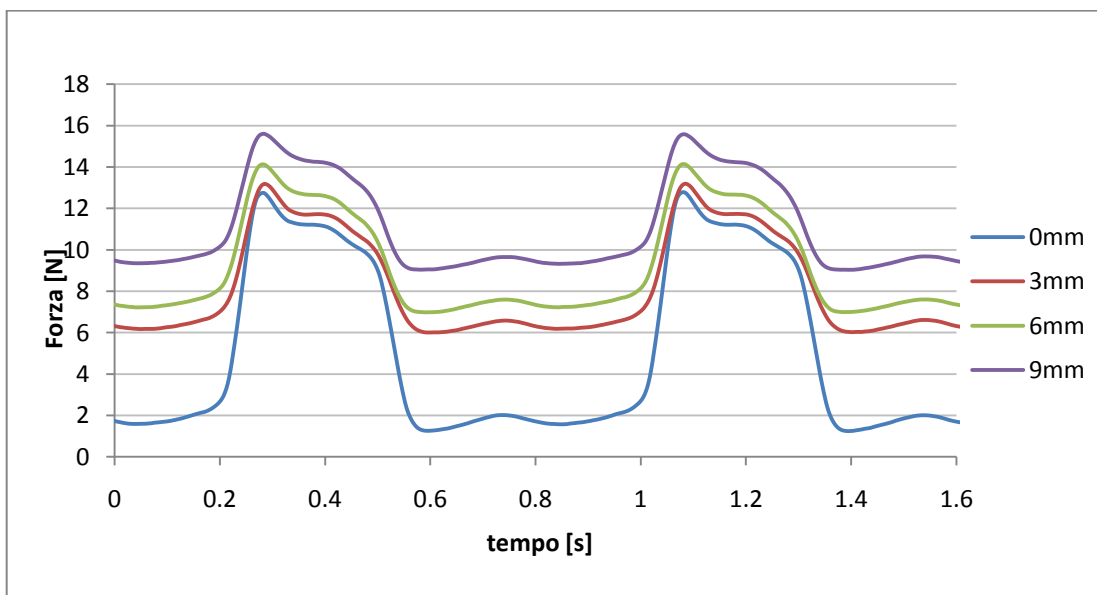


Figura 5.23 Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare posteromediale per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).

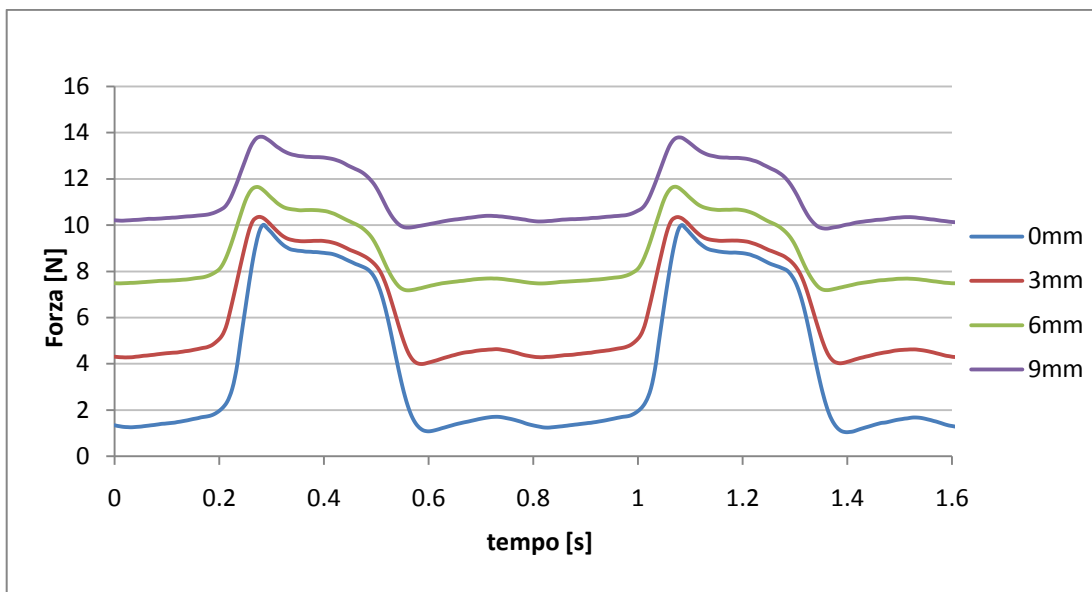


Figura 5.24 Grafico raffigurante gli andamenti della forza relativa al muscolo papillare anterolaterale per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).

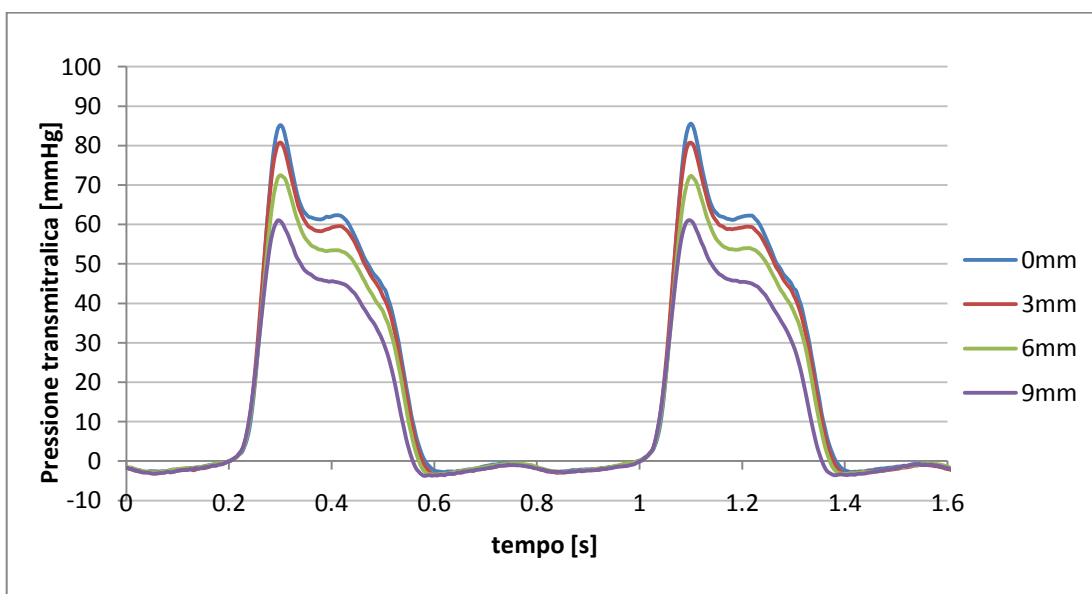


Figura 5.25 Grafico raffigurante gli andamenti della pressione transmittalica per ognuna delle configurazioni testate (valvola 10).

5.4.2 Analisi dei risultati

Osservando i grafici 5.17, 5.18 e 5.19 si può notare come per tutte e tre le valvole testate si sia riusciti a trovare un andamento del volume di rigurgito in funzione degli spostamenti imposti coerente con le ipotesi fatte nel paragrafo 5.3.2. Osservando quindi questi andamenti insieme con quelli relativi alle forze diastoliche medie dei papillari si identifica la configurazione oltre la quale si ha un'importante aumento della pendenza della curva, che è la configurazione limite prima descritta. Per la valvola 9 la configurazione limite viene identificata in corrispondenza di uno spostamento di 5mm dei papillari, per la valvola 10 a 10mm di spostamento e per la valvola 11 a 5mm di spostamento.

Facendo un'analisi statistica di confronto tra i valori del volume di rigurgito e delle forze diastoliche medie che si presentano a cavallo della configurazione limite si osserva che sono statisticamente significativi (Tabella 5.3), a conferma di quanto detto sopra.

Partendo dalla configurazione limite e spostando i muscoli papillari in direzione apico-laterale si è riusciti ad avere un andamento del volume di rigurgito crescente all'aumentare degli spostamenti imposti. La figura 5.21 mostra le variazioni di rigurgito indotte per ogni configurazione testata rispetto alla configurazione limite: si noti come la variazione del volume di rigurgito cresca all'aumentare degli spostamenti, indice del fatto che si è riusciti a riprodurre diversi gradi di insufficienza funzionale. Le variazioni di volume di rigurgito sono per la maggior parte statisticamente significative (Tabella 5.4).

Una conferma del fatto che si sia riusciti a indurre insufficienza funzionale si può avere osservando gli andamenti della portata transmitralica e della pressione transmitralica. Ad esempio osservando le figure 5.22 e 5.25 relativi alla valvola 10 si nota come all'aumentare degli spostamenti aumenti anche il rigurgito statico. Si riscontra in contemporanea una diminuzione del picco di pressione transmitralica; anche questo è indice di un'insufficienza valvolare, infatti al progredire del rigurgito si ha una diminuzione della frazione della portata ventricolare che la pompa trasferisce nel simulatore della circolazione sistemica. Diminuisce pertanto la pressione arteriosa generata dal simulatore e di conseguenza la pressione ventricolare di picco e la differenza ventricolo-atriale che viene registrata sotto forma di pressione transmitralica. Questo comportamento non ha un corrispettivo nella fisiopatologia cardiaca, bensì è correlato col fatto che l'apparato sperimentale non è dotato di un sistema di feedback atto alla

regolazione della portata sistemica analogo al sistema di autoregolazione della circolazione naturale. Pur tuttavia questo tipo di comportamento può essere utile in fase sperimentale in quanto la diminuzione del picco pressorio costituisce un evidente segnale dell'instaurarsi di un rigurgito mitralico.

In riferimento alle figure 5.23 e 5.24 si può notare come le forze aumentino all'aumentare degli spostamenti imposti. Tuttavia, diversamente da quanto riscontrato nel caso di dislocazione con mantenimento della continenza valvolare (paragrafo 5.2.2) l'incremento di forza è di entità maggiore in fase di diastole piuttosto che in fase di sistole. Infatti, da un lato è vero che l'incremento diastolico è spiegabile con un meccanismo di precarico elastico e di progressivo reclutamento delle corde analogo al caso precedente. D'altra parte, in questo caso, l'incremento di forza che ha luogo in fase sistolica è attenuato dal fatto che al progredire dell'insufficienza valvolare il picco di pressione transmitralica (Figura 5.25) che lo ha generato si riduce notevolmente.

Riguardo le figure 5.20 e 5.21 possono essere fatte ulteriori considerazioni in riferimento all'ipotesi che per ogni valvola si potrebbe rappresentare il volume di rigurgito in funzione degli spostamenti con una sigmoide caratterizzata da tre zone (paragrafo 5.3.2). In particolare osservando il grafico 5.20 sembrerebbe che gli andamenti delle valvole 9 e 10 corrispondano alla cosiddetta "zona 2" della sigmoide: aumentando la dislocazione dei papillari il volume di rigurgito assume valori sempre maggiori. Ciò è probabilmente indice del fatto che si stanno riproducendo le condizioni in cui la valvola perde progressivamente la coaptazione ottimale dei lembi diventando sempre più insufficiente. L'andamento della valvola 11 sembra invece corrispondere alla "zona 3" della sigmoide: il valore del volume di rigurgito in corrispondenza della configurazione limite è più elevato rispetto a quello delle altre due valvole e aumentando gli spostamenti i valori del volume di rigurgito continuano a crescere ma in maniera minore rispetto a quelli delle valvole 9 e 10. A conferma di ciò si può osservare la figura 5.21: le variazioni del volume di rigurgito della valvola 11 misurate tra le configurazioni patologiche e la configurazione limite sono molto inferiori a quelle relative alle altre due valvole.

Questo comportamento potrebbe essere dovuto al fatto che nella fase di ricerca della configurazione limite i papillari vengono dislocati più di 10mm dalla posizione fisiologica e ciò può aver provocato un cedimento dei punti di sutura che ancorano il papillare al sistema di afferraggio a causa della perdita di consistenza del tessuto muscolare.

Il protocollo così definito non è quindi ancora quello ottimizzato per poter raggiungere in modo del tutto ripetibile e affidabile l'obiettivo; saranno quindi necessarie alcune modifiche future.

5.5 Una possibile applicazione: test sull'anello Cardinal di Valtech Cardio

5.5.1 Andamenti delle variabili di interesse

Si riportano nelle figure 5.26, 5.27 e 5.28 tre istogrammi, uno per ogni valvola testata, riportanti i volumi di rigurgito ottenuti per ogni taglia dell'anello in ognuna delle configurazioni analizzate.

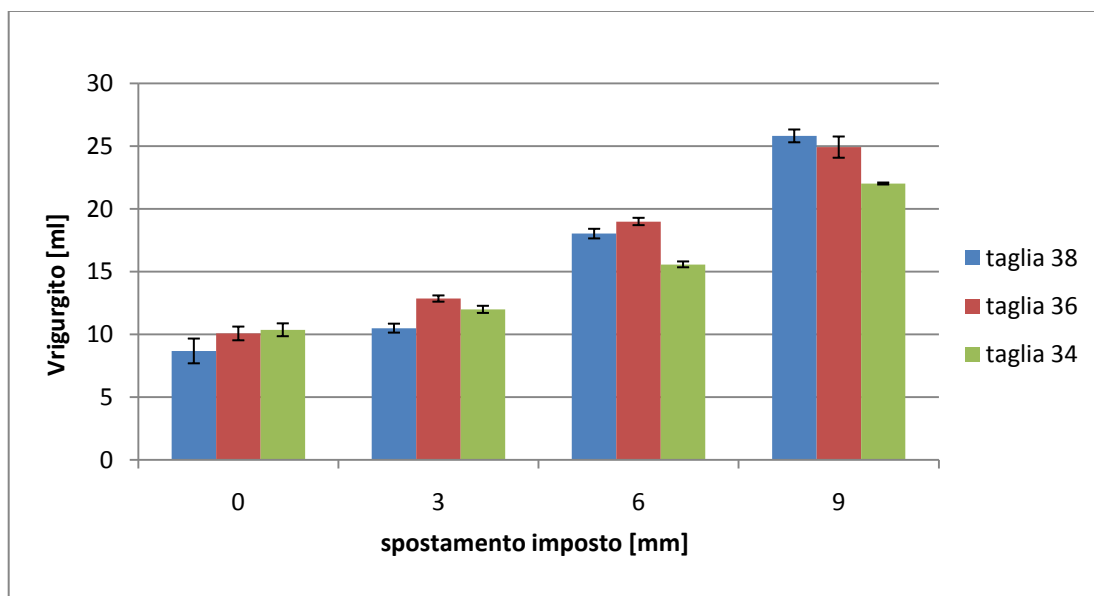


Figura 5.26 Istogramma riportante i volumi di rigurgito per ogni taglia dell'anello in ognuna delle configurazioni testate per la valvola 9 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

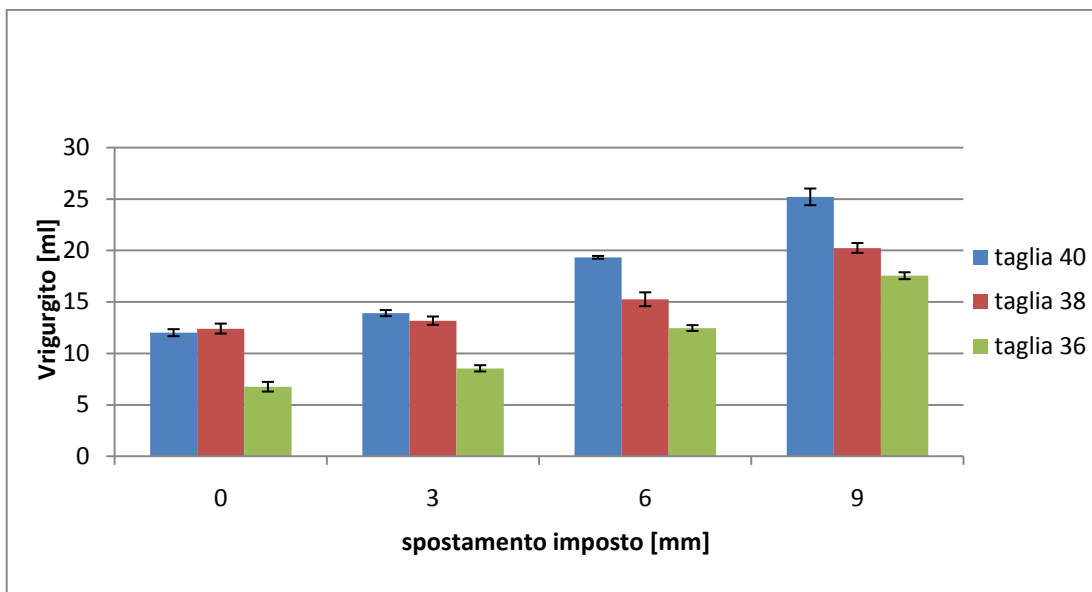


Figura 5.27 Istogramma riportante i volumi di rigurgito per ogni taglia dell'anello in ognuna delle configurazioni testate per la valvola 10 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

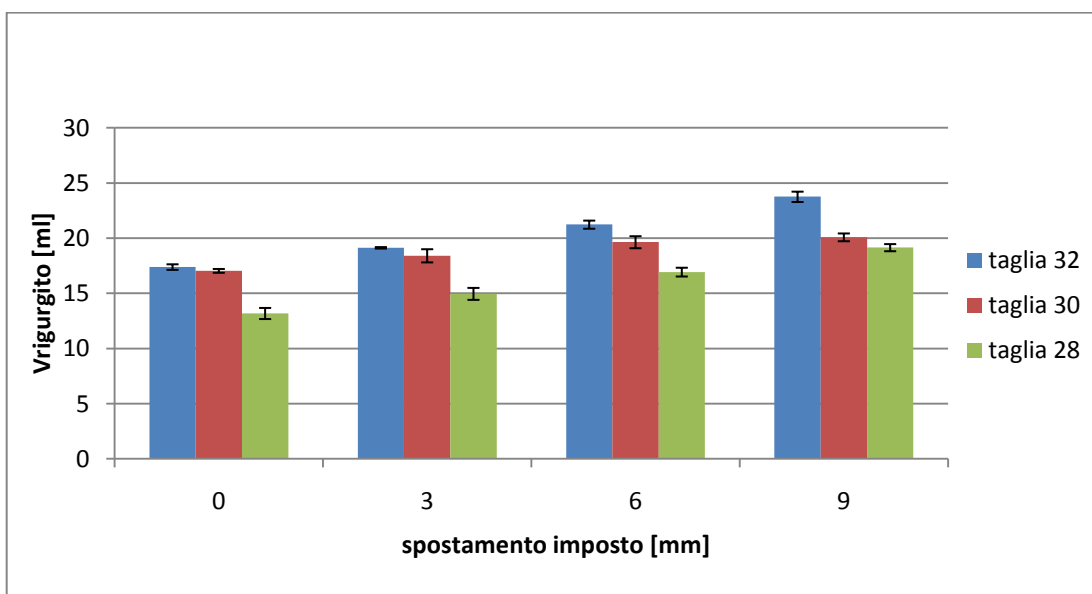


Figura 5.28 Istogramma riportante i volumi di rigurgito per ogni taglia dell'anello in ognuna delle configurazioni testate per la valvola 11 testata. Le barre di errore rappresentano la deviazione standard.

Per ogni valvola tutti i volumi di rigurgito relativi a ogni configurazione calcolati per ogni riduzione di taglia dell'anello sono stati confrontati con i valori di rigurgito relativi a ogni configurazione ottenuti con la taglia iniziale dell'anello attraverso un t-test disaccoppiato a due code. I valori di p sono riportati nelle tabelle 5.5, 5.6 e 5.7.

Tabella 5.5 Tabella riportante i valori di p ottenuti per la valvola 9 confrontando i valori di volume di rigurgito relativi ad ogni configurazione testata calcolati per le taglie 36 e 38 dell'anello con i valori di rigurgito ottenuti per la taglia 38.

	Configurazione limite	Spostamento di 3mm	Spostamento di 6mm	Spostamento di 9mm
Taglia 36	0.18	<0.01	0.01	0.21
Taglia 34	0.10	0.01	<0.01	<0.01

Tabella 5.6 Tabella riportante i valori di p ottenuti per la valvola 10 confrontando i valori di volume di rigurgito relativi ad ogni configurazione testata calcolati per le taglie 38 e 36 dell'anello con i valori di rigurgito ottenuti per la taglia 40.

	Configurazione limite	Spostamento di 3mm	Spostamento di 6mm	Spostamento di 9mm
Taglia 38	0.38	0.16	<0.01	<0.01
Taglia 36	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

Tabella 5.7 Tabella riportante i valori di p ottenuti per la valvola 11 confrontando i valori di volume di rigurgito relativi ad ogni configurazione testata calcolati per le taglie 30 e 28 dell'anello con i valori di rigurgito ottenuti per la taglia 32.

	Configurazione limite	Spostamento di 3mm	Spostamento di 6mm	Spostamento di 9mm
Taglia 30	0.42	0.22	<0.01	<0.01
Taglia 28	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

5.5.2 Analisi dei risultati

Osservando le figure 2.27 e 2.28 si può notare come per le valvole 10 e 11 la riduzione delle dimensioni dell'anello di una e due taglie provochi una diminuzione del volume di rigurgito in ogni configurazione testata. Quanto detto risulta essere statisticamente significativo per tutte le posizioni dei muscoli papillari prese in considerazione solamente per due riduzioni di taglia dell'anello mentre per la riduzione di una taglia sono statisticamente significative solo le condizioni a 6mm e 9mm di spostamento (Tabella 5.6; Tabella 5.7).

In riferimento al grafico 2.26 si osserva invece che per la valvola 9 la diminuzione del volume di rigurgito in funzione della riduzione di taglia dell'anello riscontrata per le valvole 10 e 11 avviene solo in corrispondenza della configurazione a 9mm di spostamento dei papillari. Analizzando statisticamente i dati si nota però che in corrispondenza di questa configurazione i valori sono statisticamente significativi solamente per una riduzione di due taglie dell'anello (Tabella 5.5).

I risultati ottenuti mostrano che nella maggior parte dei casi esaminati si è ottenuto quanto era lecito aspettarsi: il volume di rigurgito aumenta con lo spostamento e diminuisce riducendo la taglia dell'anello. Nonostante ciò i dati statistici non consentono di validare l'ipotesi di poter utilizzare il protocollo 3 per testare l'anello per annulooplastica. Tuttavia è necessario ricordare che sebbene sia stato utilizzato il protocollo 3, a questo è stata apportata una modifica necessaria per modificare la taglia dell'anello: il banco prova viene

aperto e la valvola viene smontata ogni volta che si deve effettuare una riduzione di taglia. Questa operazione potrebbe aver influenzato i risultati, soprattutto se si pensa che la valvola, dopo la riduzione di taglia, potrebbe non esser stata rimontata nel banco prova nella stessa posizione con il grado di accuratezza necessario. In conclusione per testare un anello per annuloplastica a geometria variabile si dovrebbe non solo perfezionare il protocollo 3, ma tenere conto di quanto detto e apportare opportune modifiche: ad esempio si potrebbe utilizzare un tessuto elastico al posto del patch utilizzato, in modo da eliminare l'operazione di smontaggio della valvola dal banco prova in fase di test.

Conclusioni e sviluppi futuri

Gli studi *in vitro* sulla valvola mitrale porcina sono volti a replicare e studiare la funzionalità della valvola in condizioni fisiologiche e ad analizzarne le alterazioni in condizioni patologiche e/o dopo una procedura di riparazione. Lo scopo di questo lavoro di tesi è stato quello di identificare un protocollo di prova affidabile e ripetibile al fine di svolgere campagne sperimentali su valvole mitrali porcine con il banco prova realizzato presso il laboratorio μ BS.

Il primo obiettivo era identificare un protocollo che consentisse di posizionare la valvola sul banco prova in modo tale da riprodurre le condizioni emodinamiche fisiologiche. Si può affermare di aver raggiunto tale obiettivo attraverso l'aggiunta di una fase preliminare di misura di alcune grandezze morfometriche di rilievo durante il procedimento di sezionamento del cuore. Queste misure sono state poi imposte nel momento in cui si è montata la valvola nel banco prova.

Va però sottolineato che tale metodologia è intrinsecamente affetta da errori non eliminabili. Tali errori sono dovuti al fatto che le misurazioni vengono fatte a mano, e a cuore integro è difficile individuare con precisione la posizione delle strutture sottovalvolari; inoltre spesso i muscoli papillari hanno una geometria complessa per cui è difficile identificare un punto della testa del papillare che costituisca un riferimento fisso.

Tuttavia, come emerso dai risultati del protocollo 2, la configurazione fisiologica, intesa come la configurazione in cui la valvola è continente e i muscoli papillari sono soggetti a forze fisiologiche, non corrisponde a una precisa posizione dei papillari, ma a un *range* di configurazioni: questo dovrebbe compensare l'errore correlato alla modalità di misura.

Poiché la valvola non è caratterizzata da un'unica configurazione fisiologica, nel momento in cui si sono dislocati i papillari a partire da questa configurazione, non si è riusciti ad indurre un rigurgito significativo in tutti i test effettuati. Ciò ha fatto ipotizzare che l'andamento del volume di rigurgito in relazione allo spostamento imposto ai papillari presenti una prima zona costante e, in corrispondenza di un punto successivamente denominato "condizione limite", un aumento della pendenza, indice del fatto che si è passati da una condizione di competenza della valvola a una di insufficienza. Il volume di

rigurgito non è stato l'unico indice considerato al fine di individuare la configurazione limite ma si è anche utilizzato il valor medio di forza in fase di diastole, che aumenta in modo importante quando viene raggiunta questa configurazione.

Di conseguenza, al fine di indurre un rigurgito valvolare significativo e crescente con lo spostamento imposto, si è resa necessaria l'identificazione di questa configurazione limite, che ha sostituito la configurazione fisiologica come configurazione di partenza dalla quale spostare i papillari.

Le progressive dislocazioni dei papillari a partire dalla configurazione limite hanno dato il risultato cercato: si sono ottenuti valori di rigurgito crescenti al crescere dello spostamento imposto, riproducendo quindi diversi gradi di severità della patologia valvolare.

Tuttavia questo protocollo presenta diversi limiti che riguardano soprattutto la ricerca della configurazione limite. Innanzitutto la sua identificazione avviene tramite un'analisi quantitativa dei dati acquisiti solo dopo che un'analisi qualitativa degli andamenti fa supporre di aver raggiunto una condizione di grave insufficienza. Questo procedimento comporta che la configurazione limite debba essere superata prima di essere individuata. In questo modo però subentrano problemi relativi ai limiti del banco prova e alla resistenza della valvola stessa: imponendo ai papillari spostamenti molto elevati i punti di sutura che ancorano il papillare al sistema di afferraggio possono cedere a causa della perdita di consistenza del tessuto muscolare e questi possono uscire dalla sede. Inoltre le corde tendinee, così sovrasollecitate, possono danneggiarsi, per cui se riportate alla configurazione limite non riescono a impedire il prolasso dei lembi.

Inoltre l'intervallo di 5mm imposto è troppo esteso: la configurazione limite potrebbe trovarsi in una posizione intermedia e con questo protocollo verrebbe approssimata eccessivamente.

Quindi, un'ulteriore passo verso l'ottimizzazione del protocollo consisterebbe nell'imporre ai papillari uno spostamento progressivo attraverso incrementi più ridotti e nell'analizzare tutte le configurazioni riprodotte utilizzando un software di acquisizione che permetta l'analisi dei dati in tempo reale e che consenta un confronto simultaneo con gli andamenti relativi alla configurazione precedente. La configurazione limite verrebbe così identificata in tempo reale, si eviterebbe di imporre alla valvola configurazioni estreme e si eviterebbero eventuali danni ai tessuti.

Oltre a un'ottimizzazione del protocollo anche il banco prova dovrebbe essere modificato nell'ottica di superare i limiti evidenziati durante questo lavoro di tesi. La modifica principale riguarda il sistema di afferraggio dei muscoli papillari, che dovrebbe consentire alle corde tendinee un'estensione il più possibile simile a quella in vivo e dovrebbe impedire al muscolo papillare di sollevarsi dal suo alloggiamento.

Il protocollo così ottimizzato, oltre a permettere lo studio della funzionalità valvolare in condizioni patologiche, consentirebbe di analizzarne le variazioni in seguito a una procedura di riparazione. I test preliminari effettuati con l'anello Cardinal hanno infatti mostrato risultati incoraggianti in questo senso. Il problema principale nell'effettuare test con questo particolare dispositivo nasce dal fatto che con questo banco prova è necessario allentare il sistema di alloggiamento della valvola ogni volta che si effettua una riduzione di taglia. Di conseguenza la valvola potrebbe non essere riposizionata nel banco prova con il grado di accuratezza necessario e quindi gli esperimenti con l'anello a diverse taglie potrebbero non essere pienamente confrontabili. Una possibile soluzione potrebbe essere l'utilizzo di un patch in tessuto elastico che permetterebbe di ridurre la taglia dell'anello senza dover allentare il sistema di alloggiamento della valvola.

Bibliografia

Aikawa K, Sheehan FH, Otto CM, Coady K, Basheim G, Bolson L. *The severity of functional mitral regurgitation depends on the shape of the mitral apparatus: A three-dimensional echo analysis.* J Heart Valve Dis 2002; 11:627-636.

Arts T, Meerbaum S, Reneman R. *Stresses in the closed mitral valve: A model study.* J Biomech. 1983;16:539-547.

Bax JJ, Braun J, Somer ST, et al. *Restrictive annuloplasty and coronary revascularization in ischemic mitral regurgitation results in reverse left ventricular remodeling.* Circulation 2004; 110 (11 suppl 1): II103-08.

Bhudia SK, McCarthy PM, Smedira NG, Lam BK, Rajeswaran J, Blackstone EH. *Edge-to-edge (Alfieri) mitral repair: results in diverse clinical settings.* Ann Thorac Surg 2004; 77(5):1598-606.

Chang B, Youn Y, Ha J, Lim S, Hong Y, Chung N. *Long-term clinical results of mitral valvuloplasty using flexible and rigid rings: a prospective and randomized study.* J Thorac Cardiovasc Surg. 2007; 133: 995–1003.

Croft LR, Jimenez JH, Gorman RC, Gorman JH, Yoganathan AP. *Efficacy of the Edge to Edge repair in the setting of a dilated ventricle: an in vitro study.* Ann Thoracic Surg 2007;84:1578-84

Dagum P, Timek TA, Green R, Lai D, Daughters GT, Liang DH, Ingels NB, Miller DC. *Three-dimensional geometric comparison of partial and complete flexible mitral annuloplasty rings.* J Thorac Cardiovasc Surg 2001; 11:665-673

David TE, Komeda M, Pollick C, Burns RJ. *Mitral valve annuloplasty: the effect of the type on left ventricular function.* Ann Thorac Surg. 1989; 47: 524–527.

Davis PKB, Kinmonth JB. *The movements of the annulus of the mitral valve*. J Cardiovasc Surg 1963; 4:427-431.

Duran C. *Distribution of chordae tendineae tension in the porcine mitral valve*. J Heart Valve Dis 2002; 11:335-336.

Duran CM, Pekar F. *Techniques for ensuring the correct length of new mitral chords*. J Heart Valve Dis 2003 Mar;12(2):156-61.

E. Agricola, M. Oppizzi, F. Maisano, M. De Bonis, A.F. Schinkel, L. Torracca, A. Margonato, G. Melisurgo and O. Alfieri, *Echocardiographic classification of chronic ischemic mitral regurgitation caused by restricted motion according to tethering pattern*, Eur J Echocardiogr 5 (2004), pp. 326–334.

Einstein DR, Kunzelman KS, Reinhall PG, Nicosia MA, Cochran RP. *Non-linear fluid-coupled computational model of the mitral valve*. J Heart Valve Dis. 2005 May;14(3):376-85.

Erek E, Padala M, Pekkan K, Jimenez J, Yalcinba YK, Salihoglu E, Sarioglu İ, AP Yoganathan. *Mitral web- A new concept for mitral valve repair: Improved engineering design and in vitro studies*. J Heart Valve Disease 2009; 18:300-306

Flachskampf FA, Chandra S, Gaddipatti A, Levine RA, Weyman AE, Amelig W, Hanrath P, Thomas JD. *Analysis of shape and motion of the mitral annulus in subjects with and without cardiomyopathy by echocardiographic 3-dimensional reconstruction*. Am Soc Echocardiogr 2000;13:277-287.

Fontaine AA, He S, Stadter R, Ellis JT, Levine RA, AP Yoganathan. *In vitro assessment of prosthetic valve function in mitral valve replacement with chordal preservation techniques*. J Herat Disease 1996;5:186-198

Fundaro P, Lemma M, Di Mattia DG, Santoli C. *Repair of anterior leaflet prolapse: chordal transfer versus chordal shortening. Which is better?* J Thorac Cardiovasc Surg 1996 Aug; 112(2):287-91; discussion 291-2.

Fung YC. *Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues*. Springer-Verlag: New York, NY 1981.

Glasson JR, Komeda M, Daughters GT, Niczyporuk MA, Bolger AF, Ingels NB, Miller DC. *Three-dimensional regional dynamics of the mitral annulus during left ventricular ejection*. J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 111:574-585.

Gorman JH III, Gorman RC, Jackson Bm, Hiramatsu Y, Gikakis N, Kelley ST, Sutton MG, Plappert T, Edmunds LH. *Distortions of the mitral valve in acute ischemic mitral regurgitation*. Ann Thorac Surg 1997; 64:1026-31.

Gorman JH III, Krishanu BG, Streicher JT, Gorman RC, Jackson Bm, Ratcliffe MB, Bogen DK, Edmunds LH. *Dynamic three-dimensional imaging of the mitral valve and left ventricle by rapid sonomicrometry array localization*. J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 112:712-26.

Grashow JS, Yoganathan AP, Sacks MS. *Biaxial stress-stretch behavior of the mitral valve anterior leaflet at physiologic strain rates*. Ann Biomed Eng. 2006 Feb;34(2):315-25.

He S, Fontaine AA, Schwammental E, Yoganathan AP, Levine RA. *Integrated mechanism for functional mitral regurgitation: leaflet restriction versus coaptation force: in vitro studies*. Circulation 1997; 16;96(6):1826-1834.

He S, Lemmon J.D., Weston M.W., Jensen M.O., Levine R.A., and Yoganathan A.P. 1999. *Mitral valve compensation for annular dilatation: In vitro study into the mechanisms of functional mitral regurgitation with an adjustable annulus model*. J. Heart Valve Disease. 8:294-302.

He S, Weston MW, Lemmon J, Jensen M, Levine RA, Yoganathan AP. *Geometric distribution of chordae tendinae: important anatomic feature in mitral valve function.* J Heart Disease 2000;9:495-501

He Z, Bhattacharya S. *Papillary muscles and annular size effect on anterior and posterior annulus tension of the mitral valve: An insight into annulus dilatation.* J Biomech 2008;2524-2532

He Z, Ritchie J, Grashow JS, Sacks MS, Yoganathan AP. *In vitro dynamic strain behavior of the mitral valve posterior leaflet.* J. Biomech. Eng 2005, 127 (3), 504-511.

He ZM, Sacks MS, Baijens L, Wanant S, Shah P, Yoganathan AP. *Effects of papillary muscle position on the in vitro dynamic strain on the porcine mitral valve.* JHVD 2003; v.12: 488-494.

Hung J, Guerrero JL, Handschumacher MD, Supple G, Sullivan S, Levine RA. *Reverse ventricular remodeling reduces ischemic mitral regurgitation: echo-guided device application in the beating heart.* Circulation 2002; 106: 2594-600.

Jensen MO, Fontaine, A, Yoganathan AP. *Improved In Vitro Quantification of the Force Exerted by the Papillary Muscle on the Left Ventricular Wall Three Dimensional Force Vector Measurement System.* Ann Biomed Eng 2000;10:111-124.

Jensen MO, Jensen H, Nielsen SL, Smerup M, Johansen, AP Yoganathan, Nygaard H, Hasenkam M. *What forces act on a flat rigid mitral annuloplasty ring?* J Heart Disease 2008; 17:267-275.

Jensen MO, Jensen MD, Smerup M, Levine R, Yoganathan , Nygaard H, Hasenkam JM, Nielsen SL. *Saddle-shaped mitral valve annuloplasty rings experience lower forces compared with flat rings.* Circulation 2008;118[suppl 1]:S250-S255.

Jimenez JH, Forbess J, Croft LR, Small L, He Z, Yoganathan AP. Effect of annular size, transmitral pressure, and mitral flow rate on the Edge-to-Edge repair: an in vitro study. *Ann thorac Surg*

Jimenez JH, Shasan WL, Padala M, He Z, Sacks, Gorman RC, Gorman JH, Yoganathan AP. *A saddle-shaped annulus reduces systolic strain on the central region of the mitral valve anterior leaflet.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;134:1562-8

Jimenez JH, Sorensen D, He Z, He S, Yoganathan AP. *Effects of a saddle shaped annulus on mitral valve function and papillary muscle position.* *Annals of Biomedical Engineering* 2003, v31: 1171-1181.

Jimenez JH, Sorensen D, He Z, Ritchie J, Yoganathan AP. *Effects of papillary muscles position on chordal force distribution.* *Heart Valve Dis* 2005;14:295-302.

Jimenez JH, Sorensen D, He Z, Ritchie J, Yoganathan AP. *Mitral valve functioning and chordal force distribution using a flexible model: an in vitro study.* *Ann Biomec Eng* 2005;557-66

Kaplan SR, Bashein G, Sheehan FH, Legget ME, Munt B, Ning Li X, Sirvarajan M, Bolson EL, Zeppa M, Martin RW. *Three-dimensional echocardiographic assessment of annular shape changes in the normal and regurgitant mitral valve.* *Amer Heart Jour* 2000; 139: 243-250.

Kinnaird TD, Munt BI, Ignaszewski AP, Abel JG, Thompson RC. *Edge-to-edge repair for functional mitral regurgitation: an echocardiographic study of the hemodynamic consequences.* *J Heart Valve Dis* 2003;12(3):280-6.

Komoda T, Hetzer R, Uyama C. *Mitral annular function assessed by 3D imaging for mitral valve surgery.* *J Heart Valve Dis* 1994; 3:483-90.

Kumanohoso T, Otsuji Y, Yoshifuku S, et al. *Mechanism of higher incidence of ischemic mitral regurgitation in patients with inferior myocardial infarction: Quantitative analysis of left ventricular and mitral valve geometry in 103 patients with prior myocardial infarction.* J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 125: 135-43.

Kunzelman KS, Reimink MS, Cochran RP. *Flexible versus rigid ring annuloplasty for mitral valve annular dilatation: a finite element model.* J Heart Valve Dis. 1998; 7: 108–116.

Lancellotti, Lebrun, Pierard. *Determinants of exercises-induced changes in mitral regurgitation in patient with coronary artery disease and left ventricular dysfunction.* J American College of Cardiology 2003;1921-1927

Liel-Cohen N, Guerrero JL, Otsuji Y. *Design of a new surgical approach for ventricular remodeling to relieve ischemic mitral regurgitation: insights from three-dimensional echocardiography.* Circulation 2000;101:2756-2763.

Lim KO, Bouchner DP. *Mechanical properties of human mitral valve chordae tendineae: Variation with size and strain rate.* Can. J. Physiol. Pharmacol 1975, 53, 330-39.

Lomholt M, Nielsen SL, Hansen SB, Andersen NT, Hasenkam JM. *Differential tension between secondary and primary mitral chordae in acute in-vivo porcine model.* J Heart valve Dis 2002; 11:337-345.

M.A. Borger, P.M. Murphy, A. Alam, S. Fazel, M. Maganti, S. Armstrong, V. Rao and T.E. David, *Initial results of the chordal-cutting operation for ischemic mitral regurgitation,* J Thorac Cardiovasc Surg 133 (2007), pp. 1483–1492.

Madu EC, Baugh DS, Cruz IA, Johns C. *Left ventricular papillary muscle morphology and function in left ventricular hypertrophy and left ventricular dysfunction.* Med Sci Monit 2001; 7(6):1212-1218.

Maisano F, Caldarola A, Blasio A, De Bonis M, La Canna G, Alfieri O. *Midterm results of edge-to-edge mitral valve repair without annuloplasty*. J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126(6):1987-97.

McGee EC, Gillinov AM, Blackstone EH, Rajeswaran J, Cohen G, Najam F, Shiota T, Sabik JF, Lytle BW, McCarthy PM, Cosgrove DM. *Recurrent mitral regurgitation after annuloplasty for functional ischemic mitral regurgitation*. J Thorac Cardiovasc Surg. 2004; 128: 916–924.

Messas E, Guerrero JL, Handschumacher MD, Conrad C, Chow C, Sullivan S, Yoganathan AP, Levine RA. *Chordal cutting, a new therapeutic approach for ischemic mitral regurgitation*. Circulation 2001; 104:1958-1963.

Moanie SL, Guy S, Gorman JH, Plappert T, Jackson B, St. John-Sutton MG, Edmunds HL, Gorman RC. *Infarct restraint attenuates remodeling and reduces chronic ischemic mitral regurgitation after postero-lateral infarction*. Ann Thorac Surg 2002; 74:444-449.

Mohty D, Orszulak TA, Schaff HV, Avierinos JF, Tajik JA, Enriquez-Sarano M. *Very long-term survival and durability of mitral valve repair for mitral valve prolapse*. Circulation 2001; 104 (12 suppl 1): I1-I7.

Nielsen SL, Nygaard H, Fontaine AA. *Chordal force distribution determines systolic mitral leaflet configuration and severity of functional mitral regurgitation*. J Am Coll Cardiol 1999; 33(3):843-853.

Nielsen SL, Nygaard H, Mandrup Fontaine AA, Hasenkam JM, He S, Yoganathan. *Mechanism of incomplete mitral leaflet coaptation-Interaction of chordal restraint and changes in mitral leaflet coaptation geometry*. J Biomech 2002(14):596-608

Nielsen SL, Timek TA, Lai DT, Daughters GT, Liang D, Hasenkam JM, Ingels NB, Miller DC. *Edge-to-edge mitral repair: tension on the approximating suture and leaflet deformation during acute ischemic mitral regurgitation in the ovine heart*. Circulation 2001; 104(12 Suppl 1):I29-35.

Ormison JA, Shah P, Tei C, Wong M. *Size and motion of the mitral valve annulus in man.* Circulation 1981;64:113-120.

Pai RG, Tanimoto M, Jintapakorn W, Azevedo J, Pandian NG, Shah PM. *Volume-rendered three-dimensional dynamic anatomy of the mitral annulus using transesophageal echocardiographic technique.* J Heart Valve Dis 1995; 4:625-627.

Padala M, Hutchinson RA, Croft L, Jimenez JH, Gorman RC, Gorman JH, Sacks MS, AP Yoganathan *Saddle shape of the mitral annulus reduces systolic strains on the P2 segment of the posterior mitral leaflet.* ANN Thorac Surg 2009;88:1499-505

Padala M, Vasilyev NV, Owen JW, Jimenez JH, Lakshmi PD, del Nido P, Yoganathan AP. *Cleft closure and undersizing annuloplasty improve mitral repair in atrioventricular canal defects.* J Thor Cardiovasc Surg 2008;(136); 1243-1249

Parish LM, Jackson BM, Enomoto Y, Gorman RC, Gorman JH 3rd. *The dynamic anterior mitral annulus.* Ann Thorac Surg. 2004 Oct;78(4):1248-55

Pavesi A. *Sviluppo di un banco prova pulsatile per l'analisi in vitro della valvola mitrale in condizioni morfometriche controllate.* Tesi di laurea specialistica, Anno 2006-07

Pinto JG, Fung YC. *Mechanical properties of the heart muscle in the passive state.*J. Biomech 1973, 6, 596-616.

Rankin JS, Orozco RE, Rodgers TL, Alfery DD, Glower DD. *"Adjustable" artificial chordal replacement for repair of mitral valve prolapse.* Ann Thorac Surg 2006 Apr; 81(4):1526-8.

Ritchie J, Jimenez J, He Z, Sacks MS, Yoganathan AP. *The material properties of the native porcine mitral valve chordate tendinae: An in vitro investigation.* Journal of Biomechanics (39)2006,1129-1135

Ritchie J, Warnock JN, Yoganathan AP. *Structural characterization of the chordae tendineae in native porcine mitral valves*. Ann. Thorac. Surg 2005, 80 (1), 189-97.

Rodriguez F, Langer F, Harrington KB, Tibayan FA, Zasio MK, Liang D, Daughters GT, Ingels NB, Miller DC. *Cutting second-order chords does not prevent acute ischemic mitral regurgitation*. Circulation. 2004 Sep 14;110(11 Suppl 1):II91-7.

Rusted IE, Schiefley CH, Edwards JE. *Studies of the mitral valve: I. Anatomical features of the normal mitral valve and associated structures*. Circulation 1952; 6,(6):825-831.

Sacks MS, He ZM, Baijens L, Wanant S, Shah P, Sugimoto H, Yoganathan AP. *Surface strains in the anterior leaflet of the functioning mitral valve*. Annals of Biomedical Engineering 2002; v30: 1281-1290.

Salgo IS, Gorman JH III, Gorman RC, Jackson BM, Bowen FW, Plappert, T, Sutton MG, Edmunds LH. *Effect of annular shape on leaflet curvature in reducing mitral leaflet stress*. Circulation 2002; 106:711-717.

Shi Y, He Z. Hemodynamics of the mitral valve under Edge-to-Edge repair: an in vitro steady flow study, J Biomechanical Engineering 2009 (131) 1-6

Shi Y, Vesely I. *Fabrication of mitral valve chordae by directed collagen gel shrinkage*. Tissue Eng. 2003 Dec;9(6):1233-42.

Smedira NG, Selman R, Cosgrove DM, McCarthy PM, Lytle BW, Taylor PC, Apperson-Hansen C, Stewart RW, Loop FD. *Repair of anterior leaflet prolapse: chordal transfer is superior to chordal shortening*. J Thorac Cardiovasc Surg 1997 Dec; 114(6):1125-7.

Spoor MT, Geltz A, Bolling SF. *Flexible versus nonflexible mitral valve rings for congestive heart failure: differential durability of repair*. Circulation. 2006; 114 (suppl D): I-67-I-71.

Suri RM, Schaff HV, Dearani JA, et al. *Recurrent mitral regurgitation after repair: should the mitral valve be re-repaired?* J Thorac Cardiovasc Surg 2006; 132: 1390-7.

Tahta SA, Oury JH, Maxwell JM, Hiro SP, Duran CM. *Outcome after mitral valve repair for functional ischemic mitral regurgitation.* J Heart Valve Dis. 2002; 11: 11–18.

Taylor PM, Allen SP, Yacoub MH. *Phenotypic and functional characterization of interstitial cells from human heart valves, pericardium and skin.* J Heart Valve Dis 2000 Jan; 9(1): 150-158.

Tibayan FA, Rodriguez F, Langer F, Zasio MK, Bailey L, Liang D, Daughters GT, Ingels NB, Jr Miller DC. *Does septal-lateral annular cinching work for chronic ischemic mitral regurgitation?* JTCVS 2004 Mar;127(3):654-663.

Timek TA, Lai DT, Liang D, Tibayan F, Langer F, Rodriguez F, Daughters G.T, Ingels NB, Jr Miller DC. *Effects of paracommissural septal-lateral annular cinching on acute ischemic mitral regurgitation.* Circulation 2004 Sep 14;110(11 Suppl 1):II79-1184.

Timek TA, Lai DT, Tibayan F, Liang D, Daughters GT, Dagum P, Ingels NB, Jr Miller DC. *Septal-lateral annular cinching abolishes acute ischemic mitral regurgitation.* JTCVS 2002 May;123(5):881-888.

Timek TA, Lai DT, Tibayan FA, Daughters GT, Liang D, Dagum P, Ingels NB, Jr Miller DC. *Septal-lateral annular cinching ('SLAC) reduces mitral annular size without perturbing normal annular dynamics.* J HVD 2002 Jan;11(1):2-9; discussion 10.

Timek TA, Miller DC. *Experimental and clinical assessment of mitral annular area and dynamics: what are we actually measuring?* Ann. Thorac Surg 2001;72:966-974.

Timek TA, Nielsen SL, Lai DT, Tibayan F, Liang D, Daughters GT, Beineke P, Hastie T, Ingels NB Jr, Miller DC. *Mitral annular size predicts Alfieri stitch tension in mitral edge-to-edge repair.* J Heart Valve Dis 2004;13(2):165-73.

Timek TA, Nielsen SL, Lai DT, Tibayan FA, Liang D, Rodriguez F, Daughters GT, Ingels NB, Jr Miller DC. *Edge to edge mitral valve repair without ring annuloplasty for acute ischemic mitral regurgitation*. Circulation 2003 Sep 9, 108 Suppl 1: II 122-127.

Timek TA, Nielsen SL, Liang D, Lai DT, Dagum P, Daughters GT, Ingels NB Jr, Miller DC. *Edge-to-edge mitral repair: gradients and three-dimensional annular dynamics in vivo during inotropic stimulation*. Eur J Cardiothorac Surg 2001;19(4):431

Timek TA, Nielsen SL, Liang D, Lai DT, Dagum P, Daughters GT, Ingels NB Jr, Miller DC. *Edge-to-edge mitral repair: gradients and three-dimensional annular dynamics in vivo during inotropic stimulation*. Eur J Cardiothorac Surg 2001;19(4):431-7.

Vismara R. *Studio in vitro dell'emodinamica cardiovascolare*. Tesi di dottorato XIX Ciclo Anno, 2006-07

Votta E, Maisano F, Soncini M, Redaelli A, Montevecchi FM, Alfieri O. *3-D computational analysis of the stress distribution on the leaflets after edge-to-edge repair of mitral regurgitation*. J Heart Valve Dis 2002;11(6):810-22.

Watanabe N, Ogasawara Y, Yamaura Y, et al. *Quantitation of mitral valve tenting in ischemic mitral regurgitation by transthoracic real-time three-dimensional echocardiography*. J Am Coll Cardiol 2005; 45: 763-69.

Weyman AE, *Principles and Practices of Echocardiography*; Lea & Febiger: Philadelphia, PA 1994.

Yamaura Y, Yoshikawa J, Yoshida K, Hozumi T, Akasaka T, Okada Y. *Threedimensional analysis of configuration and dynamics in patients with an annuloplasty ring by multiplane transesophageal echocardiography: comparison between flexible and rigid annuloplasty rings*. J Heart Valve Dis. 1995; 4: 618–622.

Yiu S, Enriquez-Sarano M, Tribouillois C, Seward J, Tajik A. *Determinants of the degree of functional mitral regurgitation in patients with systolic left ventricular dysfunction: a quantitative clinical study.* Circulation 2000; 102: 1400-06.

Appendice A – Specifiche silicone Sylgard® 184

DOW CORNING

Product Information Solar

Sylgard® 184 Silicone Elastomer

FEATURES

- Transparent
- Cures to flexible elastomer
- Constant cure rate, regardless of sectional thickness or degree of confinement
- Service range of -45 to 200°C (-49 to 392°F)
- No post cure required
- Two part, 10:1 mix
- RT/HA cure
- Minimal shrinkage
- No exotherm during cure
- No solvents or cure byproducts
- Repairable
- Good dielectric properties
- Deep section cure
- UL 94 V1, V0
- UL RTI 130°C (266°F)

COMPOSITION

- Two-part silicone elastomer supplied as flowable liquid

Two-part silicone that cures to a flexible elastomer for protection of electrical and electronic devices in solar applications

APPLICATIONS

- Protection of electrical/electronic devices.
- General potting applications including power supplies, connectors, sensors, industrial controls, transformers, amplifiers, high voltage resistor packs, and relays; adhesive/encapsulant for solar cells.

TYPICAL PROPERTIES

Specification Writers: Please contact your local Dow Corning sales office or your Global Dow Corning contact before writing specifications on this product.

Test	Unit	Result
Mix Ratio		10:1
Color		Clear
Viscosity	centipoise or mPa.s	3900
Durometer, Shore A		50
Specific Gravity		1.03
Working Time at RT	min	>2 hours
Thermal Conductivity	Watt/meter-°K	0.2
	cal/cm-sec °C	4.3 x 10 ⁻⁴
Linear Coefficient of Thermal Expansion	µm/m-°C or ppm	310
UL Flammability Classification		94 V1, V0
UL Temperature Index, Electrical/ Mechanical	°C	130/130
Dielectric Strength	volts/mil	540
	kV/mm	21.2
Dielectric Constant at 100 Hz		2.7
Dielectric Constant at 100 kHz		2.7
Volume Resistivity	ohm-cm	1.2 x 10 ¹⁴
Dissipation Factor at 100 Hz		<0.001
Dissipation Factor at 100 kHz		<0.001

DESCRIPTION

Sylgard® 184 Silicone Elastomer is supplied as two-part liquid component kits comprised of Part A/Part B to be mixed in a 10:1 ratio by weight or volume. It is suitable for manual mixing or automated mixing and dispensing.

When liquid components are thoroughly mixed, the mixture cures to a flexible elastomer, which is suited for the protection of electrical/electronic devices in solar applications.

HOW TO USE

Mixing

Sylgard 184 Silicone Elastomer is supplied in two parts as lot-matched base and curing agent that are mixed in a ratio of 10 parts base to one part curing agent, by weight. For further information, consult your local Dow Corning representative.

Pot Life/Working Time

Cure reaction begins with the mixing process. Initially, cure is evidenced by a gradual increase in viscosity, followed by gelation and conversion

to a solid elastomer. Pot life is defined as the time required for viscosity to double after Parts A and B (base and curing agent) are mixed. *Sylgard* 184 Silicone Elastomer has a pot life of >2 hours.

Processing and Curing

Thoroughly mixed *Sylgard* 184 Silicone Elastomer may be poured/dispensed directly into the container in which it is to be cured. Care should be taken to minimize air entrapment.

When practical, pouring/dispensing should be done under vacuum, particularly if the component being potted or encapsulated has many small voids. If this technique cannot be used, the unit should be evacuated after the silicone encapsulant has been poured/dispensed.

Sylgard 184 Silicone Elastomer may be either room temperature (25°C/77°F) or heat cured following this schedule:

~48 hours at room temperature
45 minutes at 100°C (212°F)
20 minutes at 125°C (257°F)
10 minutes at 150°C (302°F)

These data are believed to be typical and should be used as initial estimates of cure times. Times will vary slightly from batch to batch and can be longer or shorter due to thermal mass of your parts and your heating ramp rate. Pretesting is recommended to confirm adequate cure for your application.

Sylgard 184 Silicone Elastomer can be placed in service immediately following the completion of the cure schedule. No post cure is required.

SURFACE PREPARATION

In applications requiring adhesion, priming is required. For best results, the primer should be applied in a very thin, uniform coating and then wiped off after application. The surface should be thoroughly air-dried prior to application of the silicone elastomer. Instructions for primer usage can be found in the Dow Corning literature, "How To Use *Dow Corning* Primers and Adhesion Promoters" (Form No. 10-366) and in the information sheets specific to the individual primers.

USEFUL TEMPERATURE RANGES

For most uses, *Sylgard* 184 Silicone Elastomer should be operational over a temperature range of -45 to 200°C (-49 to 392°F) for long periods of time. However, at both the low and high temperature ends of the spectrum, behavior of the materials and performance in particular applications can become more complex and require additional considerations.

For low-temperature performance, thermal cycling to conditions such as -55°C (-67°F) may be possible, but performance should be verified for your parts or assemblies. Factors that may influence performance are configuration and stress sensitivity of components, cooling rates and hold times, and prior temperature history.

At the high-temperature end, the durability of the cured silicone elastomer is time- and temperature-dependent. As expected, the higher the temperature, the shorter the time the material will remain usable.

COMPATIBILITY

Certain materials, chemicals, curing agents, and plasticizers can inhibit the cure of *Sylgard* 184 Silicone Elastomer. Most notable of these include:

- Organotin and other organometallic compounds
- Silicone rubber containing organotin catalyst
- Sulfur, polysulfides, polysulfones, or other sulfur-containing materials
- Amines, urethanes, or amine-containing materials
- Unsaturated hydrocarbon plasticizers
- Some solder flux residues

If a substrate or material is questionable with respect to potentially causing inhibition of cure, it is recommended that a small-scale compatibility test be run to ascertain suitability in a given application. The presence of liquid or uncured product at the interface between the questionable substrate and the cured gel indicates incompatibility and inhibition of cure.

HANDLING PRECAUTIONS

PRODUCT SAFETY INFORMATION REQUIRED FOR SAFE USE IS NOT INCLUDED IN THIS DOCUMENT. BEFORE HANDLING, READ PRODUCT AND MATERIAL SAFETY DATA SHEETS AND CONTAINER LABELS FOR SAFE USE, PHYSICAL, AND HEALTH HAZARD INFORMATION. THE MATERIAL SAFETY DATA SHEET IS AVAILABLE ON THE DOW CORNING WEBSITE AT WWW.DOWCORNING.COM, OR FROM YOUR DOW CORNING REPRESENTATIVE, OR DISTRIBUTOR, OR BY CALLING YOUR GLOBAL DOW CORNING CONNECTION.

USABLE LIFE AND STORAGE

Sylgard 184 Silicone Elastomer has a shelf life of 24 months from date of manufacture at room temperature.

For best results, *Sylgard* 184 Silicone Elastomer should be stored at or below 25°C (77°F). Special precautions must be taken to prevent moisture from contacting this material. Containers should be kept tightly closed and head or air space minimized. Partially filled containers should be purged with dry air or other gases, such as nitrogen.

PACKAGING

Sylgard 184 Silicone Elastomer is supplied in nominal 0.45-, 3.6-, 18- and 200-kg (1-, 8-, 40- and 440-lb) containers, net weight. Packaging options may vary.

Consult Dow Corning Customer Service at (989) 496-6000 for additional packaging options.

LIMITATIONS

This product is neither tested nor represented as suitable for medical or pharmaceutical uses.

HEALTH AND ENVIRONMENTAL INFORMATION

To support customers in their product safety needs, Dow Corning has an extensive Product Stewardship organ-

ization and a team of Product Safety and Regulatory Compliance (PS&RC) specialists available in each area.

For further information, please see our website, www.dowcorning.com, or consult your local Dow Corning representative.

LIMITED WARRANTY INFORMATION – PLEASE READ CAREFULLY

The information contained herein is offered in good faith and is believed to be accurate. However, because conditions and methods of use of our products are beyond our control, this

information should not be used in substitution for customer's tests to ensure that Dow Corning's products are safe, effective, and fully satisfactory for the intended end use. Suggestions of use shall not be taken as inducements to infringe any patent.

Dow Corning's sole warranty is that the product will meet the Dow Corning sales specifications in effect at the time of shipment.

Your exclusive remedy for breach of such warranty is limited to refund of purchase price or replacement of any

product shown to be other than as warranted.

DOW CORNING SPECIFICALLY DISCLAIMS ANY OTHER EXPRESS OR IMPLIED WARRANTY OF FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE OR MERCHANTABILITY.

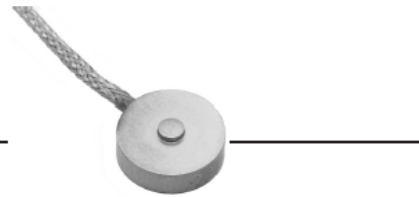
DOW CORNING DISCLAIMS LIABILITY FOR ANY INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES.

Appendice B – Specifiche celle di carico Honeywell

Honeywell

Model 13

Subminiature Load Cell



DESCRIPTION

Model 13 (compression only) subminiature load cell is designed to measure load ranges from 150 g to 1000 lb. With subminiature dimensions, including diameters from 0.38 in to 0.75 in and heights of 0.13 in to 0.25 in, these units are easily incorporated into systems having limited space. Model 13 combines high

frequency response and low deflection to achieve a combined non-linearity and hysteresis of 0.25 % to 0.5 % full scale. A balance module is included in the load cell's lead wire cable for temperature compensation and should not be removed.

FEATURES

- 150 g to 1000 lb
- 0.7 % accuracy
- mV/V output
- Subminiature design
- Single diaphragm construction

Model 13

PERFORMANCE SPECIFICATIONS

Characteristic	Measure
Load ranges ^a	150 g, 250 g, 500 g, 1000 g, 5 lb, 10 lb, 25 lb, 50 lb, 100 lb, 250 lb, 500 lb, 1000 lb
Linearity	±0.5 % full scale
Hysteresis	±0.5 % full scale
Non-repeatability	±0.1 % full scale
Tolerance on output 150 g to 500 g	15 mV/V (nominal)
Tolerance on output 1000 g	1.5 mV/V (nominal)
Tolerance on output 5 lb to 1000 lb	2 mV/V (nominal)
Operation	Compression only
Resolution	Infinite

ENVIRONMENTAL SPECIFICATIONS

Characteristic	Measure
Temperature, operating	-54 °C to 121 °C [-65 °F to 250 °F]
Temperature, compensated	15 °C to 71 °C [60 °F to 160 °F]
Temperature effect, zero	0.01 % full scale/°F
Temperature effect, span	0.02 % reading/°F

ELECTRICAL SPECIFICATIONS

Characteristic	Measure
Strain gage type 150 g to 500 g	Semiconductor
Strain gage type 1000 g to 1000 lb	Bonded foil
Excitation (calibration)	5 Vdc
Insulation resistance	5000 mOhm @ 50 Vdc
Bridge resistance (tolerance) 150 g to 500 g	500 ohm (nominal)
Bridge resistance (tolerance) 1000 g to 1000 lb	350 ohm (nominal)
Zero balance (tolerance)	±3 % of full scale (nominal)
Shunt calibration data	Included
Electrical termination (std)	1.83 m [5 ft] integral cable with balance board ^b

MECHANICAL SPECIFICATIONS

Characteristic	Measure
Maximum allowable load	See table
Weight	See table
Material	Stainless steel
Deflection @ full scale	See table

RANGE CODES

Range codes	Range
AL	150 g
AN	250 g
AP	500 g
AR	1000 g
AT	5 lb
AV	10 lb
BL	25 lb
BN	50 lb
BR	100 lb
CN	250 lb
CR	500 lb
CV	1000 lb

WIRING CODES

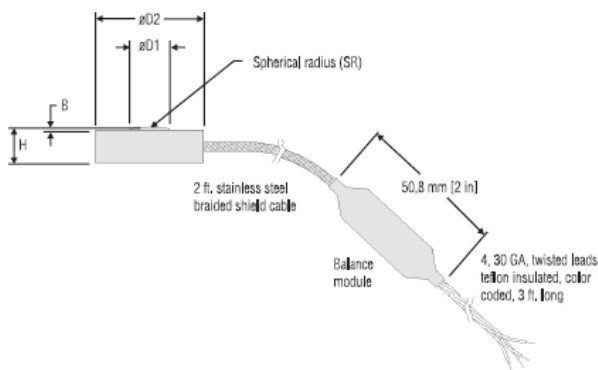
Cable	Unamplified
Red	(+) excitation
Black	(-) excitation
Green	(-) output
White	(+) output

DEFLECTIONS AND RINGING FREQUENCIES

Capacity (lb)	Deflection at full scale (10 ⁻³ in)	Weight	Weight with cable	Max. allowable load ¹ (% FS)
150 g	0.06	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	500
250 g	0.06	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	500
500 g	0.08	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	500
1000 g	0.05	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	150
5 lb	0.5	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	150
10 lb	0.4	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	150
25 lb	0.4	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	150
50 lb	0.4	1 g [0.002 lb]	9 g [0.019 lb]	150
100 lb	0.4	3 g [0.006 lb]	11 g [0.024 lb]	150
250 lb	0.5	3 g [0.006 lb]	11 g [0.024 lb]	150
500 lb	0.5	10 g [0.022 lb]	18 g [0.039 lb]	150
1000 lb	0.6	10 g [0.022 lb]	18 g [0.039 lb]	150

MOUNTING DIMENSIONS

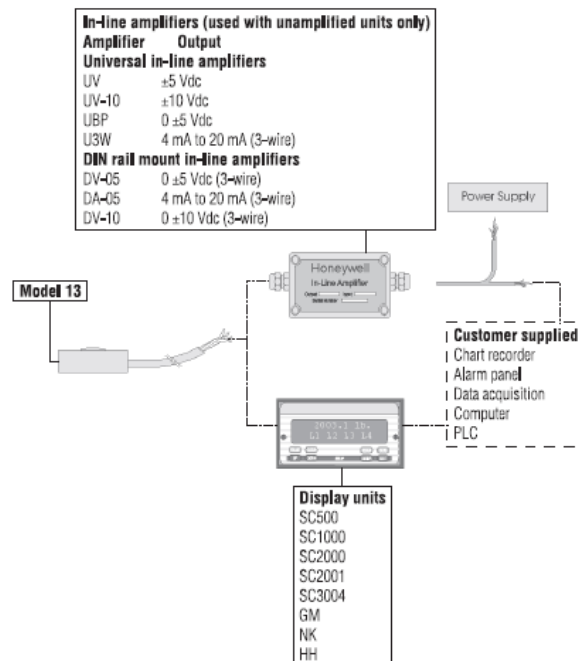
Ranges	D1	D2	H	B	SR
150, 250, 500, 1000 g; 5, 10, 25, 50 lb	2,29 mm [0.09 in]	9,65 mm [0.38 in]	3,3 mm [0.13 in]	0,69 mm [0.027 in]	6,35 mm [0.25 in]
100, 250 lb	3,05 mm [0.12]	12,7 mm [0.50 in]	3,81 mm [0.15 in]	0,51 mm [0.020 in]	12,7 mm [0.50 in]
500 lb, 1000 lb	6,35 mm [0.25 in]	19,05 mm [0.75]	6,35 mm [0.25 in]	0,64 mm [0.025 in]	12,7 mm [0.50 in]



OPTION CODES

	Many range/option combinations are available in our quick-ship and fast-track manufacture programs. Please see http://sensing.honeywell.com/TMsensor-ship for updated listings.	
Load range	150, 250, 500 g, 1000 g; 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 lb	
Temperature compensation	1a. 60 °F to 160 °F 1b. 30 °F to 130 °F 1c. 0 °F to 185 °F 1d. -20 °F to 200 °F	1e. -20 °F to 200 °F 1j. 0 °C to 50 °C 1k. -20 °C to 85 °C 1m. -25 ° to 110 °C
Internal amplifiers	2u. Unamplified, mV/V output	
Overload stops	4a. Overload stops	
Electrical termination	5 ft integral cable with balance board ³ 6v. Phoenix connector on end of cable 15d. Connector on end of cable	
Special calibration	9a. 10 point (5 up/5 down) 20 % increments @ 68 °F 9b. 20 point (10 up/10 down) 10 % increments @ 68 °F	
Shock and vibration	44a. Shock and vibration resistance	

TYPICAL SYSTEM DIAGRAM



Model 13

Subminiature Load Cell

NOTES

1. Allowable maximum loads – maximum load to be applied without damage.² Loads described allow for 100 % full scale axial loading with the bending loads specified. Torque loading maximum is without axial or other load. For any other combination, consult factory.
2. Without damage - loading to this level will not cause excessive zero shift or performance degradation. The user must consider fatigue life for long term use and structural integrity. All structurally critical applications (overhead loading, etc.) should always be designed with safety redundant load paths.
3. A small, 2 in circuit board is included in the cable, 2 ft from the load cell. Do not remove this board.
4. Only for ranges greater-than-or-equal-to 1000 g.
5. Specifications may vary with this option.
6. This unit calibrated to Imperial (non-Metric) units.

Find out more

Honeywell serves its customers through a worldwide network of sales offices, representatives and distributors. For application assistance, current specifications, pricing or name of the nearest Authorized Distributor, contact your local sales office. To learn more about Honeywell's test and measurement products, call **+1-614-850-5000**, visit **www.honeywell.com/sensotec**, or e-mail inquiries to **info.tm@honeywell.com**

Sensing and Control
Honeywell
1985 Douglas Drive North
Golden Valley, MN 55422
www.honeywell.com

Warranty. Honeywell warrants goods of its manufacture as being free of defective materials and faulty workmanship. Honeywell's standard product warranty applies unless agreed to otherwise by Honeywell in writing; please refer to your order acknowledgement or consult your local sales office for specific warranty details. If warranted goods are returned to Honeywell during the period of coverage, Honeywell will repair or replace, at its option, without charge those items it finds defective. **The foregoing is buyer's sole remedy and is in lieu of all warranties, expressed or implied, including those of merchantability and fitness for a particular purpose. In no event shall Honeywell be liable for consequential, special, or indirect damages.**

While we provide application assistance personally, through our literature and the Honeywell web site, it is up to the customer to determine the suitability of the product in the application.

WARNING **PERSONAL INJURY**

- DO NOT USE these products as safety or emergency stop devices or in any other application where failure of the product could result in personal injury.

Failure to comply with these instructions could result in death or serious injury.

WARNING **MISUSE OF DOCUMENTATION**

- The information presented in this datasheet is for reference only. DO NOT USE this document as product installation information.
- Complete installation, operation and maintenance information is provided in the instructions supplied with each product.

Failure to comply with these instructions could result in death or serious injury.

Honeywell

008641-2-EN ILS0 GLO
April 2009
Copyright © 2009 Honeywell International Inc. All rights reserved.

Appendice C – Specifiche silicone NuSil



Creative Partners in a Material World

NuSil Technology
1050 Cindy Lane • Carpinteria, CA 93013
805/684-8780 • 805/566-9905 Fax
www.nusil.com

An ISO 9001 Certified Company

MED-6640

Addition Cure High Tear Silicone Dispersion

Product Profile

Description

- Two-part medium viscosity silicone elastomer dispersed in xylene
- 1:1 Mix Ratio (Part A: B)

Applications

- For dip casting and heat-curing of thin elastomeric films

Typical Properties	Result	Metric Conv.	ASTM	NT-TM
Uncured:				
Appearance	Transparent to translucent. Light straw to slight bluish tint.	-	D2090	002
Non-Volatile Content	20%	-	D2288	004
Viscosity	3,500 cP	3,500 mPas	D1084, D2196	001
Work Time	24 hours	-	-	008
Cured: 30 min @ ambient temp. and humidity, 45 min @ 75°C (167°F), and 135 min @ 150°C (302°F)*				
Refractive Index	1.41	-	D1747, D1218	018
Durometer, Type A	40	-	D2240	006
Tensile Strength	1,700 psi	11.7 MPa	D412, D882	007
Elongation	1,000%	-	D412, D882	007
Tear Strength	300 ppi	52.9 kN/m	D624	009
Stress @ 100% Strain	150 psi	1.03 MPa	D412, D882	007

*The given ramped cure schedule is suggested to remove solvent prior to elevated temperature cure.

Instructions for Use

Mixing

Thoroughly stir individual components prior to addition to ensure homogeneity. Mix in a 1:1 ratio by weight or volume. Exercise care to prevent solvent loss during deairing. Accomplish additional dilution for thin film applications by adding appropriate solvent.

Warning: Consult the MSDS for MED-6640 prior to use as its solvent carrier is hazardous.

Vacuum Deaeration

Remove air entrapped during mixing by common vacuum deaeration procedure, observing all applicable safety precautions. Slowly apply full vacuum to a container rated for use and at least four times the volume of material being deaerated. Hold vacuum until bulk deaeration is complete.

Substrate Considerations

Cures in contact with most materials common to biomedical assemblies. Exceptions include: sulfur-cured organic rubbers, latex, chlorinated rubbers, some RTV silicones and unreacted residues of some curing agents.

FDA Master Access File

A Master Access File for MED-6640 has been filed with the U.S. Food and Drug Administration. Customers interested in authorization to reference the Master Access File must contact NuSil Technology.

Packaging

- 2 Pint Kit (910 g)
- 2 Gallon Kit (7.28 kg)
- 10 Gallon Kit (36.4 kg)
- 2 Drum Kit (360 kg)

Warranty

12 Months

Warnings About Product Safety

NuSil Technology believes the information and the data contained herein are accurate and reliable. However, the user is responsible to determine the material's suitability and safety of use. NuSil Technology cannot know each application's specific requirements and hereby notifies the user that it has not tested or determined this material's suitability or safety for use in any application. The user is responsible to adequately test and determine the safety and suitability for their application and NuSil Technology makes no warranty concerning fitness for any use or purpose. NuSil Technology has completed no testing to establish safety of use in any medical application.

NuSil Technology has tested this material only to determine if the product meets the applicable specifications. (Please contact NuSil Technology for assistance and recommendations when establishing specifications.) When considering the use of NuSil Technology products in a particular application, review the latest Material Safety Data Sheet and contact NuSil Technology with any questions about product safety information.

Do not use any chemical in a food, drug, cosmetic, or medical application or process until having determined the safety and legality of the use. The user is responsible to meet the requirements of the U.S. Food and Drug Administration (FDA) and any other regulatory agencies. Before handling any other materials mentioned in the text, obtain available product safety information and take the necessary steps to ensure safety of use.

Specifications

Do not use the typical properties shown in this technical profile as a basis for preparing specifications. Please contact NuSil Technology for assistance and recommendations in establishing particular specifications.

Patent Warning

NuSil Technology disclaims any expressed or implied warranty against the infringement of any patent. NuSil Technology does not warrant the use or sale of the products described herein will not infringe the claims of any United States' or other country's patents covering the product itself, its use in combination with other products or its use in the operation of any process.

Warranty Information

NuSil Technology's warranty period is 12 months from the date of shipment when stored below 40°C in original unopened containers. Unless NuSil Technology provides a specific written warranty of fitness for a particular use, NuSil Technology's sole warranty is that the product will meet NuSil Technology's then current specification. NuSil Technology specifically disclaims any other expressed or implied warranty, including warranties of merchantability and fitness for use. The exclusive remedy and NuSil Technology's sole liability for breach of warranty is limited to refund of purchase price or replacement of any product shown to be other than as warranted. NuSil Technology expressly disclaims any liability for incidental or consequential damages.

Appendice D – Specifiche silicone M-Coat C Air-Drying Silicone Rubber

M-Coat C

Vishay Micro-Measurements



Protective Coating



FEATURES

- Air drying
- Low reinforcement
- Transparent



RoHS
COMPLIANT

DESCRIPTION

Solvent-thinned (naphtha) RTV silicone rubber. Cures to tough, rubbery transparent film. Good all-around mechanical and electrical properties. Completely noncorrosive. Film thickness 0.015-0.02 in [0.4-0.5mm] per coat.

Recommended for lab and field installations that require a high degree of protection in thin coatings. Good water-splash protection. Good chemical resistance.

CHARACTERISTICS

Cure Requirements:

Solvents evaporate in about 60 minutes at room temperature. Allow 20 minutes drying time between coats.

Cures in 24 hours at +75°F [+24°C] and 50% RH. Longer cure at lower humidity.

Operating Temperature Range:

Short Term: -75° to +550°F [-60° to +290°C].

Long Term: -75° to +500°F [-60° to +260°C].

Shelf Life:

9 months at +75°F [+24°C] kept tightly sealed.

PACKAGING OPTIONS

Kit:

4 brush-cap bottles (1oz [30ml] ea)

Bulk:

Quart container



Disclaimer

All product specifications and data are subject to change without notice.

Vishay Intertechnology, Inc., its affiliates, agents, and employees, and all persons acting on its or their behalf (collectively, "Vishay"), disclaim any and all liability for any errors, inaccuracies or incompleteness contained herein or in any other disclosure relating to any product.

Vishay disclaims any and all liability arising out of the use or application of any product described herein or of any information provided herein to the maximum extent permitted by law. The product specifications do not expand or otherwise modify Vishay's terms and conditions of purchase, including but not limited to the warranty expressed therein, which apply to these products.

No license, express or implied, by estoppel or otherwise, to any intellectual property rights is granted by this document or by any conduct of Vishay.

The products shown herein are not designed for use in medical, life-saving, or life-sustaining applications unless otherwise expressly indicated. Customers using or selling Vishay products not expressly indicated for use in such applications do so entirely at their own risk and agree to fully indemnify Vishay for any damages arising or resulting from such use or sale. Please contact authorized Vishay personnel to obtain written terms and conditions regarding products designed for such applications.

Product names and markings noted herein may be trademarks of their respective owners.

Appendice E - Anello Cardinal™ di Valtech

L'anello per annuloplastica Cardinal™ di Valtech (Figura E1) è un anello semirigido con struttura interna in acciaio inossidabile SS316LVM (ASTM F138) racchiusa da uno strato in poliestere. La struttura interna metallica oltre a permettere la visualizzazione radiografica, garantisce una certa rigidità utile a rinforzare l'*annulus* valvolare e allo stesso tempo consente una certa flessibilità tale da assecondare i movimenti fisiologici dell'*annulus*.

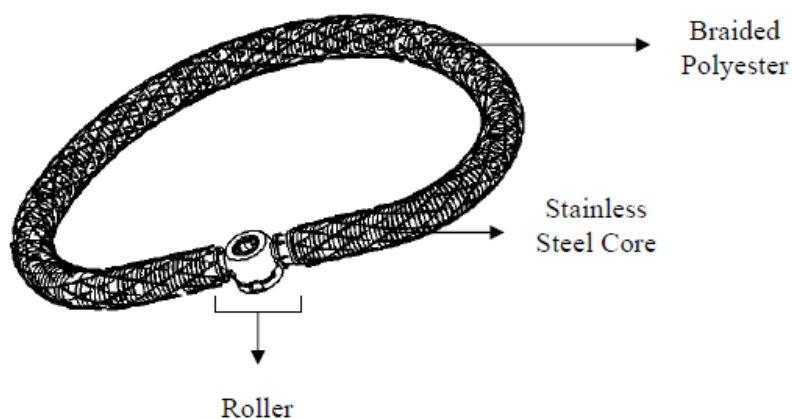


Figura E1 Anello regolabile semirigido Cardinal di Valtech.

L'anello Cardinal è stato realizzato in modo da poterne regolare la taglia dopo averlo impiantato. La regolazione è per lo più limitata alla parte posteriore dell'anello poiché il dispositivo è stato progettato in modo da fornire maggiore flessibilità alla parte posteriore dell'*annulus* e maggiore rigidità alla parte anteriore, rispecchiando le caratteristiche dell'*annulus* mitralico fisiologico.

Il meccanismo di regolazione è composto da un *roller* integrato nell'anello e da una manopola di regolazione che si collega all'anello proprio in corrispondenza del *roller* (Figura E2).

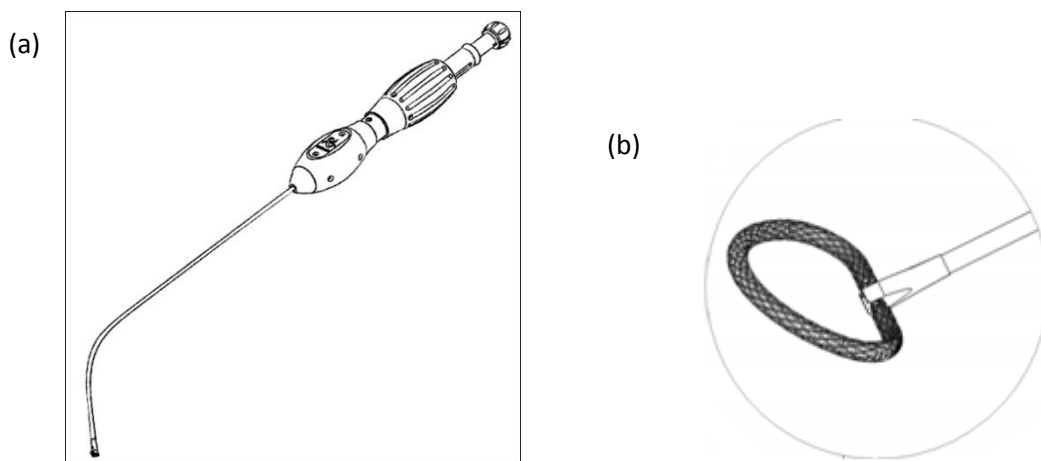


Figura E2 (a) Rappresentazione della manopola di regolazione. (b) Immagine raffigurante la manopola fissata all'anello in corrispondenza del roller.

La manopola è costituita da un pulsante che permette di agganciare o sganziare e bloccare o sbloccare l'anello, da una clip di bloccaggio che assicura il pulsante nella posizione di sbloccaggio dell'anello e da un elemento rotante che permette la regolazione della dimensione dell'anello (Figura E3).

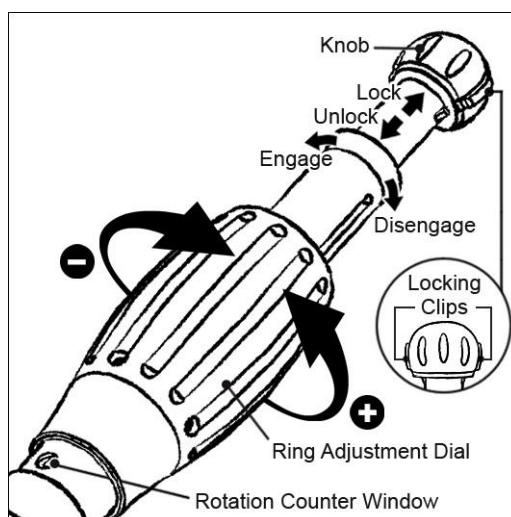


Figura E3 Rappresentazione della manopola di regolazione e di tutte le sue parti.

Ruotando quest'ultimo in senso orario o antiorario rispettivamente si riduce o si allarga la taglia dell'anello (Figura E4).

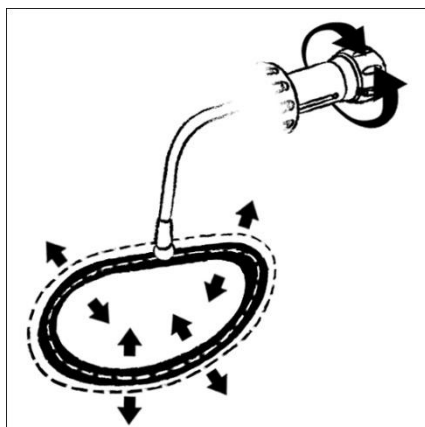


Figura E4 Rappresentazione della regolazione della dimensione dell'anello utilizzando la manopola di regolazione.

L'anello Cardinal di Valtech viene prodotto in due misure che corrispondono a *sizer* di taglia variabile da 24 a 40 con passo di 2mm (Tabella E1).

Tabella E1 Tabella che riassume le dimensioni disponibile dell'anello Cardinal di Valtech.

Anello Cardinal	Intervallo dei <i>sizer</i> applicabili	Diametro interno [A] (mm)	Diametro esterno [B] (mm)	Area dell'orifizio [mm ²]
<i>Small</i>	24-32	24-32	30-38	304-526
<i>Large</i>	32-40	32-40	38-46	526-821

Appendice F – Dati morfometrici dei campioni valvolari

Tabella F1 Dati morfometrici dei campioni valvolari.

#	DIST C-C [mm]	DIM SIZER	TAGLIA ANELLO	APM-PV [mm]	PPM-PV [mm]	APM-PPM [mm]
1	37.53	38	L	27.6	31.8	17.3
2	30.9	30	S	19.8	21.5	14.3
3	28.4	28	S	27.1	30	16.4
4	35.7	36	L	18.9	28.8	18.2
5	38.9	38	L	20	32	19.6
6	35.6	36	L	30.1	36.5	20.6
7	35.8	36	L	21.5	30.9	20
8	28.4	28	S	20.9	30.5	15.3
9	31.1	32	S	17.1	19.7	13.3
10	37.4	40	L	15.8	26.6	17.3
11	33.4	36	L	17.3	25.6	15.7

In riferimento alla tabella:

Dist C-C = distanza commisuro-commissurale

Dim sizer = dimensione del sizer per annuloplastica

APM-PV = distanza tra l'annulus mitralico a livello dell'inserimento delle corde commissurali e la testa del muscolo anterolaterale

PPM-PV = distanza tra l'annulus mitralico a livello dell'inserimento delle corde commissurali e la testa del muscolo posteromediale

APM-PPM = distanza tra le teste dei muscoli papillari