

# POLITECNICO DI MILANO

Scuola di Ingegneria Industriale e dell'Informazione  
Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica



## **Integrazione di misure ecoDoppler e di un modello di stenosi aortica in un banco prova pulsatile per cuori porcini**

Relatore:

**Prof. Ing. Gianfranco Beniamino Fiore**

Correlatori:

**Ing. Riccardo Vismara**

**Ing. Alberto M. Leopaldi**

**Prof. Carlo Antona**

Tesi di Laurea di  
**Moira PILLONI**

Anno Accademico 2011-2012



# Indice

<b>SOMMARIO</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XII</b>
<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Anatomia cardiaca e fisiopatologia della valvola aortica</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1 Caratterizzazione anatomica del cuore</b> .....	<b>5</b>
1.1.1 Configurazione esterna .....	6
1.1.2 Configurazione interna .....	7
<b>1.2 Valvola aortica</b> .....	<b>9</b>
1.2.1 Unità funzionale radice aortica.....	9
<b>1.3 Il circolo coronarico</b> .....	<b>11</b>
1.3.1 Arteria coronarica destra .....	13
1.3.2 Flusso coronarico.....	14
<b>1.4 Patologie della valvola aortica</b> .....	<b>15</b>
1.4.1 Stenosi aortica .....	16
1.4.2 Fisiopatologia della valvola aortica.....	17
<b>1.5 Trattamenti riparativi della stenosi aortica</b> .....	<b>18</b>
1.5.1 Valvuloplastica aortica .....	18
1.5.2 Sostituzione chirurgica della valvola aortica.....	19
1.5.3 Impianto transcateretere di valvola aortica (TAVI).....	21
1.5.4 Valve in Valve (VinV) .....	24
<b>2. Stato dell'arte</b> .....	<b>30</b>
<b>2.1 Banchi prova per lo studio dell'emodinamica cardiaca</b> .....	<b>31</b>
2.1.1 Banchi prova per la valutazione delle prestazioni fluidodinamiche di protesi valvole cardiache. ....	33
2.1.2 Banchi prova per il test di complessi valvolari ex-vivo .....	34

2.1.3	Banchi prova per cuori interi .....	36
2.1.4	Il banco prova sviluppato da Leopaldi <i>et al.</i> ....	41
2.1.5	Confronto tra i principali banchi prova e ottimizzazione del banco prova di Leopaldi .....	47
<b>2.2</b>	<b>EcoDoppler <i>in vitro</i> per la valutazione della perfusione coronarica .....</b>	<b>50</b>
2.2.1	Ecocardiografia Doppler.....	50
2.2.2	PW-Doppler per la misura della velocità coronarica.....	53
<b>2.3</b>	<b>Sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica.....</b>	<b>54</b>
2.3.1	Acceleratori di calcificazioni <i>in vitro</i> .....	54
2.3.2	Metodo di incollaggio proposto da Azadani.....	56
2.3.3	Proposta di un nuovo modello patologico di stenosi aortica.....	56
<b>3.</b>	<b>Messa a punto del sistema di misura ecoDoppler .....</b>	<b>58</b>
<b>3.1</b>	<b>Strategie di applicazione <i>in vitro</i> dell'ecoDoppler sulle coronarie .....</b>	<b>59</b>
3.1.1	Fluido corpuscolato per effettuare la misura Doppler .....	59
3.1.2	Identificazione del distretto anatomico.....	61
3.1.3	Scelta della sonda ecografica da utilizzare .....	62
3.1.4	Sincronizzazione dati ecoDoppler – dati idrodinamici.....	62
3.1.5	Protocollo di misura Doppler .....	63
<b>3.2</b>	<b>EcoDoppler sulla coronaria IVA in condizioni di portata generata da una pompa peristaltica .....</b>	<b>64</b>
3.2.1	Setup sperimentale.....	64
3.2.2	Protocollo di prova .....	66
3.2.3	Protocollo di analisi dei dati .....	67
3.2.4	Risultati.....	69
3.2.5	Commenti ai risultati ottenuti dalla prova preliminare.....	72
<b>3.3</b>	<b>Campagna sperimentale di messa a punto del sistema di misura ecoDoppler per la stima della velocità coronarica <i>in vitro</i>. .....</b>	<b>74</b>

3.3.1	Protocollo di ottenimento dei campioni.....	74
3.3.2	Protocollo di prova .....	75
3.3.3	Interpretazione dei tracciati Doppler .....	76
3.3.4	Procedure di elaborazione dei dati sperimentali.....	80
3.3.5	Analisi statistica.....	80
3.3.6	Risultati.....	81
3.3.7	Prova sperimentale A: influenza della pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica sulla portata coronarica .....	82
3.3.8	Prova sperimentale B: influenza dello stroke volume sistolico sulla portata coronarica .....	85
3.3.9	Commenti .....	87
<b>3.4</b>	<b>Utilizzo del sistema di misura ecoDoppler per la valutazione dell'effetto dell'impianto di Core Valve sulla perfusione coronarica. ....</b>	<b>89</b>
3.4.1	Posizionamento della CoreValve.....	90
3.4.2	Protocollo di prova .....	93
3.4.3	Risultati.....	96
3.4.4	Commenti .....	98
<b>4.</b>	<b>Sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica in vitro.....</b>	<b>101</b>
<b>4.1</b>	<b>Strategie di ottenimento di valvole aortiche patologiche <i>in vitro</i>.....</b>	<b>102</b>
<b>4.2</b>	<b>Campagna sperimentale su 5 campioni .....</b>	<b>103</b>
4.2.1	Protocollo di replicazione della stenosi aortica in vitro .....	103
4.2.2	Protocollo di prova .....	105
4.2.3	Risultati.....	106
4.2.4	Commenti e ottimizzazione del modello .....	109
<b>4.3</b>	<b>Caratterizzazione del modello patologico di stenosi aortica .....</b>	<b>110</b>
4.3.1	Risultati.....	110
4.3.2	Commenti .....	111

<b>4.4</b>	<b>Impianto di valvola transcateretere CoreValve sul modello patologico.....</b>	<b>112</b>
4.4.1	Protocollo di prova .....	112
4.4.2	Risultati e commenti .....	112
<b>5.</b>	<b>Misure EcoDoppler e modello patologico di stenosi aortica <i>in vitro</i> .....</b>	<b>116</b>
<b>5.1</b>	<b>Effetto della stenosi aortica sul flusso coronarico <i>in vitro</i> .....</b>	<b>116</b>
5.1.1	Protocollo di prova .....	118
5.1.2	Risultati.....	118
<b>5.2</b>	<b>L'impianto di CoreValve in presenza di stenosi aortica <i>in vitro</i>: valutazione delle alterazioni sulla perfusione coronarica.....</b>	<b>121</b>
5.2.1	Protocollo di prova .....	121
5.2.2	Risultati.....	121
<b>5.3</b>	<b>Commenti .....</b>	<b>123</b>
	<b>CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI.....</b>	<b>125</b>
	<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>128</b>

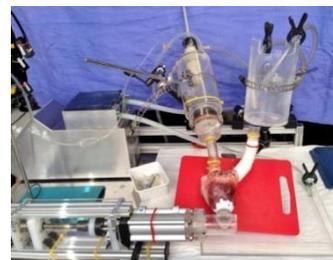
# SOMMARIO

## INTRODUZIONE

Negli ultimi 30 anni, il progressivo innalzamento della vita media della popolazione ha comportato un aumento dell'incidenza delle malattie cardiovascolari. Tali patologie rappresentano la principale causa di morte nell'Unione Europea e sono all'origine del 40% circa dei decessi. L'emergenza sociale crescente di queste patologie si traduce in un impatto economico rilevante per i Sistemi Sanitari Nazionali. Appare allora importante individuare nuove tecniche meno traumatiche per il paziente, tipicamente anziano e, al tempo stesso, migliorare l'approccio clinico/chirurgico al fine di ridurre i costi sanitari e aumentare così il numero di soggetti beneficiari delle cure mediche. Nello scenario dinamico descritto risulta importante, sia per il chirurgo sia per i progettisti di dispositivi biomedicali, comprendere in modo dettagliato ed esaustivo il comportamento post-impianto di nuove protesi o individuare la tecnica chirurgica di riparazione valvolare che può migliorare i risultati clinici.

L'approccio *in vitro* con banchi prova costituisce uno strumento versatile per lo studio di nuovi dispositivi e chirurgie. I banchi prova di simulazione dell'emodinamica cardiaca sono strumenti utili per comprendere la fluidodinamica delle

strutture cardiache, in condizioni fisiologiche e patologiche, nonché gli effetti emodinamici di trattamenti chirurgici e di impianti di dispositivi artificiali. Tali strumenti permettono di condurre studi controllabili, ripetibili e meno costosi, rispetto alla sperimentazione *in vivo*, e consentono al contempo di ottimizzare le procedure esistenti, studiarne di nuove ed effettuare un confronto critico tra diverse tecniche.



**Figura 1** Banco prova pulsatile per cuori porcini interi. [1]

Dall'analisi dei principali banchi prova presenti in letteratura, in particolare quello pulsatile per cuori interi porcini di Leopaldi *et al.* [1] (Figura 1), disponibile al ForCardioLab dell'Ospedale L. Sacco di Milano, emergono due fattori principali che hanno segnato la loro evoluzione storica: la riproduzione, in modo sempre più realistico ed affidabile, della circolazione cardiaca e l'esigenza di offrire al ricercatore la possibilità di condurre valutazioni emodinamiche *in vitro* che, da un lato, si integrino con l'ambiente clinico, dall'altro possano beneficiare di approcci sempre più quantitativi.

L'obiettivo del presente lavoro è ottimizzare il banco prova, disponibile al ForCardioLab, al fine di aumentarne la versatilità e riuscire a

condurre, attraverso questo strumento, valutazioni fluidodinamiche in condizioni fisiologiche, patologiche e protesizzate. A tal fine si integrano nel banco prova due aspetti ancora mancanti nella strumentazione di misura e nel setup sperimentale: lo strumento ecoDoppler per la valutazione dei flussi ematici e un modello di valvola patologico.

L'integrazione della tecnica ecoDoppler *in vitro* è motivata dall'esigenza di fornire al personale medico uno strumento diagnostico, pratico e non invasivo, usato tradizionalmente *in vivo*, che permetta di valutare l'effetto emodinamico di terapie chirurgiche e di impianti protesici condotti *in vitro*.

Il modello patologico che si intende sviluppare è quello di stenosi aortica, per il crescente impatto socio-economico di questa patologia, tipicamente legata all'età. La riproduzione del funzionamento cardiaco in condizioni patologiche permetterebbe al personale medico di simulare terapie chirurgiche e impianti di dispositivi artificiali in modo realistico e, studiando *in vitro* i suoi effetti biomeccanici, consentirebbe di formularne interpretazioni di carattere clinico.

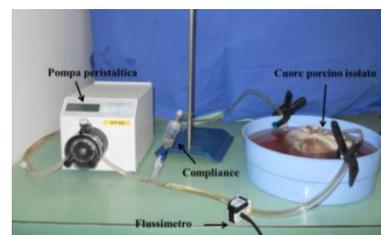
## MESSA A PUNTO DEL SISTEMA ECODOPPLER IN VITRO

Il sistema ecoDoppler è stato messo a punto *in vitro* per ottenere una stima della perfusione coronarica che potrà essere applicata al fine di analizzare l'effetto di

tecniche riparative e d'impianti di protesi sul flusso coronarico, ancora non indagato con il banco prova.

L'esame ecoDoppler in modalità pulsata (PW-Doppler) è stato condotto *in vitro* sulla porzione prossimale del vaso coronarico interventricolare anteriore (IVA), secondo la tecnica ecoDoppler transtoracica, validata in Hozumi *et al.* [2]. Per implementare la tecnica ecoDoppler *in vitro* si è utilizzato un fluido di lavoro di simulazione della componente corpuscolata del sangue [3].

Un esperimento preliminare in condizioni di portata stazionaria sul vaso coronarico, isolato dal resto della circolazione cardiaca (Figura 2), ha permesso di valutare l'affidabilità della misura Doppler *in vitro*.



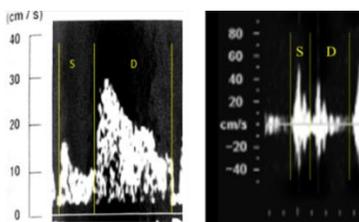
**Figura 2** Setup sperimentale utilizzato per la messa a punto in condizioni stazionarie.

### *Campagna sperimentale di messa a punto del sistema di misura ecoDoppler in vitro*

È stata condotta una campagna sperimentale per la messa a punto del sistema di misura ecoDoppler per comprendere il fenomeno di regolazione della perfusione coronarica nel banco prova di Leopaldi *et al.* [1]. Si sono pertanto condotte due prove sperimentali, su 6 campioni porcini, mantenendo costante la frequenza cardiaca (simulata col banco prova) a 70 bpm, al variare di un parametro

idrodinamico: la pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica (prova A) e lo stroke volume (prova B). Per ciascuna prova sperimentale si sono seguite 3 condizioni di prova: nella prova A si sono considerati gli stati di pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica in stato ipoteso, normoteso e iperteso. La prova B ha previsto 3 valori di stroke volume (SV): 70%SV, 100%SV e 130%SV. (I valori percentuali associati alla grandezza SV sono riferiti al valore nominale di progetto della pompa pulsatile, pari a 70 mL).

Per ogni condizione di prova si acquisiscono le misure di pressione e portata nei siti indicati nel lavoro di Leopaldi e Valerio [4], e contemporaneamente, si registrano le misure PW-Doppler, attraverso il sistema utilizzato per la sincronizzazione tra i dati fluidodinamici e i tracciati ecografici.



**Figura 3** A sinistra – Esame TTDE in vivo sull'IVA distale [5]. A destra – Tracciato di velocità Doppler ottenuto in vitro sull'IVA prossimale. S=Sistole; D=Diastole.

#### Interpretazione dei tracciati Doppler

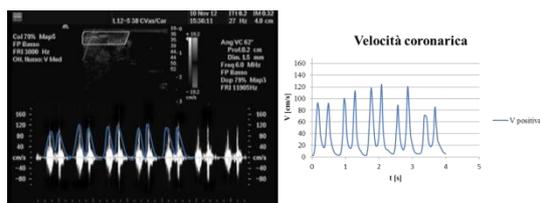
Il profilo di velocità coronarica rilevato *in vitro* ha mostrato un andamento bifasico, riscontrabile anche in letteratura clinica, in cui il primo picco corrisponde alla sistole e il successivo, di durata maggiore, alla diastole. (Figura 3)

I tracciati Doppler sperimentali presentano una peculiare caratteristica: la presenza, simultanea, di una componente di velocità positiva e di una negativa, di ampiezza variabili. La formazione di una componente di velocità negativa può essere dovuta a:

1. un cosiddetto “effetto-pompa” del volume di fluido contenuto nel vaso coronarico dovuto all'azione della pompa pulsatile su un vaso che, nel setup a disposizione, è circondato da tessuto flaccido;
2. l'influenza del regime di moto pulsatile nella regione di test che comporta uno sviluppo della velocità secondo il profilo di Womersley;
3. un possibile “effetto di imbocco” del flusso dovuto al fatto che la misura Doppler avviene in prossimità dell'ostio coronarico.

Come base per la valutazione delle alterazioni degli indici di perfusione coronarica a seguito della variazione dei parametri emodinamici, si assume la componente positiva, attribuendo alla componente negativa un ruolo di alterazione fluidodinamica dovuta alle condizioni sperimentali del banco prova.

Dal segnale di velocità Doppler si ricava l'involuppo manuale della curva di velocità positiva (Figura 4), attraverso un software sviluppato ad hoc in ambiente Matlab (The MathWorks, Natick, Massachusetts, USA) presso il dipartimento di Bioingegneria del Politecnico di Milano.



**Figura 4** A sinistra – Segnale di velocità ecoDoppler. A destra – Profilo di velocità coronarica post-processing.

Parametri fluidodinamici di valutazione

Dal profilo di velocità coronarica Doppler, di cui si mostra un esempio in Figura 4, si ricavano alcuni parametri per la valutazione della perfusione coronarica:

- la *velocità media in fase di sistole* (MSV);
- la *velocità media di diastole* (MDV);
- l'*integrale della velocità coronarica* VTI dall'inglese Velocity-Time Integral, nell'intero ciclo cardiaco.

Tutti i parametri sono stati calcolati, per ogni test, a partire dal tracciato di velocità Doppler come media e deviazione standard su 5 cicli consecutivi.

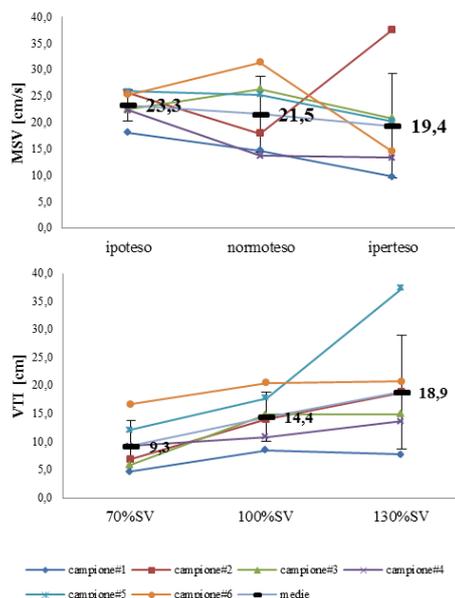
Analisi statistica

Per valutare la significatività statistica dei dati, si è effettuato il test t di Student accoppiato a due code, dopo verifica di distribuzione normale tramite test di Kolgorov-Smirnov.

Risultati

La Figura 5 riporta, a titolo di esempio, in alto i valori della velocità media sistolica MSV nelle condizioni di prova in stato ipoteso, normoteso e ipertesoso, in basso mostra l'andamento del parametro VTI al variare dello stroke volume.

Andamenti di questo tipo sono stati ricavati per tutti i parametri di interesse, per ogni campione sottoposto a test.



**Figura 5** In alto: VTI [cm] per ogni campione nelle condizioni di test ipoteso, normoteso e ipertesoso. In basso: Valori di MSV [cm/s] per ciascun campione nelle condizioni di prova 70%SV, 100%SV e 130%SV. La linea celeste, in cui si riportano i valori indicatori e dev.st, rappresenta l'andamento medio calcolato tra tutti i campioni per ciascuna condizione di prova.

Nel test A i parametri di valutazione MSV [cm/s], MDV [cm/s] e VTI [cm] non hanno riportato differenze statisticamente significative per le 3 condizioni di prova al variare della pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica. Nel test B tutti i parametri di valutazione MSV, MDV e VTI subiscono un incremento significativo all'aumentare dello stroke volume imposto dalla pompa pulsatile.

Commenti

Dalla campagna sperimentale è emerso che la pressione "sistemica" non influisce sulla

perfusione coronarica nel modello *in vitro*. Una possibile interpretazione può essere dovuta al fatto che l'aumento della pressione a valle della valvola aortica comporta un incremento della pressione ventricolare sistolica, con una conseguente dilatazione della camera ventricolare. Tale effetto comporta un aumento delle resistenze endomiocardiche e limita l'aumento della portata coronarica.

L'aumento di gittata cardiaca ha mostrato un incremento del flusso coronarico, in accordo con quanto atteso, l'aumento di stroke volume determina un aumento della portata eiettata in sistole e, conseguentemente, della portata coronarica. *In vitro* la velocità media in fase di sistole è maggiore di quella in fase di diastole poiché, in assenza di contrazione ventricolare, la portata coronarica segue l'andamento della sola pressione aortica.

#### ***Valutazione dell'effetto dell'impianto di Core Valve sulla perfusione coronarica tramite ecoDoppler***

Al fine di studiare preliminarmente le potenzialità del setup con misure Doppler, si è riprodotto *in vitro* uno scenario di interesse clinico. Si è studiata la relazione tra l'altezza di posizionamento di una valvola aortica, impiantata transcateretere (TAVI) mediante un sistema che permette di controllare il livello di impianto del device, e le grandezze emodinamiche, con particolare attenzione alla perfusione coronarica. La prova sperimentale è stata condotta su un solo

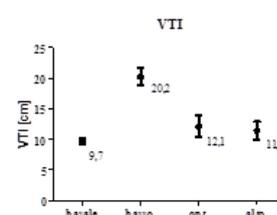
campione e, mantenendo costanti la frequenza cardiaca (simulata col banco prova) a 70 bpm, lo stroke volume a 70 ml (impostato con la pompa pulsatile) e la pressione all'ingresso del simulatore sistemica in stato normoteso, si considerano una condizione **basale**, rappresentata dal cuore porcino senza alcuna valvola, e 3 diversi posizionamenti della CoreValve: **basso**, ottimale (**opt**) e **alto**.

Per ciascuna condizione di test si sono calcolati i seguenti parametri:

- *caduta di pressione media a cavallo della valvola aortica* per valutare la stenosi;
- *retroflusso statico* per analizzare l'insufficienza aortica;
- *integrale velocità-tempo della velocità coronarica Doppler in un intero ciclo cardiaco* per indagare la perfusione coronarica.

Tutti i parametri sono stati calcolati, per ogni test, a partire dal tracciato di velocità Doppler come media e deviazione standard su 5 cicli consecutivi.

Si mostra a titolo d'esempio l'andamento sperimentale del parametro VTI per ciascuna condizione di prova.



**Figura 6** VTI [cm] calcolato per ciascuna condizione di prova.

La perfusione coronarica ha mostrato un andamento pressochè costante nei diversi impianti, confrontabili con il caso basale fisiologico. L'anomalo valore di VTI ottenuto in caso di impianto basso può essere dovuto all'alterazione del tracciato Doppler a causa della presenza di bolle e/o agglomerati di Orgasol in ingresso al vaso coronarico, come osservato nei tracciati in PW-Doppler. La prova ha permesso di osservare come la CoreValve in posizione bassa comporti un minor retroflusso ( $RF\%=27\pm\%$ ) e un minor grado di stenosi rispetto agli altri livelli di impianto.

## **SVILUPPO DI UN MODELLO PATOLOGICO DI STENOSI AORTICA *IN VITRO***

Il modello patologico di stenosi aortica sviluppato *in vitro* consiste nell'incollaggio di foglietti calcifici naturali, asportati in sala operatoria, sulla superficie valvolare aortica di cuori porcini, attraverso colla acrilica. La soluzione proposta è stata identificata da un confronto con i chirurghi ed è stata dettata dalla facile reperibilità, in ambito ospedaliero, della componente biologica di natura patologica nonché dalla possibilità di ottenere un modello di stenosi aortica simile a quello naturale.

Per ottenere valvole porcine stenotiche si segue un protocollo basato sull'esperienza del chirurgo e sulle sue considerazioni empiriche nel ricreare la morfologia della valvola stenotica naturale [6]. (Figura 7)



**Figura 7** Cuore porcino stenotico ottenuto *in vitro*. A destra – ingrandimento sull'anulus aortico che permette di osservare l'incollaggio dei foglietti calcifici sul tessuto fisiologico valvolare.

La criticità principale del modello data dalla difficoltà nel controllare il grado di stenosi e dalla ripetibilità del modello per la procedura di incollaggio e per la differente morfologia delle formazioni di calcio sui foglietti prelevati *in vivo*.

### ***Campagna sperimentale di caratterizzazione del modello patologico di stenosi aortica***

Una campagna sperimentale su 5 campioni ha permesso di valutare vantaggi e criticità del protocollo di ottenimento delle valvole calcifiche. Individuati alcuni limiti del modello, si sono condotti 2 test in cui al protocollo di ottenimento del campione è stata introdotta la sutura, con filo da 6 zeri, su ciascuna commissura, ad una distanza di circa 3 mm dalla parete aortica. Tale strategia è stata introdotta con gli obiettivi di aumentare la riproducibilità e la controllabilità del grado di stenosi e di ridurre l'insufficienza aortica, indotta dal modello.

### **Parametri fluidodinamici di valutazione**

Le prove sperimentali sono state condotte a frequenza, stroke volume (regolato con la pompa pulsatile) e pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica costanti

(rispettivamente pari a 70 bpm, 70 ml e 80-120 mmHg).

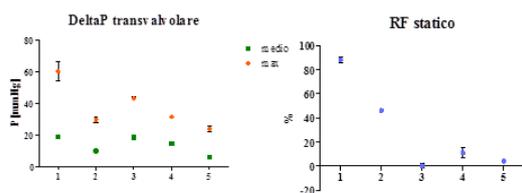
I parametri calcolati per ogni test effettuato sono:

- la caduta di pressione transvalvolare media sistolica;
- la caduta di pressione massima in un intero ciclo cardiaco;
- il retroflusso statico.

Tutti i parametri sono stati calcolati, per ogni test, come media e deviazione standard su 5 cicli consecutivi.

Risultati

In Figura 8 si riportano i risultati della campagna sperimentale sui 5 campioni. Si nota come la caduta transvalvolare, media in sistole e massima nell'intero ciclo, riporti valori non costanti: il ΔP è massimo nel campione 1 e risulta minimo nel 5. Il modello patologico induce inoltre un'insufficienza aortica, che è risultata massima nel campione 1.



**Figura 8** Per i 5 campioni testati si riportano, a sinistra, la caduta di pressione media a cavallo della valvola aortica e, a destra, il retroflusso statico.

I risultati sperimentali dei 2 test in cui è stata introdotta la tecnica di sutura commissurale sono mostrati in Tabella 1.

L'introduzione della sutura commissurale ha permesso di ottenere una caduta di pressione transvalvolare, media in sistole e massima

sull'intero ciclo cardiaco, i cui valori, sono confrontabili con quelli dovuti ad una stenosi aortica severa ( $\Delta P_{\text{medio}} > 35 \text{ mmHg}$ ). La tecnica di incollaggio ha indotto un retroflusso aortico dell'11%.

Grandezze di valutazione		cuore1	cuore2
STENOSI	$\Delta P_{\text{medio}} \text{ sistole}$ [mmHg]	47,5±0,5	38,9±1,7
	$\Delta P_{\text{max}}$ [mmHg]	98,7±2,2	77,9±1,5
insufficienza	RF stat %	11%±3%	11%±4%

**Tabella 1** Caratterizzazione idrodinamica del modello patologico di stenosi aortica.

Commenti

La campagna sperimentale sui 5 campioni ha evidenziato alcuni limiti del modello patologico: la difficoltà nel controllare a priori il grado di stenosi e la formazione di un retroflusso aortico indotto dal modello. L'introduzione della sutura commissurale ha permesso di migliorare la controllabilità del modello attraverso il quale è possibile ottenere valvole aortiche con stenosi da moderata a severa.

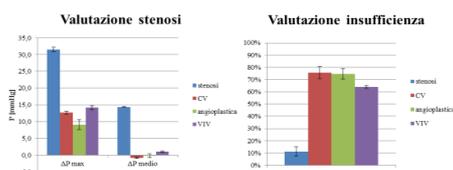
**Impianto di valvola transcateretere CoreValve sul modello patologico**

Si è condotta una prova su un solo campione in cui, in uno scenario che si presenta di norma in sala operatoria, si valuta l'effetto, sui parametri idrodinamici, dell'impianto di una valvola transcateretere in un cuore porcino nel quale si replica una stenosi aortica severa. Per la prova si considerano le seguenti condizioni di test: **stenosi** severa (replicata con il modello patologico), impianto di CoreValve da 29 mm (CV), tecnica di **angioplastica** e impianto di una seconda

CoreValve da 26 mm seconda la tecnica valve-in-valve (VIV).

Il protocollo di test e i parametri di valutazione fluidodinamica sono gli stessi dettagliati nelle campagne sperimentali di caratterizzazione del modello patologico.

Si mostrano in Figura 9 i risultati dei parametri di valutazione scelti per la stenosi e l'insufficienza aortica.



**Figura 9** Valutazione della stenosi, a sinistra, e dell'insufficienza aortica, a destra, per la prova sperimentale.

I risultati mostrano che l'impianto di CoreValve risolve la stenosi in quanto determina una riduzione dei  $\Delta P$  transvalvolari. L'impianto in VIV determina, come atteso, un aumento dei  $\Delta P$  transvalvolari a causa della riduzione del lume valvolare. Il retroflusso aortico, che è risultato massimo nel primo impianto di CoreValve, esso può essere dovuto non solo al posizionamento del device ma alle differenze anatomiche tra cuore umano e porcino.

## MISURE ECODOPPLER E MODELLO PATOLOGICO DI STENOSI AORTICA IN VITRO

Attraverso due prove sperimentali si vogliono mostrare le potenzialità del banco prova, a valle delle nuove integrazioni, con il quale è

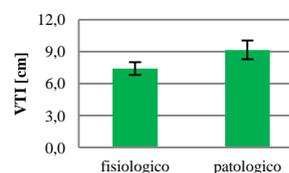
possibile condurre studi sperimentali più versatili e maggiormente raffrontabili con la realtà clinica. Entrambe le prove sperimentali sono state condotte a frequenza, stroke volume (regolato con la pompa pulsatile) e pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica costanti (rispettivamente pari a 70 bpm, 70 ml e 80-120 mmHg). Come parametri di valutazione si calcolano:

- $\Delta P$  medio in sistole e  $\Delta P$  massimo nell'intero ciclo cardiaco;
- retroflusso statico;
- integrale velocità-tempo VTI dal profilo di velocità Doppler.

### Effetto della stenosi aortica sulla perfusione coronarica

Per la prova sperimentale si considerano una condizione basale **fisiologica** e una **patologica** costituita dal modello patologico per valutare l'effetto sulla perfusione coronarica della stenosi aortica.

A titolo di esempio si mostra l'andamento di VTI ottenuto dalla prova sperimentale. (Figura 10)



**Figura 10** Confronto del parametro VTI [cm] nei casi fisiologico e patologico.

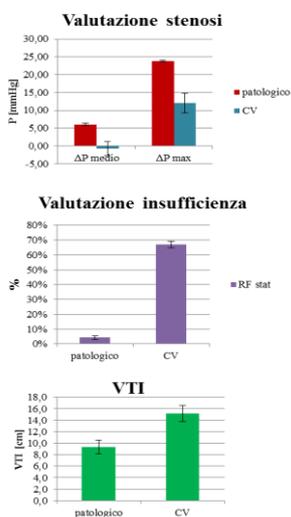
Dall'istogramma in **Figura 10** non si apprezzano differenze significative del parametro VTI in presenza di stenosi aortica.

La prova, condotta su un solo campione, sembra mostrare che la patologia della stenosi non influisce sulla perfusione coronarica nel setup sperimentale a disposizione.

***Impianto di CoreValve in presenza di stenosi aortica in vitro: valutazione delle alterazioni sulla perfusione coronarica***

Nel campione utilizzato nella seguente prova sperimentale si sono considerate una condizione **patologica** caratterizzata dalla stenosi aortica replicazione e una a seguito dell’impianto di una **CoreValve** da 29 mm.

In Figura 11 si mostrano gli andamenti della caduta di pressione transvalvolare, del retroflusso statico per le due condizioni di test e del parametro VTI.



**Figura 11**  
*Impianto di CoreValve in caso di stenosi aortica: in alto valutazione della stenosi, al centro valutazione dell’insufficienza e in basso andamento del parametro VTI.*

Si nota come l’impianto della CoreValve determini una riduzione della caduta di pressione transvalvolare, in accordo con quanto atteso, e induce un retroflusso aortico del 66% dovuto probabilmente al “mismatch”

protesi-cuore porcino. La perfusione coronarica si è dimostrata migliorata a seguito del posizionamento della protesi valvolare.

***Commenti***

Le prove sperimentali condotte su un solo campione permettono di osservare una confrontabilità tra i valori dell’integrale velocità-tempo nei casi fisiologico e patologico. Rispetto a quanto atteso il flusso coronarico in presenza di stenosi, non diminuisce, ma si mantiene su valori di VTI≈8 cm. Come possibile spiegazione dell’aumento della perfusione coronarica a seguito dell’impianto della CoreValve si può ipotizzare che l’introduzione della valvola transcateretere abbia comportato delle alterazioni di natura geometrica all’interno della radice aortica. Tali modificazioni possono essere responsabili di un’alterazione della fluidodinamica locale, in particolare delle pressioni a valle della valvola aortica che inducono un aumento del VTI.

Si è pertanto dimostrata l’opportunità di utilizzare congiuntamente le due tecniche introdotte nel banco prova che, a seguito delle nuove integrazioni al setup sperimentale e alla strumentazione di misura, permette di condurre delle valutazioni fluidodinamiche più realistiche e complete, poiché maggiormente orientati verso uno scenario clinico.

## CONCLUSIONI

Con l'introduzione della metodica ecoDoppler si è fornito al personale medico uno strumento pratico e non invasivo, frequentemente utilizzato in pratica clinica, per condurre analisi quantitative sull'emodinamica coronarica. L'esame ecoDoppler, messa a disposizione del chirurgo, potrà trovare svariate applicazioni, come lo studio *in vitro* sull'emodinamica cardiaca di tecniche chirurgiche di riparazione valvolare e di impianti di protesi valvolari.

Col modello patologico sviluppato è stato possibile ottenere *in vitro* cuori porcini con stenosi aortica da moderata a severa; il metodo proposto ha il vantaggio di replicare le condizioni patologiche *in vivo* e permette pertanto al clinico di studiare gli effetti delle terapie in uno scenario sperimentale molto simile a quello riscontrato in sala operatoria.

I due fronti sperimentali sviluppati possono inoltre essere utilizzati congiuntamente per effettuare delle valutazioni fluidodinamiche complete e sempre più raffrontabili alla realtà clinica e, col presente lavoro, si sono proposte indicazioni per condurre delle future campagne sperimentali per la valutazione degli effetti emodinamici della stenosi aortica e dell'impianto di una protesi valvolare.

A fronte dei vantaggi descritti, le ottimizzazioni introdotte nel setup sperimentale presentano alcune criticità. Il primo punto critico, relativo alla tecnica ecoDoppler, è insito nel tipo di misura

operatore-dipendente. Inoltre l'utilizzo di un fluido che simula solo la parte corpuscolata del sangue e non la sua viscosità limita la possibilità di confrontare i risultati ottenuti sperimentalmente con quelli clinici.

Il limite principale del modello patologico sviluppato consiste nella scarsa replicabilità del grado di stenosi, che nonostante l'introduzione della sutura commissurale, risulta difficile replicare a priori la stenosi desiderata.

## BIBLIOGRAFIA

1. Leopaldi, A.M., et al., *In vitro hemodynamics and valve imaging in passive beating hearts*. Journal of biomechanics, 2012. **45**(7): p. 1133-1139.
2. Hozumi, T., et al., *Noninvasive Assessment of Significant Left Anterior Descending Coronary Artery Stenosis by Coronary Flow Velocity Reserve With Transthoracic Color Doppler Echocardiography*. Circulation, 1998. **97**(16): p. 1557-1562.
3. Ramnarine, K.V., et al., *Validation of a New Blood-Mimicking Fluid for Use in Doppler Flow Test Objects*. Ultrasound in Medicine & Biology, 1998. **24**(3): p. 451-459.
4. Alberto M. Leopaldi, L.V., *Sviluppo di un banco prova pulsatile per l'analisi fluidodinamica e cinematica di valvole cardiache su cuore porcino isolato*, in *Facoltà di Ingegneria dei Sistemi*. 2009-2010, Politecnico di Milano: Milano.
5. Hozumi, T., et al., *Noninvasive assessment of coronary flow velocity and coronary flow velocity reserve in the left anterior descending coronary artery by Doppler echocardiography: Comparison with*

- invasive technique*. Journal of the American College of Cardiology, 1998. **32**(5): p. 1251-1259.
6. Magagnin, V., et al., *Nearly automated analysis of coronary Doppler flow velocity from transthoracic ultrasound images: validation with manual tracings*. Medical & Biological Engineering & Computing, 2007. **45**(5): p. 483-493.
  7. Bahler, R.C., et al., *Factors leading to progression of valvular aortic stenosis*. The American Journal of Cardiology, 1999. **84**(9): p. 1044-1048.

# ABSTRACT

## INTRODUCTION

Over the past 30 years, the progressive increase in the population's life expectancy resulted in an increased incidence of cardiovascular diseases. These diseases are the main cause of death in the European Union, leading to about 40% of total deaths, and are responsible of significant cost increments that the health systems are required to sustain. New minimally invasive approaches to valve repair are emerging, showing a mortality comparable to that of standard surgery and allowing less pain for the patient and lower costs thanks to a shorter hospitalization. In this scenario it is increasingly important, both for the surgeon and for the designer of biomedical devices, to understand in a detailed way the performance of an implanted prosthesis, or to identify the surgical technique for valve repair that can lead to the best clinical results. At the same time, it would be interesting to perform comparative studies between different surgical techniques.

In this context, the use of *in vitro* fluid-dynamic mocks can provide reliable and quantitative information about the effectiveness of the investigated solutions. Indeed, *in vitro* tests are potentially characterized by high controllability and repeatability of the simulated hemodynamic conditions.

Mock loops able to host entire explanted hearts are useful tools for understanding the fluid dynamics of the cardiac structures: from the kinematic analysis of valvular leaflets to the study of percutaneous valve, to the possibility of experiment new surgical techniques, thus allowing teaching and training for new cardiac surgeons.

Indeed, an entire explanted heart allows the surgeon to operate in a very familiar environment, where he can simulate surgery procedures and analyze, *in vitro*, their effectiveness.

The present study aims to optimize the pulsatile mock loop for entire porcine hearts developed by Leopaldi *et al.* [1] (Figure 1), available at ForCardioLab, so to make it a complete tool for conducting fluid dynamic evaluations of prostheses in both physiological and pathological conditions.



**Figure 1** Pulsatile mock loop for entire porcine explanted hearts developed by Leopaldi *et al.* [1].

In order to achieve this goal, two features that are now missing in the measuring equipment and in the experimental setup will be integrated in the test bench: the Doppler ultrasound instrument for the evaluation of blood flow and an *in vitro* pathological model.

The integration of the Doppler ultrasound technique allows surgeons to evaluate the hemodynamic effect of surgical therapies and prosthetic implants performed *in vitro* using a practical and non-invasive diagnostic tool, which is traditionally used *in vivo*.

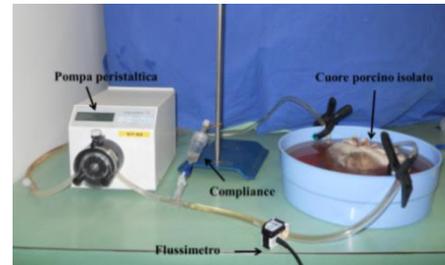
Furthermore, the pathological model we wish to develop is that of aortic stenosis, because of the increasing socio-economic impact of this disease that requires a complete valvular replacement. The simulation of the pathological conditions would allow clinicians to simulate surgical treatments and implants of artificial devices in a realistic way, so to study *in vitro* the hydrodynamic effects of the device, having a greater clinical validity of the experimental data.

## SETUP OF THE ECHODOPPLER SYSTEM

The Doppler ultrasound system has been developed *in vitro* to estimate the coronary perfusion, in order to analyze the effect of reparative techniques and transcatheter prosthesis on coronary flow, yet not investigated with the *in vitro* setup.

The Doppler ultrasound detection was conducted in pulsed mode (PW-Doppler) on the proximal portion of the interventricular anterior coronary artery (IVA), using a transthoracic echo-Doppler approach, validated in Hozumi *et al.* [2]. A corpuscular blood-mimicking fluid has been developed, so to allow Doppler flow measures. [3]

In order to test the reliability of the Doppler measurements, an experiment under stationary condition on coronary vessel isolated from the rest of the cardiac circulation has been conducted. (Figure 2)

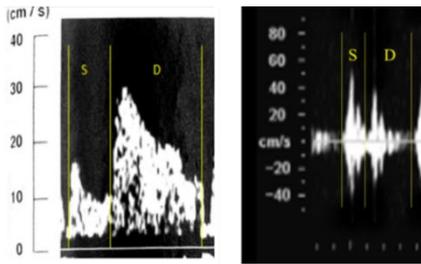


**Figure 2** Experimental setup for the stationary test.

### Experimental tests for the validation of the echoDoppler system *in vitro*.

Experimental tests were carried out with the echoDoppler system in order to investigate the coronary perfusion in the passive-heart mock loop [1]. Two experimental tests were conducted on 6 samples, using the same frequency (70 bpm) but varying one parameter: systemic pressure (test A) and stroke volume (test B). For each test 3 different conditions were conducted: in test A pressure was varied in an hypotensive, normotensive and hypertensive state; in test B stroke volume was imposed to 70%SV, 100%SV and 130%SV. (Percentage values associated with the SV are referred to the nominal design value of the pulsatile pump, equal to 70 mL).

For each test condition, measurements of pressure and flow were acquired at the sites indicated in [4], and simultaneously, PW-Doppler measures were recorded.



**Figure 3** On the left - TTDE in vivo on distal IVA [5]. On the right - Doppler velocity obtained in vitro in proximal IVA. S = Systole, Diastole = D.

#### Interpretation of echoDoppler paths

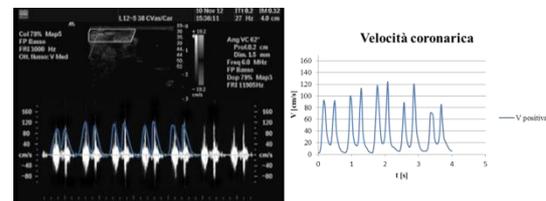
Coronary velocity detected in vitro showed a biphasic pattern, typical of the clinical literature, where the first peak corresponds to the systole and the next, of longer duration, to the diastole. (Figure 3)

The experimental Doppler tracings showed a peculiar feature: the simultaneous presence of a positive and a negative component of velocity of variable amplitudes. The presence of the negative component can be justified by:

1. the elastic return of the vessel, surrounded by flabby tissue, could cause a "suction effect" on the volume of fluid inside it. Hence, simultaneously, some eco-reflective particles are moving forward and some other backward;
2. the presence of a pulsatile flow regime in the region of interest induced the development of a Womersley velocity profile;
3. the Doppler measurement occurs in proximity of coronary inlet, thus it is possibly influenced by the geometrical discontinuity.

According to these observations, the negative component can be considered as a fluid dynamic alteration and, therefore, for the evaluation of coronary perfusion's indices, only the positive component of velocity will be used.

Coronary flow velocity is obtained by manual tracing of the coronary Doppler signal (Figure 4), through a specific custom software developed using Matlab (The MathWorks, Inc.; Natick, MA).



**Figure 4** On the left – Doppler signal. On the right – post-processing velocity profile.

#### Parameters of interest

The parameters calculated for the evaluation of coronary perfusion [7] were:

- Mean systolic velocity (MSV);
- Mean diastolic velocity (MDV);
- Velocity-time integral in the entire cycle (VTI).

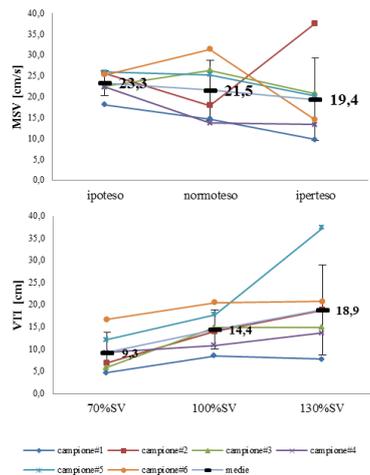
Data were evaluated on five consecutive cycles as mean $\pm$ SD.

#### Statistical analysis

In order to assess the statistical significance of the data, a paired two-tailed Student's t-test test was used to compare each test condition, in the case of evidence of normality.

Results

Figure 5 shows the values of mean systolic velocity, in the 6 samples tested according to test A and values of velocity-time integral according to test B. Tracing was measured for all the parameters of interest and for each sample.



**Figure 5** Above - MSV calculated in the 3 different pressure conditions; below - VTI calculated in the 3 different stroke volume conditions.

No significant differences were found in any of the obtained pooled results when comparing the parameter of interest varying pressure conditions in test A. In test B mean systolic and diastolic velocity increase significantly with stroke volume, and also the VTI index.

Discussion

Systemic pressure does not influence the coronary perfusion *in vitro*, while the increase of cardiac output results in an increase of coronary blood flow. The mean systolic velocity is greater than the diastolic one because, without any ventricular

contraction, the coronary flow can follow the trend of the aortic pressure.

**Evaluation of the effect of the implant of CoreValve on coronary perfusion**

The echoDoppler *in vitro* system allowed the understanding of the relationship between the height of implant of a transcatheter aortic valve (TAVI) and the hemodynamics parameters, with particular focus on coronary perfusion.

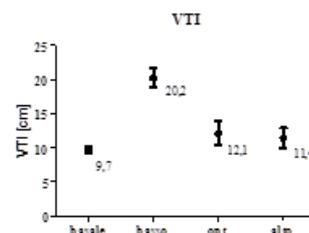
The experimental test is conducted on a single sample with constant frequency, systolic stroke volume and systemic pressure (respectively 70 bpm, 70 ml e 80-120 mmHg). Four conditions were considered: a **basal** condition of the porcine heart without any valve and three different level of implant of the CoreValve: **low**, optimal (**opt**) and **high**.

The parameters calculated for each test are:

- the mean systolic pressure drop across the valve;
- the static reverse flow;
- the velocity-time integral VTI.

Data are evaluated on five consecutive cycles as mean±SD.

**Figure 6** shows the experimental trend of the parameter VTI for each condition of test.



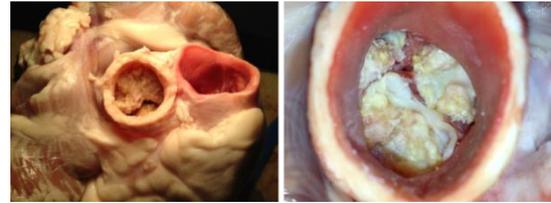
**Figure 6** VTI [cm] for each condition of test.

The coronary perfusion showed a trend almost constant in the different valve implants, comparable with the physiological basal case. The abnormal value of VTI obtained in the low implant can be caused by the presence of bubbles and / or agglomerates of Orgasol entering the coronary vessel as noted in the graphs in PW-Doppler. The test allowed to observe that the CoreValve in low position implies minor static reverse flow ( $RF = 27\% \pm 2\%$ ) and a lower degree of stenosis compared to the other implant's levels.

## DEVELOPMENT OF A PATHOLOGICAL MODEL OF IN VITRO AORTIC STENOSIS

The pathological model of aortic stenosis developed in vitro consists of gluing, using acrylic glue, natural stenotic leaflets, removed in the operating room, on the surface of the aortic porcine valve. This solution was identified together with surgeons and was based on the easily availability of the pathological calcifications and on the possibility of obtaining a model of aortic stenosis similar to the natural one.

The proposed pathological model would also allow clinicians to operate in vitro with structures very similar to those they usually treat in vivo. The process of obtaining stenotic porcine valves follow a protocol based on empirical considerations of the surgeon in recreating the natural morphology of the stenotic valve [6]. (Figure 7)



**Figure 7** *Porcine stenotic valve obtained due to the pathological model.*

### *Experimental tests for the characterization of the pathological model of aortic stenosis*

Experimental preliminary test on 5 samples were carried out in order to check advantages and disadvantages of the protocol of artificial stenosis. Once identified the limits of the model, 2 experiments were conducted with the introduction of a commissures' suture, at a distance of 3 mm from the aortic wall. This strategy aimed at improving the reproducibility and controllability of the degree of stenosis and at reducing the aortic insufficiency, induced by the model.

### Parameters of interest

Tests are conducted with constant frequency, stroke volume and systemic pressure (respectively 70 bpm, 70 ml e 80-120 mmHg).

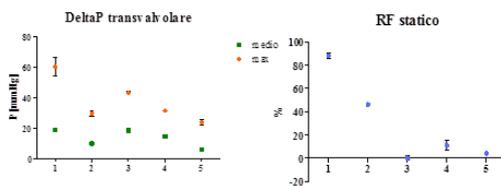
The parameters calculated for each test are:

- the *mean systolic pressure drop across the valve*;
- the *maximum pressure drop across the valve*;
- the *static reverse flow*;

Data are evaluated on five consecutive cycles as  $\text{mean} \pm \text{SD}$ .

## Results

**Figure 8** shows the experimental data of the preliminary test. Pressure drop across the aortic valve reports different values in each samples:  $\Delta P$  is maximum in sample 1 and minimum in sample 3. As mentioned above, the pathological model induced an aortic insufficiency of different degree.



**Figure 8** Experimental tests on 5 samples: on the left – pressure drop across the aortic valve; on the right – static reverse flow.

Experimental data of the 2 tests with the introduction of commissures' suture are shown in Table 1.

Parameters of interest		sample1	sample2
STENOSIS	$\Delta P_{\text{mean syst}}$ [mmHg]	47,5±0,5	38,9±1,7
	$\Delta P_{\text{max}}$ [mmHg]	98,7±2,2	77,9±1,5
insufficiency	RF stat %	11%±3%	11%±4%

**Table 1** Hydrodynamic characterization of the pathological model.

Due to the model the pressure drop across the valve reported values similar in every samples and typical of a severe aortic stenosis ( $\Delta P_{\text{mean}} > 35 \text{ mmHg}$ ). The gluing method induced a static reverse flow of 11%, similar in the 2 samples.

## Discussion

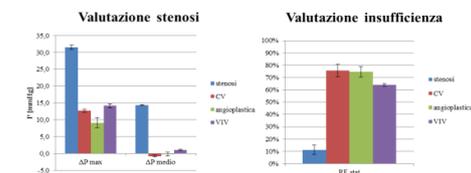
The preliminary test allowed examining the limits of the model: the difficult replication of the degree of stenosis and the formation of

an aortic insufficiency. The introduction of commissures' suture allowed to improve the controllability of the model with which it's possible to obtain aortic valve with moderate to severe stenosis.

## Implantation of CoreValve on an aortic valve with artificial stenosis

The developed pathological model permitted the evaluation of the hydrodynamic effect of the implant of a transcatheter valve in a porcine heart in which a severe aortic stenosis was replicated. Three different conditions were tested: Aortic **stenosis** (obtained with the developed model), implant of CoreValve (**CV**), **angioplasty** technique and implant of a second CoreValve according to the valve-in-valve (**VIV**) procedure.

**Figure 9** shows results for stenosis and insufficiency.



**Figure 9** Evaluation of stenosis and insufficiency.

CoreValve solved the stenosis and caused a reverse flow that is maximum in the first implant and it decreased thanks to next procedures. Pressure drop increased with the implant of the second CoreValve.

## ECHODOPPLER MEASURES AND PATHOLOGICAL MODEL OF AORTIC STENOSIS

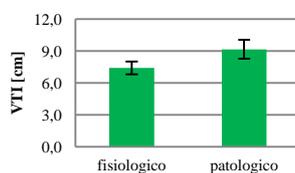
Two tests were conducted to show the potentiality of the new mock loop, after the new developments, with which it is possible to conduct experimental studies that are more versatile and more comparable with the clinical reality. The test protocol is the same used for the characterization of the pathological model; parameters of interest are:

- the *mean systolic pressure drop across the valve*;
- the *maximum pressure drop across the valve*;
- *velocity-time integral VTI of coronary flow*.

### *Effect of the aortic stenosis on coronary perfusion*

Two conditions are tested: a basal physiological one and a pathological one.

**Figure 10** shows the trend of VTI resulted with the experimental test.



**Figure 10** VTI [cm] in physiological and pathological condition.

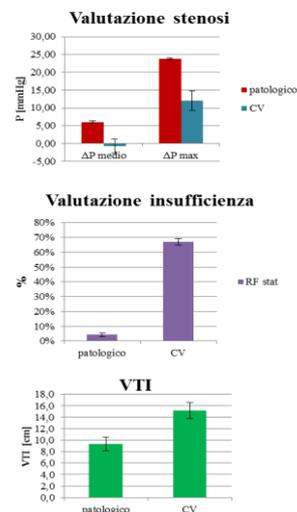
VTI showed a constant trend of coronary perfusion in presence of aortic stenosis, so

the stenosis doesn't induce any alteration of coronary perfusion in the mock loop.

### *Implantation of CoreValve in presence of artificial aortic stenosis: valuation of coronary perfusion*

In the sample two conditions were tested: a **pathological** case and a condition after the implant of a 29 mm **CoreValve**.

Figure 11 shows trend of pressure drop across the aortic valve, static reverse flow and VTI for each tested condition.



**Figure 11** Implant of CoreValve in presence of aortic stenosis.

CoreValve induced a reduction of the pressure drop across the valve and caused a reverse flow of 66%. Coronary perfusion was higher after the implant of CoreValve than without valve.

## CONCLUSION

Thanks to this work echo-Doppler system is been joined to the ultrasound technique, in which the mock loop was already equipped, adding quantitative information on

hemodynamics to imaging. With the echo-Doppler method surgeons are able to analyze hemodynamics effect of aortic stenosis and the implant of a transcatheter aortic valve with an instrument which they are used to apply in surgery.

The optimizations introduced can be used together in order to develop more complete test nearer to the in vivo experiments.

The criticism of the echoDoppler technique is implicit to the precision of the instrument in which the minimum variation of the ultrasounds probe can cause a significant variation of velocity profile detected.

The pathological model developed showed a low controllability that can be solved by the computational replication of calcific deposits.

5. *Ingegneria dei Sistemi*. 2009-2010, Politecnico di Milano: Milano.
5. Hozumi, T., et al., *Noninvasive assessment of coronary flow velocity and coronary flow velocity reserve in the left anterior descending coronary artery by Doppler echocardiography: Comparison with invasive technique*. Journal of the American College of Cardiology, 1998. **32**(5): p. 1251-1259.
6. Magagnin, V., et al., *Nearly automated analysis of coronary Doppler flow velocity from transthoracic ultrasound images: validation with manual tracings*. Medical & Biological Engineering & Computing, 2007. **45**(5): p. 483-493.
7. Bahler, R.C., et al., *Factors leading to progression of valvular aortic stenosis*. The American Journal of Cardiology, 1999. **84**(9): p. 1044-1048.

## REFERENCE

1. Leopaldi, A.M., et al., *In vitro hemodynamics and valve imaging in passive beating hearts*. Journal of biomechanics, 2012. **45**(7): p. 1133-1139.
2. Hozumi, T., et al., *Noninvasive Assessment of Significant Left Anterior Descending Coronary Artery Stenosis by Coronary Flow Velocity Reserve With Transthoracic Color Doppler Echocardiography*. Circulation, 1998. **97**(16): p. 1557-1562.
3. Ramnarine, K.V., et al., *Validation of a New Blood-Mimicking Fluid for Use in Doppler Flow Test Objects*. Ultrasound in Medicine & Biology, 1998. **24**(3): p. 451-459.
4. Alberto M. Leopaldi, L.V., *Sviluppo di un banco prova pulsatile per l'analisi fluidodinamica e cinematica di valvole cardiache su cuore porcino isolato*, in *Facoltà di*

# INTRODUZIONE

Il miglioramento delle condizioni socio-economiche e l'evoluzione nel campo delle terapie mediche hanno determinato, negli ultimi 30 anni, un progressivo innalzamento dell'età media della popolazione e, conseguentemente, un aumento dei pazienti anziani portatori di malattie cardiovascolari. Tali patologie, di cui il 40% è costituito dalle valvulopatie, rappresentano la principale causa di morte nei Paesi Occidentali; si stima che solo in Italia sono responsabili del 44% dei decessi.

Al fine di trattare il maggior numero di pazienti e ridurre l'alta mortalità legata alle malattie cardiovascolari, occorre un miglioramento delle tecniche medico-chirurgiche. Il progresso nel campo delle tecnologie biomediche e lo sviluppo di nuove terapie di tipo mini-invasivo, parallelamente, permetterebbero di condurre operazioni non traumatiche per il paziente con conseguente riduzione dei tempi di degenza in ospedale e dei costi legati al singolo intervento.

Nello scenario descritto risulta sempre più importante, sia per il chirurgo sia per i progettisti di dispositivi biomedicali, comprendere in modo dettagliato ed esaustivo il comportamento post-impianto di una protesi o, semplicemente, individuare la tecnica chirurgica di riparazione valvolare che può migliorare i risultati clinici. Allo stesso modo sarebbe estremamente utile poter simulare un intervento chirurgico mediante un sistema fittizio che si avvicini il più possibile alle condizioni *in vivo*. Ciò consentirebbe di svolgere, *in vitro*, training chirurgici che permettano al personale medico di ottimizzare e standardizzare le procedure riparative, rendendole più affidabili e riducendo la dipendenza del loro successo dall'esperienza dell'operatore.

Attualmente esistono due metodi per valutare l'emodinamica cardiaca: computazionale e sperimentale. Il primo consente un'indagine ideale del sistema anatomico ed è quindi utile nella fase preliminare di studio delle grandezze emodinamiche. Il metodo sperimentale può essere a sua volta condotto *in vivo* e *in vitro*: quello *in vivo* ha come oggetto i modelli animali; quello *in vitro*, grazie alla progettazione di simulatori idraulici, replica l'ambiente biologico e ne consente lo studio in condizioni dinamiche.

Queste due soluzioni si pongono agli antipodi rispetto alle specifiche di controllabilità delle grandezze fluidodinamiche e di ripetibilità degli esperimenti, difficoltose e complesse nei modelli animali, e rispetto alla possibilità di ricreare delle condizioni quanto più fisiologiche per il test, difficilmente raggiungibili in simulatori da laboratorio. Inoltre, se da una parte le prove *in vivo* su animali sono lo standard chirurgico per valutare nuove tecniche operatorie e rappresentano un passaggio indispensabile nella valutazione delle stesse, dall'altra sono di difficile applicazione dati gli elevati costi e i piuttosto lunghi tempi di realizzazione.

Negli ultimi decenni si è assistito ad uno sviluppo dei banchi prova per la simulazione della fluidodinamica cardiaca, che ha avuto come linea guida sia il tentativo di riprodurre in modo sempre più realistico la complessità del sistema biologico sia l'obiettivo di fornire al medico gli strumenti necessari per condurre valutazioni emodinamiche facilmente confrontabili con quelle ottenute *in vivo*.

Scopo del presente lavoro è ottimizzare il banco prova per cuori interi porcini sviluppato da Leopaldi *et al.* al fine di renderlo uno strumento completo sia nel setup sperimentale sia nella strumentazione di misura. Dall'analisi dei vantaggi e delle criticità del banco prova e dal confronto con i simulatori presenti in letteratura, si è stabilito di integrare la metodologia di misura ecoDoppler con l'applicazione *in vitro* per una stima della perfusione coronarica e si è introdotto inoltre un modello di stenosi aortica *in vitro*.

Il lavoro, sviluppato in collaborazione tra il Politecnico di Milano ed l'Università degli studi di Milano - Facoltà di Medicina e Chirurgia, presso il laboratorio ForCardioLab dell'Ospedale Sacco di Milano, si articola in 6 capitoli:

**Capitolo 1:** Descrizione dell'anatomia cardiaca, con particolare attenzione al circolo coronarico e alla valvola aortica; di quest'ultima si esaminerà la patologia della stenosi aortica e si individueranno le principali strategie atte alla sua sostituzione.

**Capitolo 2:** Principali banchi prova allo stato dell'arte; per ognuno si considereranno setup sperimentale e strumentazione di misura. Si descriverà in dettaglio il banco prova oggetto del presente lavoro, del quale si individueranno le ottimizzazioni da introdurre allo stesso e le motivazioni che ne hanno determinato la scelta.

**Capitolo 3:** Descrizione delle strategie per l'applicazione *in vitro* della misura ecoDoppler e delle campagne preliminari per la messa a punto dello strumento di misura i cui risultati

permetteranno di individuare una prova sperimentale di applicazione della tecnica ecoDoppler in uno scenario che si ritrova anche in clinica.

**Capitolo 4:** Individuazione dei metodi di sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica nonché delle campagne sperimentali preliminari di approccio e ottimizzazione del modello. La stenosi aortica replicata *in vitro* verrà utilizzata per condurre una prova sperimentale in cui si valutano gli effetti di diverse procedure, effettuate dal clinico, per risolvere la patologia, a partire dall'impianto transcateretere di una valvola aortica.

**Capitolo 5:** Potenzialità del banco prova dopo l'integrazione dei nuovi strumenti alla strumentazione di misura e al setup sperimentale mediante due prove sperimentali esempio per ulteriori studi futuri.

**Capitolo 6:** Discussione su vantaggi, criticità e sviluppi futuri del lavoro condotto.

# CAPITOLO 1

## 1. Anatomia cardiaca e fisiopatologia della valvola aortica

### Introduzione

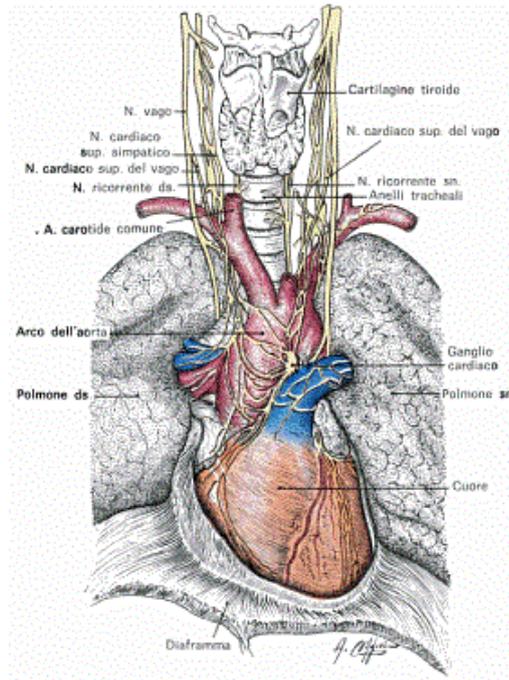
La presente tesi permette uno studio sulla fluidodinamica di due elementi del miocardio: il circolo coronarico e la valvola aortica. Il primo viene studiato in condizioni fisiologiche con il metodo Doppler, mentre per il secondo si vuole ottenere un modello patologico di stenosi aortica *in vitro*.

Nel Capitolo 1 pertanto dopo una breve descrizione dell'anatomia cardiaca, si prendono in considerazione la valvola aortica e il circolo coronarico. Per entrambi gli elementi anatomici si analizza inizialmente la morfologia e fisiologia in condizioni fisiologiche; per il circolo coronarico si descrive l'andamento del flusso ematico sia nel ramo sinistro, sia destro.

Si considerano successivamente le patologie che interessano la valvola aortica, con particolare attenzione alla stenosi aortica, di cui si approfondiscono la fisiopatologia e i possibili approcci terapeutici di sostituzione chirurgica e di impianto di protesi valvolare. Si descrive in dettaglio la terapia di impianto transcateretere di valvola aortica (TAVI), approccio innovativo per il trattamento della stenosi aortica severa, che verrà studiato in diverse prove sperimentali condotte nella tesi. Si indicano i dispositivi attualmente in uso, nonché i vantaggi e le criticità della terapia TAVI.

## 1.1 Caratterizzazione anatomica del cuore

Il cuore, organo centrale dell'apparato circolatorio, permette con la sua meccanica pulsatile, di mantenere la circolazione del sangue nelle arterie, nelle vene e nelle reti capillari. Costituito da tessuto muscolare a forma di cono schiacciato, è situato nello spazio compreso tra i due polmoni, detto mediastino, sopra il diaframma, leggermente spostato verso sinistra, e protetto dalla gabbia toracica. (Figura 1.1)



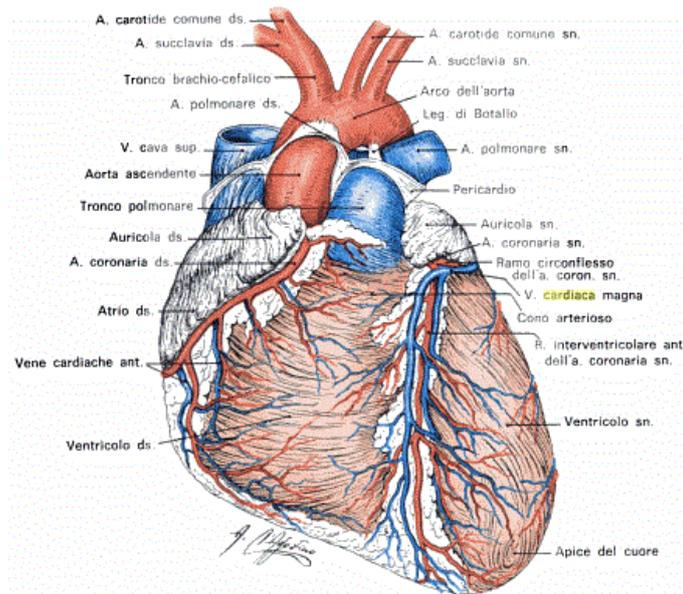
**Figura 1.1** Immagine frontale del cuore, in sede, con pericardio aperto e margini polmonari stirati in fuori.[8]

Ai fini della descrizione risulta molto utile dividere il cuore in due metà: una destra o cuore destro e una sinistra o cuore sinistro. Queste metà sono separate per tutta la loro lunghezza da un setto longitudinale che prende il nome *setto interatriale* in corrispondenza degli atri e *interventricolare*, tra i due ventricoli. Le due metà sono rispettivamente costituite da una cavità superiore, detta *atrio* che comunica attraverso la *orificio atrioventricolare*, con una cavità inferiore detta *ventricolo*. Le sue pareti sono costituite da tre tonache sovrapposte. La più esterna e' detta *pericardio*, una membrana sierosa che forma un sacco a doppia parete bagnata internamente da un sottile strato di liquido pericardico; la più interna, l'*endocardio*, è formata da cellule epiteliali che rivestono la superficie interna. Quella interposta tra le due, detta *miocardio*, è costituita da tessuto muscolare striato.

### 1.1.1 Configurazione esterna

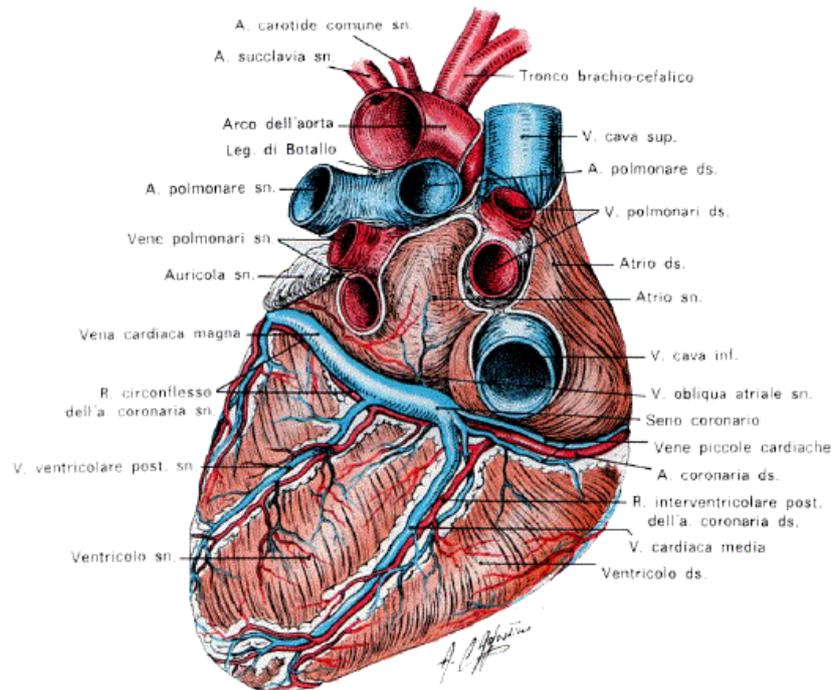
Il cuore mostra una *faccia anteriore o sterno-costale*, una *posteriore diaframmatica*, una *base* che guarda in alto, un *margin destro*, un *margin sinistro* e una *punta o apice*. Un solco trasversale e superficiale, detto *solco coronarico*, è diretto normalmente all'asse maggiore e segna sul cuore il limite tra la porzione superiore formata dagli atri e quella inferiore dai ventricoli.

Sulla *faccia sterno-costale*, in Figura 1.2, prevale la parte destra del cuore; questa faccia mostra tutta la superficie anteriore dell'orecchietta destra e gran parte del ventricolo di destra. Dell'atrio sinistro si intravede solo quella parte di auricola che abbraccia l'arteria polmonare. Del ventricolo di sinistra si osserva soltanto l'esigua porzione situata a sinistra del solco interventricolare anteriore, tenuto dal ramo discendente dell'arteria coronarica di sinistra.



**Figura 1.2** *Faccia anteriore del cuore* [8]

La *faccia diaframmatica* (Figura 1.3) mostra nella porzione atriale il solco interatriale, solco longitudinale a concavità volta verso sinistra. L'atrio destro si svolge particolarmente su questa faccia ed è ancorato al diaframma dall'orificio di sbocco della vena cava inferiore. Corre nel solco atrio-ventricolare posteriore il *solco coronarico* da cui si diparte, dentro la cavità dell'atrio destro, il sangue refluo dalla circolazione intrinseca del cuore.



**Figura 1.3** Faccia posteriore del cuore. [8]

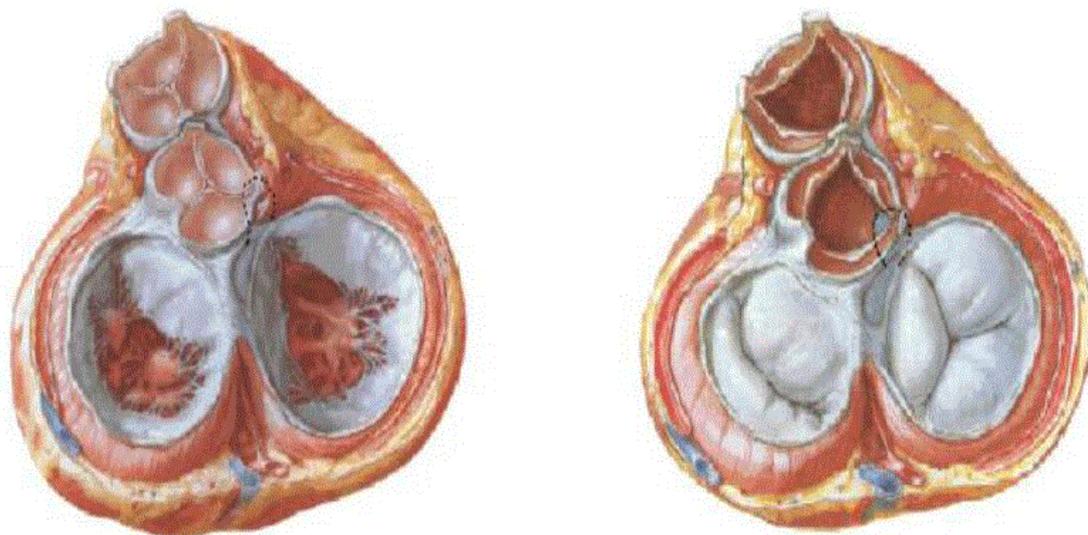
La *punta* o *apice* del cuore è costituita quasi completamente dall'apice del ventricolo sinistro che sporge più in basso del destro. Sulla punta si congiungono i due solchi interventricolari, quello che proviene dalla faccia anteriore dei ventricoli e quello che discende dalla faccia posteriore. Si costituisce così l'incisura dell'apice del cuore. Poiché l'apice è corrispondente al ventricolo di sinistra la punta del cuore si sposta in basso e in fuori oltre i limiti normali in caso di ipertrofia e dilatazione del ventricolo di sinistra.

### 1.1.2 Configurazione interna

Il cuore è composto da quattro cavità: due atri e due ventricoli, comunicanti tra loro attraverso degli orifici atrio-ventricolari. Gli atri ricevono il sangue dal sistema circolatorio periferico e da quello polmonare e ne permettono il deflusso nei ventricoli, i quali pompano il flusso ematico verso l'esterno del cuore.

Nell'atrio di destra confluiscono tre vene: la *cava inferiore*, la *cava superiore* e la *grande vena coronarica*; nell'atrio di sinistra, invece, le *vene polmonari* che portano sangue ossigenato. Dal ventricolo destro ha inizio l'*arteria polmonare*, mentre da quello sinistro parte l'*aorta*.

All'interno del cuore sono presenti due valvole che collegano gli atri ai ventricoli: la *valvola mitrale*, tra atrio e ventricolo sinistro e la *valvola tricuspide* che collega atrio e ventricolo destro. Come gli orifizi atrio-ventricolari, anche quelli tra ventricoli e arterie sono occupati da dispositivi valvolari: la *valvola aortica* e la *valvola polmonare*.



**Figura 1.4** Cuore visto dall'alto con gli atri asportati. A sinistra si osserva la fase di diastole (valvole mitrale e tricuspide aperte) e a destra in sistole (valvole aortica e polmonare aperte). [9]

Le valvole cardiache sono formate da lamine fibrose (cuspidi) inserite negli anelli fibrosi dello scheletro del cuore. Le valvole atrio-ventricolari sono costituite da tre o due lamine: la *tricuspide* nel cuore destro è formata da tre lamine, e la *mitrale* a sinistra, presenta invece due lamine. (Figura 1.4)

A valvola aperta, le cuspidi ripiegano verso il ventricolo spinte dal flusso di sangue, mentre a valvola chiusa esse vengono mantenute orizzontali dalla contrazione dei *muscoli papillari* che impediscono la loro estroflessione verso gli atri.

Le valvole semilunari dell'*aorta* e dell'*arteria polmonare* sono formate entrambe da tre lamine fibrose a forma di tasche a nido di rondine. Quando il sangue, durante la contrazione, esce dai ventricoli e passa nelle due arterie, le lamine aderiscono alle pareti dei vasi lasciando fluire il sangue. Al termine della contrazione, le tasche valvolari si riempiono di sangue e si chiudono, impedendo così il reflusso nei ventricoli.

Al centro del margine libero della lamina della valvola aortica, in particolare, è presente un ispessimento con funzione di chiudere anche il piccolo foro, detto *Nodulo di Aranzio*, che rimane tra le tasche a valvola chiusa.

È importante chiarire che apertura e chiusura delle valvole cardiache avvengono passivamente per differenza di pressione a monte e valle di ciascuna valvola.

## 1.2 Valvola aortica

La *valvola aortica* che, si ricorda, collega il ventricolo sinistro con l'aorta, giace sullo stesso piano della mitrale ed è costituita da tre foglietti: coronarico destro, non coronarico e coronarico sinistro. La presenza dei tre foglietti garantisce una completa chiusura della valvola, assicurata inoltre per la presenza di un leggero inspessimento fibroso, detto *Nodulo di Aranzio*.

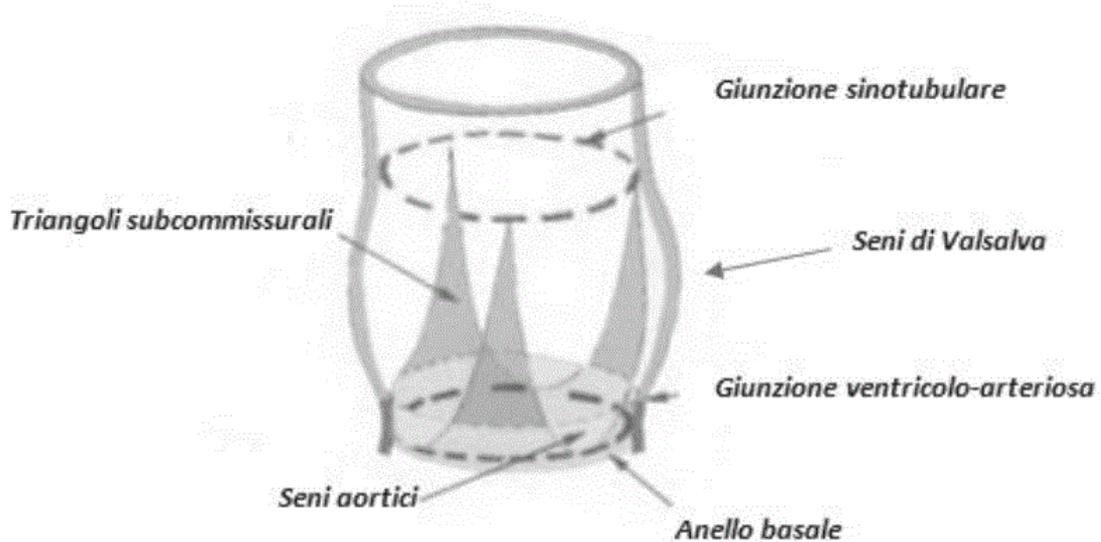


**Figura 1.5** Anatomia della valvola aortica a seguito di una resezione. Si distinguono gli osti coronarici e le corde tendinee della valvola mitrale. [9]

In Figura 1.5 si osserva la *continuità mitro-aortica*: il lembo anteriore della valvola mitrale è in diretto contatto con le cuspidi non coronarica e coronarica sinistra.

### 1.2.1 Unità funzionale radice aortica

La *radice aortica* è la porzione del tratto di efflusso del ventricolo sinistro dove sono alloggiati i lembi valvolari aortici. Si tratta di un'unità che funziona in relazione con l'aorta così come con il ventricolo sinistro. La radice aortica, mostrata in Figura 1.6, è formata da cinque elementi: l'*annulus aortico* o *giunzione ventricolo-arteriosa*, i *foglietti valvolari aortici* o *lembi* o *cuspidi*, i *seni di Valsalva* o *seni aortici*, i *triangoli subcommissurali* e la *giunzione senotubulare*.



**Figura 1.6** Anatomia dell'unità funzionale aortica. [10]

I *seni di Valsalva* costituiscono quella porzione espansa della radice aortica in cui si attaccano le inserzioni dei foglietti della valvola, nella parte prossimale e, distalmente, la giunzione senotubulare. Ogni seno prende il nome dalla coronaria che ne origina, si parla perciò di *seno destro*, *sinistro* e *non-coronarico*. Quando la valvola aortica è chiusa ogni foglietto si mette in diretto contatto con i lembi circostanti, dalla periferia verso il centro. Verso la periferia, dove i lembi si inseriscono nella parete aortica c'è un aumento di tessuto fibroso conosciuto come *commissure*.

La *giunzione senotubulare*, la quale delinea la parte superiore della radice aortica, è circolare e composta prevalentemente da tessuto elastico; convergono su i vertici superiori dei *triangoli subcommissurali*. (Figura 1.6)

I *foglietti della valvola* sono la porzione della radice aortica che separa, da un punto di vista emodinamico, l'aorta dal ventricolo sinistro. La linea di inserzione dei lembi valvolari nella parete dei seni corrisponde alla *giunzione ventricolo-arteriosa virtuale*. Esso, estendendosi fino al nadir di ogni foglietto valvolare, incrocia la *giunzione anatomica ventricolo-arteriosa*. In questo modo, parte della parete delle strutture di supporto ventricolare risulta incorporata tra i seni valvolari, tra cui tre triangoli di parete arteriosa localizzati subito sotto degli apici della zona di apposizione dei foglietti nei punti di attaccatura alla giunzione senotubulare: si tratta dei *triangoli subcommissurali*. (Figura 1.7)

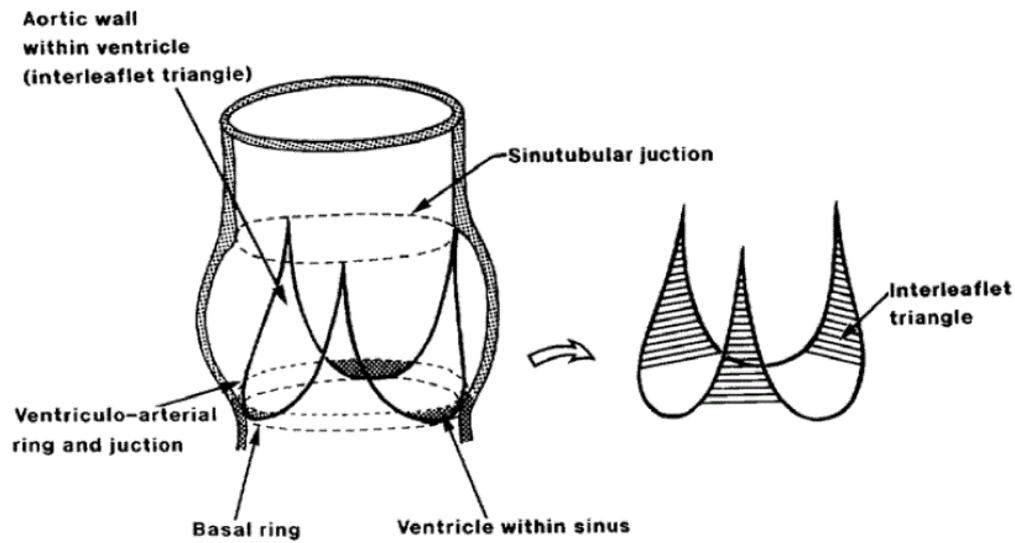


Figura 1.7 I triangoli subcommissurali all'interno dell'unità funzionale radice aortica. [11]

### 1.3 Il circolo coronarico

Il cuore, benché sia continuamente riempito di sangue, necessita di una rete vascolare che lo perfonda e apporti nutrimento ai miociti che costituiscono lo spesso tessuto muscolare. L'aorta, connessa al ventricolo sinistro, trasporta sangue ossigenato verso tutti i distretti corporei e le prime sue due ramificazioni, dette *arteria coronarica sinistra* (Left Coronary Artery LCA) e *destra* (Right Coronary Artery RCA), sono destinate all'irrorazione del cuore stesso.

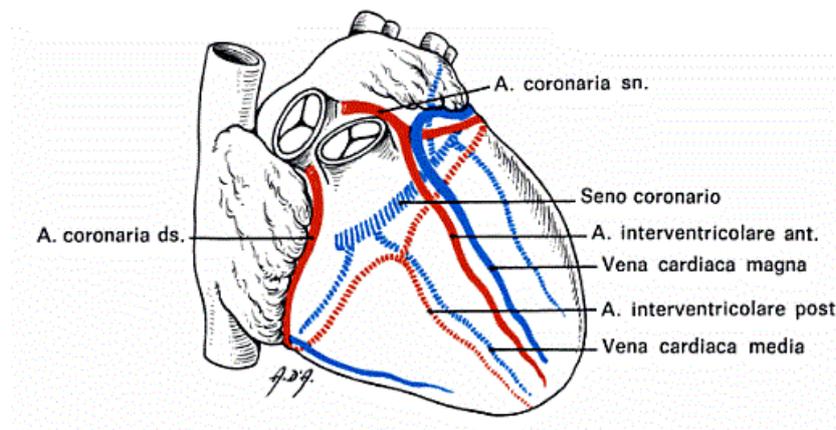


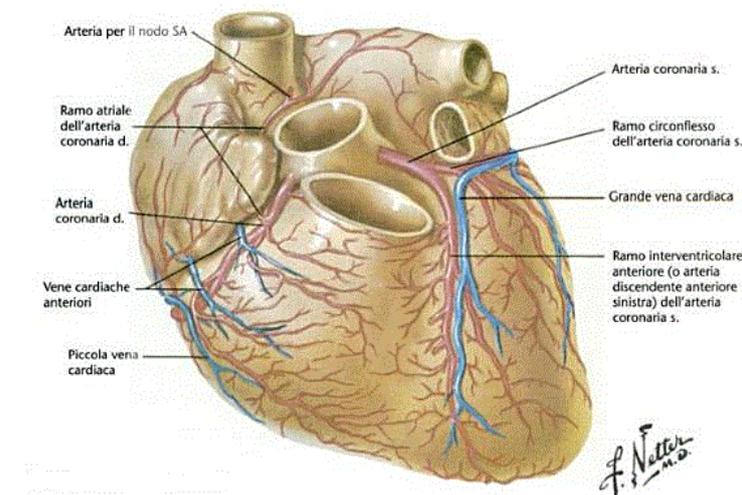
Figura 1.8 Disegno schematico delle arterie e vene del cuore. In punteggiato arterie e vene nella faccia posteriore. [8]

Le *arterie coronarie* devono il proprio nome al disegno del loro cammino; correndo nel solco atrio-ventricolare o solco coronarico, l'una verso destra, l'altra verso sinistra, compongono una regolare corona arteriosa che si stringe sul cuore al limite tra gli atri e i

ventricoli. Da questo cerchio si dipartono rami che risalgono verso gli atri, e rami che scendono sulle pareti ventricolari; di questi ultimi i maggiori sono le due *arterie interventricolari*, una che scende nel *solco longitudinale anteriore*, l'altra che occupa il *solco longitudinale posteriore*. (Figura 1.8)

L'arteria coronarica di sinistra (Left main Coronary Artery LCA) nasce nel seno aortico sinistro di Valsalva (Figura 1.9) in prossimità del suo bordo superiore, circa a livello del bordo libero della cuspidè valvolare. Essa di solito ha un breve *tronco comune* (0,5-2 cm), che si divide in due o più rami.

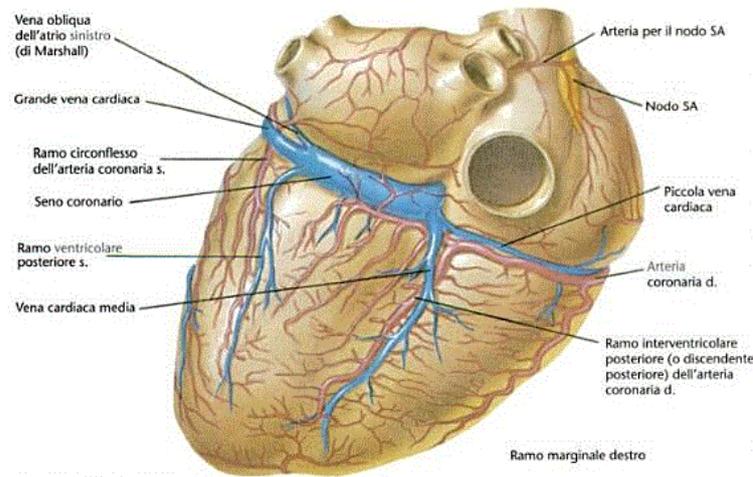
Il ramo *interventricolare discendente anteriore* (LAD) decorre nel solco omonimo in direzione dell'apice cardiaco, avvolto abbondantemente da grasso. Contorna il margine acuto del cuore, appena a destra dell'apice, e sale per un breve tratto nel solco interventricolare posteriore. La LAD emette collaterali per la parete anteriore del ventricolo destro, fornisce settali, che irrigano i due terzi anteriori del setto e il setto apicale, emette un ramo generalmente più grosso che irrorà la parte media del setto, il Fascio di His e le sue branche ed a volte anche il muscolo papillare anteriore del ventricolo destro.



**Figura 1.9** Faccia sterno-costale del cuore. In evidenza le arterie coronariche. [9]

Il *ramo circonflesso* (LCX) dell'arteria coronarica sinistra decorre nel solco atrio-ventricolare sinistro e dà origine a rami diretti alla parete laterale superiore del ventricolo sinistro ed all'atrio sinistro. Talvolta raggiunge il punto d'incrocio tra solco interventricolare posteriore e solco atrio-ventricolare posteriore (Figura 1.10): in questo

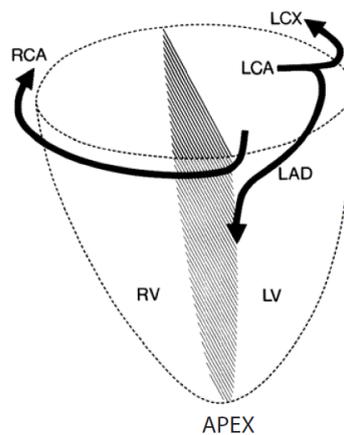
caso irrori tutto il ventricolo sinistro e il setto interventricolare insieme all'arteria coronarica destra.



**Figura 1.10** Faccia diaframmatica del cuore. [9]

### 1.3.1 Arteria coronarica destra

L'arteria coronarica destra (RCA) nasce del seno destro di Valsalva dell'aorta o della cusvide anteriore della valvola aortica e decorre, circondata da grasso, nel solco atrio-ventricolare destro, come mostrato in Figura 1.9. Quasi sempre raggiunge la *crux cordis* del cuore, che rappresenta il punto in cui si incrociano il solco coronarico e il solco interatriale posteriore. Attraverso diversi rami irrori la parte anteriore del ventricolo destro e la parte diaframmatica del ventricolo destro. (Figura 1.11)



**Figura 1.11** Cuore in sezione frontale in relazione al piano coronarico (circonferenza tratteggiata) e al piano interventricolare (piano ombreggiato). La RCA gira intorno alla parte destra del cuore mentre la LCX, ramo principale della LCA, gira attorno alla parte sinistra. La LAD, altra ramificazione della LCA, discende lungo il setto interventricolare verso l'apice del cuore. [12]

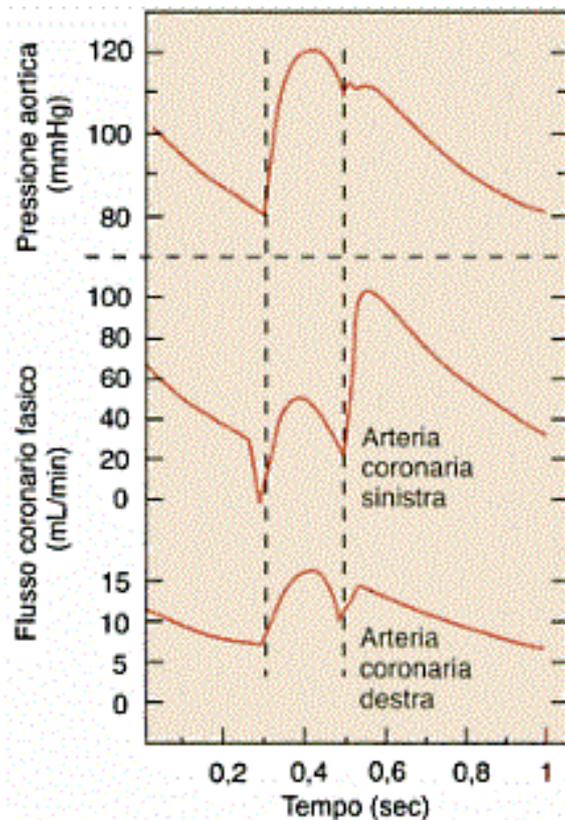
### 1.3.2 Flusso coronarico

La circolazione coronarica dipende da diversi fattori e condizioni, principalmente:

- Differenza di pressione ( $\Delta P$ ) tra monte e valle del circolo coronarico;
- Attività metabolica del miocardio;
- Azione meccanica del cuore durante il ciclo cardiaco.

La principale forza responsabile della perfusione del miocardio è la pressione arteriosa, originata dall'attività del cuore stesso. Variazioni della pressione aortica provocano variazioni parallele del flusso coronarico.

Le modifiche del lavoro cardiaco, conseguenti ad aumenti e riduzioni della pressione arteriosa, influenzano notevolmente le resistenze coronariche. L'incremento dell'attività metabolica del cuore induce le resistenze coronariche a ridursi, mentre un decremento del metabolismo cardiaco le aumenta. In condizioni normali, la pressione arteriosa è mantenuta entro limiti piuttosto ristretti grazie al meccanismo dei riflessi barorecettivi.



**Figura 1.12** Confronto fra flusso coronarico nell'arteria coronarica sinistra e destra in funzione della pressione aortica. [13]

Il cuore influenza il proprio flusso ematico anche grazie ad una azione meccanica di compressione, esercitata dalla contrazione stessa del miocardio sui vasi sanguigni che lo

attraversano (compressione extravascolare o resistenza extracoronarica). Durante la prima fase della sistole ventricolare si sviluppa una forza notevole tale da invertire il flusso sanguigno nelle grosse arterie coronariche che irrorano il ventricolo sinistro. Il massimo flusso nell'arteria coronarica sinistra avviene nella fase iniziale di diastole, quando i ventricoli sono rilasciati e la compressione extravascolare sui vasi coronarici è praticamente nulla.

Come risultato dei fenomeni di regolazione della perfusione coronarica appena descritti, il flusso coronarico assume un andamento diverso nell'arteria coronarica sinistra e in quella destra. (Figura 1.12)

Il *flusso coronarico nell'arteria coronarica sinistra* ha un andamento fasico: dopo una leggera inversione del flusso nella fase iniziale della sistole, il flusso segue l'andamento della pressione dell'aorta fino alla prima parte della diastole, quando aumenta improvvisamente; poi diminuisce lentamente seguendo la pressione aortica nella fase finale del ciclo.

Nell'*arteria coronarica destra* il flusso è simile, ma, a causa della minore pressione sviluppata durante la sistole dalla parete sottile del ventricolo destro, non c'è inversione di flusso nella fase iniziale della sistole. Inoltre nella prima fase della diastole non è presente il picco di flusso osservato nel ramo sinistro.

Il flusso coronarico sinistro differisce da quello destro anche dal punto di vista quantitativo; nella parte sinistra la portata è molto maggiore di quella destra, dato che le due grandi arterie coronariche sinistre, ossia l'arteria discendente interventricolare (LAD) e l'arteria circonflessa (LCX), diffondono la parte sinistra del cuore che risulta superficialmente più estesa e ha una parete più spessa rispetto alla parte destra.

#### 1.4 Patologie della valvola aortica

In questo paragrafo si analizzano le patologie che interessano la valvola aortica, con particolare riferimento alla stenosi aortica, malattia interessata nell'impianto transcateretere preso in oggetto nel progetto di tesi.

La valvola aortica può essere stenotica o insufficiente, o presentare contemporaneamente entrambi i tipi di vizio, a causa di alterazioni proprie dei lembi

valvolari o di lesioni che interessano l'aorta ascendente o il cono di efflusso del ventricolo sinistro.

La stenosi si presenta, alla massima apertura, come un restringimento dell'orifizio valvolare che costituisce un'ostruzione per il flusso ematico in uscita dal ventricolo sinistro e comporta, come primo effetto emodinamico, lo sviluppo di un'abnorme caduta di pressione ( $\Delta P$ ) a cavallo della valvola.

Con il termine insufficienza aortica si indica quella valvulopatia che implica la parziale coaptazione dei lembi valvolari e comporta un'imperfetta tenuta valvolare e l'instaurarsi di un reflusso diastolico di sangue nel ventricolo sinistro.

Entrambi i vizi possono essere congeniti o derivanti da malattie infiammatorie o degenerative che intervengono su valvole normali o congenitamente alterate.

#### 1.4.1 Stenosi aortica

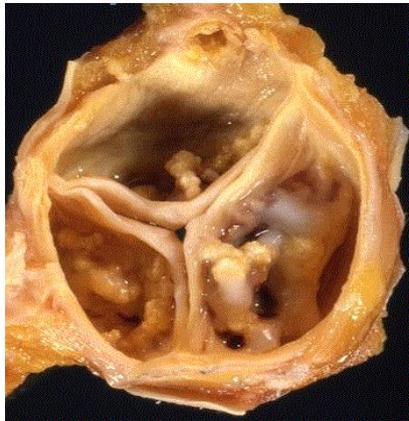
Nei Paesi sviluppati, la stenosi aortica è una delle principali patologie valvolari cardiache; essa può manifestarsi in seguito a anomalia congenita, infezione, febbre reumatica o è spesso conseguenza dell'invecchiamento.

Le *anomalie congenite* sono costituite dalla valvola aortica bicuspidale o monocuspidale. Benché la valvola aortica bicuspidale non presenti di per sé stenosi, l'evoluzione verso questa patologia ne costituisce la complicanza più frequente. La particolare configurazione a due lembi fa sì che questo tipo di valvole siano più soggette a lesioni degenerative analoghe a quelle che colpiscono le normalmente tricuspide. La sola valvola intrinsecamente stenotica è la valvola unicuspidale.

Le patologie acquisite sono rappresentate dalla *malattia reumatica* e dalla *malattia degenerativa* dell'anziano. La significativa riduzione dei casi di malattie reumatiche (nei Paesi occidentali) e l'aumento della durata della vita sono i motivi per cui, attualmente, la malattia degenerativa è la causa più frequente di stenosi valvolare aortica.

Il meccanismo attraverso cui una valvola aortica tricuspide sana diventa stenotica è simile a quello che porta all'aterosclerosi. Infatti, la placca iniziale della stenosi è assimilabile a quella della patologia coronarica citata ed inoltre vi è un'alta coincidenza di entrambe le patologie nello stesso individuo. La stenosi aortica da calcificazione è causata

principalmente da depositi di calcio solido all'interno delle cuspidi della valvola e secondariamente dalla loro fusione (Figura 1.13).



**Figura 1.13** Valvola aortica affetta da stenosi non reumatica calcifica.

#### 1.4.2 Fisiopatologia della valvola aortica

L'aumento della resistenza valvolare al passaggio di sangue durante la sistole determina l'aumento del  $\Delta P$  tra il ventricolo sinistro e l'aorta ascendente. L'aumento di pressione sistolica determina una condizione di sovraccarico cronico al quale il ventricolo si adegua mediante il meccanismo dell'*ipertrofia miocardica concentrica*, dovuta ad una aumentata sintesi dei sarcomeri che si dispongono in parallelo determinando un aumento dello spessore parietale. Il cuore con l'*ipertrofia* riesce a farsi carico di un lavoro maggiore mantenendo una portata cardiaca normale ma provoca, parallelamente, una riduzione delle performance diastoliche per la minore compliance della cavità ventricolare. [14]

L'*ipertrofia* diventa, alla lunga, causa stessa di patologia, per aumento del fabbisogno di ossigeno, ipoflusso coronarico del miocardio ipertrofico, insorgenza di fibrillazione atriale e insufficienza cardiaca, fino al deterioramento clinico.

La sintomatologia di un paziente affetto da stenosi aortico sono :

- Dispnea;
- Insufficienza cardiaca;
- Angina pectoris;
- Sincope;
- Morte improvvisa.

## 1.5 Trattamenti riparativi della stenosi aortica

Nel valutare le indicazioni chirurgiche nei pazienti portatori di stenosi aortica bisogna tenere conto della fisiopatologia della malattia, della presenza o meno di una sintomatologia clinica, dell'età del paziente, oltre all'eventualità di dover eseguire l'intervento in condizioni di emergenza. Gli indici ecocardiografici che vengono presi in considerazione sono la caduta di pressione ( $\Delta P$ ) transvalvolare massima e media e l'area valvolare; recentemente sono stati introdotti nuovi indici complementari al fine di fornire maggiori informazioni (vedi **Tabella 1.1**).

<b>grado stenosi aortica</b>	<b><math>\Delta P</math> transvalvolare medio</b>	<b>area valvolare</b>
<i>severa</i>	> 40 mmHg	< 0,60 cm <sup>2</sup>
<i>moderata</i>	20-40 mmHg	0,60 - 0,85 cm <sup>2</sup>
<i>lieve</i>	< 20 mmHg	> 0,85 cm <sup>2</sup>

**Tabella 1.1** Classificazione della stenosi aortica secondo la gravità. [15]

Esistono diversi metodi per trattare una valvola aortica stenotica:

- approccio di riparazione della valvola nativa (valvuloplastica);
- trattamento di sostituzione chirurgica (Aortic Valve Replacement AVR);
- impianto transcateretere di valvola aortica (Transcatheter Aortic Valve Implant TAVI).

### 1.5.1 Valvuloplastica aortica

Con la valvuloplastica aortica si corregge il difetto della valvola senza dover ricorrere alla sua sostituzione; questa tecnica viene tipicamente condotta con dilatazione dell'annulus stenotico attraverso catetere a palloncino. [16]

La valvuloplastica è una terapia mini-invasiva ma è consigliabile solo nei bambini e in coloro che presentano lembi valvolari sottili e flessibili, in casi più avanzati si ricorre alla sostituzione chirurgica. Questa procedura è considerata finora una misura palliativa, che mira ad una temporanea riduzione dei sintomi legati alla patologia stenotica ed è, inoltre, gravata da complicanze come il distacco di frammenti calcifici della valvola nativa con embolizzazione cerebrale ed ictus, trasformazione della stenosi in insufficienza anche importante della valvola.

In uno studio condotto da Haberthur *et al.* [17] si analizzano gli effetti della valvuloplastica aortica attraverso un simulatore fluidodinamico in vitro. Nello studio

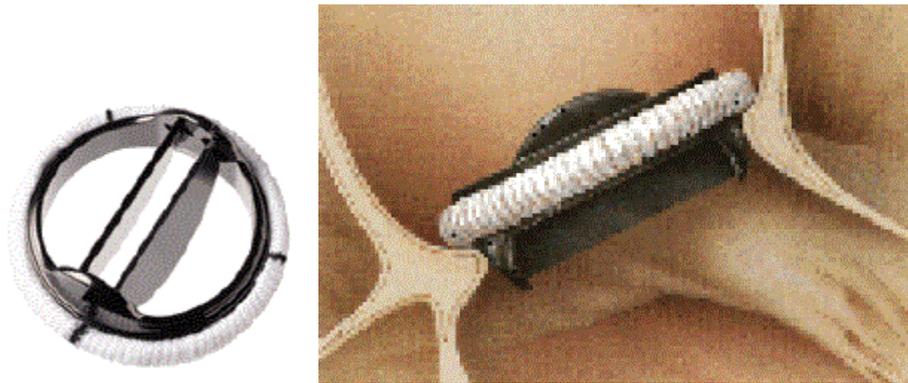
vengono trattati nove cuori con stenosi aortica severa con il trattamento di valvuloplastica. Una frazione dei detriti di calcio, che costituivano la stenosi, rimangono in circolo e vengono raccolti in uscita nelle arterie coronarie, filtrati e analizzati per peso e dimensioni. I risultati ottenuti riportano una media di 18 particelle più larghe di 1 mm e circa 6000 particelle di grandezza minore di 1 mm nelle arterie coronarie, dimostrando il rischio elevato di occlusione dei vasi coronarici e conseguenti infarto, embolizzazione cerebrale e ictus.

### 1.5.2 Sostituzione chirurgica della valvola aortica

La sostituzione valvolare aortica (dall'acronimo inglese Surgical Aortic Valve Replacement SAVR) è la procedura d'elezione in età adulta per il trattamento della stenosi aortica; essa permette la completa scomparsa della sintomatologia dispneica, anginosa e sincopale. La mortalità operatoria è molto bassa (1%) nei pazienti con stenosi aortica severa che vengono sottoposti ad intervento chirurgico programmato in assenza di insufficienza cardiaca, di coronopatia o di altre malattie sistemiche associate. Numerosi sono i fattori che intervengono sfavorevolmente, aumentandone il rischio chirurgico:

- età avanzata;
- obesità e broncopatia cronica ostruttiva;
- severa disfunzione del ventricolo sinistro;
- insufficienza renale cronica;
- interventi chirurgici associati.

Le protesi utilizzate per la sostituzione valvolare sono essenzialmente di due tipi: biologiche o meccaniche. Le *valvole di tipo meccanico*, di cui si mostra un esempio in Figura 1.14, assicurano una performance di lunga durata (fino a 30 anni) ma necessitano di terapia anticoagulante a vita e non sono esenti da complicanze correlate quali eventi tromboemolitici e sanguinamento correlato alla terapia anticoagulante.



**Figura 1.14** *Protesi valvolare aortica meccanica*

Le *bioprotesi* (Figura 1.15) non necessitano di terapia anticoagulante permanente ma, di contro, hanno una durata limitata (circa 15 anni). Lesioni delle cuspidi, degenerazione, perforazione, fibrosi e calcificazione sono possibili complicanze che sembrano manifestarsi più nei pazienti giovani che in quelli più anziani. Questo è probabilmente correlato alla maggiore sintesi del calcio nei pazienti più giovani.



**Figura 1.15** *Carpentier-Edwards (Edwards Lifesciences Inc.; Irvine, CA).*

Esiste un crescente interesse verso le protesi di tipo biologico stentless perché, da recenti studi, si dimostrano emodinamicamente migliori di quelle dotate di stent sia nell'immediato post-operatorio, sia a due anni dall'intervento di sostituzione valvolare. Per i pazienti con più di 60 anni la tendenza è quella di utilizzare protesi di tipo biologico poiché, nonostante la durata di questo tipo di valvola sia limitata a circa 15 anni, offrono il grande vantaggio di non richiedere una terapia anticoagulante. Questo ultimo fattore è molto importante nei soggetti anziani, per i quali, infatti, il rischio di sanguinamento legato alla terapia anticoagulante aumenta con l'età, superando il 6% oltre i 70 anni.

### 1.5.3 Impianto transcateretere di valvola aortica (TAVI)

L'impianto transcateretere della valvola aortica (Transcatheter Aortic Valve Implantation o TAVI) è una tecnica in rapida evoluzione considerata attualmente come un'alternativa alla sostituzione chirurgica della valvola aortica per i pazienti affetti da stenosi aortica acuta che non possono essere sottoposti all'approccio chirurgico tradizionale (intervento di sostituzione valvolare aortica a torace aperto, in anestesia generale). La TAVI, per essere messa in atto, necessita di un team multi-disciplinare formato da chirurgo, cardiologo interventista, anestesista e tecnico di imaging, opportunamente addestrati per questa procedura. Questi team devono operare in centri certificati, dotati di attrezzature e risorse specializzate necessarie per praticare la TAVI.

#### 1.5.3.1 *Introduzione alla terapia TAVI*

In Europa, il progressivo innalzamento dell'età media della popolazione, il parallelo miglioramento delle condizioni di benessere socioeconomico e l'evoluzione nel campo delle terapie mediche hanno portato ad un notevole aumento del numero di pazienti anziani portatori di malattie cardiovascolari. Per dare un'idea delle dimensioni del problema, è stato calcolato che nel 2050 il numero di persone oltre i 65 anni di età salirà, rispetto ad ora, del 70% ed il numero di quelle oltre gli 80 anni addirittura del 170%. Questi dati pongono due importanti obiettivi per il 21° secolo: da una parte riuscire ad adattare i Sistemi Sanitari affinché possano sopportare il carico economico-assistenziale legato alla massa di popolazione anziana portatrice di patologie cardiovascolari che ad essi affluisce, ed affluirà sempre più, dall'altra elaborare una strategia di trattamento terapeutico personalizzato, il più possibile ottimale per il singolo paziente. [18]

Tra le patologie cardiovascolari più frequenti si osserva la stenosi valvolare aortica severa, che richiede un trattamento chirurgico di sostituzione della valvola. Il problema della stenosi aortica importante nell'anziano non è solo legato all'età del paziente, ma anche alle co-morbilità spesso associate (disfunzione ventricolare sinistra, cardiopatia ischemica e/o valvolare associata, diabete mellito, insufficienza renale, insufficienza respiratoria per malattie respiratorie croniche, epatopatie croniche etc..). È stato calcolato che più del 30% dei pazienti anziani portatori di malattie valvolari cardiache croniche teoricamente da operare non vengono sottoposti ad intervento cardiocirurgico di sostituzione valvolare, principalmente a causa di età avanzata e presenza di multiple co-

morbilità. D'altra parte, se si dovessero trattare questi stessi pazienti con la sola terapia farmacologica, essi avrebbero una cattiva prognosi, che peggiora con l'avanzare dell'età e con l'instaurarsi di disfunzione ventricolare sinistra, scompenso cardiaco ed insufficienza renale.

Il primo impianto TAVI è stato introdotto in pratica clinica nel 2002 dal dottor Cribier a Rouen, in Francia. L'idea innovativa di questo impianto è stata quella di sfruttare il principio della valvuloplastica, ma, anziché limitarsi esclusivamente al gonfiaggio del palloncino per dilatare il lume della valvola nativa, si posiziona una valvola artificiale, le cui pareti vengono forzate nella radice aortica nativa, al fine di ripristinare la corretta emodinamica del sistema ed evitare la toracotomia. [19]

A questo primo impianto seguono una serie di esperienze singole e multicentriche, che hanno dimostrato come la TAVI sia fattibile, relativamente esente da gravi complicanze ed efficace, in pazienti con stenosi aortica severa e gravi comorbilità associate.

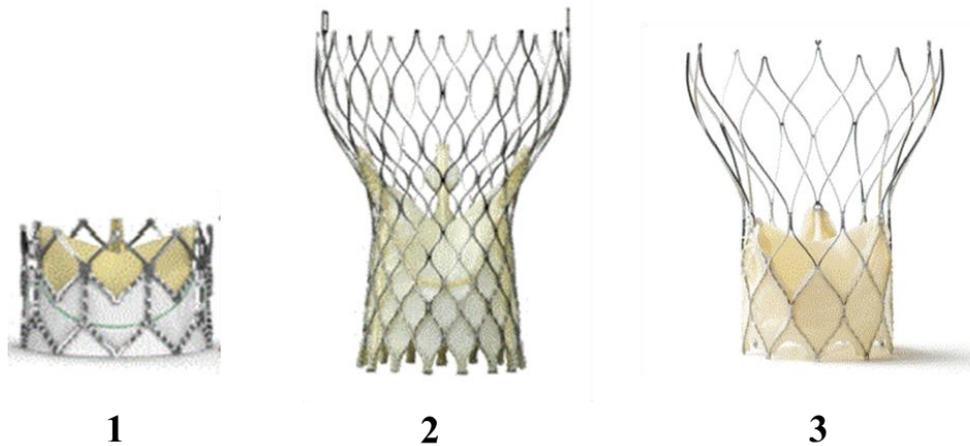
La TAVI supera i limiti delle terapie convenzionali poiché offre un'alternativa di guarigione per il 30% dei pazienti affetti da stenosi aortica e, al tempo stesso, rappresenta un vantaggio per il Sistema Sanitario in quanto riduce considerevolmente i tempi di degenza nelle Aziende Ospedaliere. L'intervento chirurgico di sostituzione della valvola aortica dura diverse ore ed è particolarmente complesso, inoltre l'ospedalizzazione post-operatoria ha una durata di circa 10 giorni; di contro l'impianto TAVI dura poche ore e il ricovero ospedaliero si riduce ad un day-hospital. Alla luce dei notevoli vantaggi esposti, si assiste ad un crescente interesse per la terapia transcateretere di stenosi aortica al fine di estendere, in un futuro, il suo utilizzo ad una percentuale di pazienti candidabili alla TAVI superiore al 30%.

### ***1.5.3.2 Dispositivi in commercio***

In commercio esistono attualmente tre dispositivi, con marchio CE, con caratteristiche peculiari. In Figura 1.16 sono rappresentate le valvole disponibili con i loro nomi commerciali:

1. *Edwards SAPIEN* (Edwards Lifesciences Inc.; Irvine, CA) espandibile attraverso catetere a palloncino;
2. *CoreValve* (Medtronic Inc; Minneapolis, MN) autoespandibile;

3. *Portico* (St. Jude Medical; Minneapolis, MN) autoespandibile.



**Figura 1.16** Dispositivi per impianto TAVI in commercio: 1. *Edwards SAPIEN XT* (*Edwards Lifesciences Inc.; Irvine, CA*) ; 2. *CoreValve* (*Medtronic INC; Minnesota, MN*); 3. *Portico* (*St. Jude Medical; Minneapolis, MN*).

Si riportano i dispositivi in commercio nel mondo, le misure disponibili per i dispositivi elencati; inoltre, per ogni taglia, si specificano le dimensioni di annulus aortico consigliate e l’altezza dello stent. (Tabella 1.2)

valvola	disponibilità	misura della valvola [mm]	altezza dello stent [mm]	diametro annulus aortico raccomandabile [mm]
<i>Edwards SAPIEN</i>	tutto il mondo	23	14,3	18-21
		26	17,2	21-25
		29	19,1	25-27
<i>Edwards SAPIEN XT</i>	Europa	20	13	16-18
		23	14,3	18-21
		26	17,2	21-25
		29	19,1	25-27
<i>CoreValve</i>	tutto il mondo (USA esclusi)	26	55	20-23
		29	53	23-26
		31	53	26-29
<i>Portico</i>	tutto il mondo (USA esclusi)	23	47	19-21

**Tabella 1.2** Dispositivi per TAVI attualmente in commercio nel mondo. [20]

La valvola *Edwards SAPIEN*<sup>®</sup> (Figura 1.16) è costituita da una maglia di acciaio inossidabile espandibile attraverso catetere a palloncino in cui vengono cuciti tre leaflet ricavati da pericardio bovino. Questa protesi viene impiantata sia negli USA che nel resto del mondo, attraverso le vie transfemorale e transapicale. Nel Marzo 2010 è stato immessa

nel mercato la nuova valvola Edwards SAPIEN XT con lo stent in Cromo-Cobalto in grado di trattare pazienti con annulus aortico variabile da 16 a 27 mm.

La valvola *CoreValve* (Medtronic Inc; Minneapolis, MN) è costituita da uno stent auto-espandibile in Nitinol lavorato al laser al cui interno vengono cuciti a mano tre leaflet in singolo strato di pericardio porcino. Questo tipo di valvola, mostrata in Tabella 1.2, è utilizzata per la ricerca sperimentale condotta nella tesi e viene pertanto descritta in dettaglio nel Capitolo 3 “Materiali e Metodi”. [19]

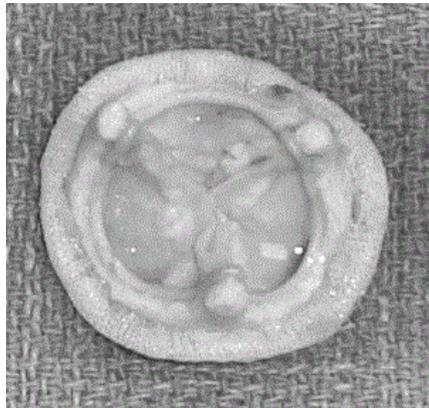
La *Portico* (St. Jude Medical; Minneapolis, MN) è l’ultima valvola per impianto TAVI immessa nel mercato. La struttura di questo dispositivo ricorda molto quella della valvola *CoreValve*<sup>®</sup>. La *Portico*<sup>®</sup> (Figura 1.16) è costituita da uno stent metallico in Nitinol in cui, all’interno, sono cuciti a mano tre leaflet in pericardio bovino mentre all’esterno è presente un tessuto di rivestimento in pericardio porcino. Dal marzo 2012 è presente in commercio la valvola di diametro valvolare da 23 mm, la quale ha ottenuto il marchio CE prima per l’impianto per via transfemorale e, successivamente, per quello transapicale; le taglie da 25, 27 e 29 mm sono ancora oggetto di sperimentazione clinica. La differenza progettuale rispetto alla *CoreValve*<sup>®</sup> è rappresentata dal sistema di posizionamento e rilascio della *Portico*, che permette di riposizionare più volte la protesi anche dopo la dilatazione iniziale. [21]

#### 1.5.4 Valve in Valve (VinV)

Le bioprotesi utilizzate per il trattamento di stenosi aortica seguono dei processi degenerativi simili a quelli delle valvole native, che possono portare al completo fallimento (Figura 1.17). L’insuccesso del trattamento avviene più frequentemente nei pazienti giovani e aumenta esponenzialmente dopo dieci anni dall’impianto. Il pericardio costituente i leaflet delle bioprotesi si deteriora a causa di calcificazione (39%), degenerazione non-calcifica (30%), fibrosi (7%), deiscenza (6%) o combinazione di questi fattori. [22]

Attualmente per trattare le bioprotesi degenerate il metodo migliore è quello di re-impiantare una nuova valvola biologica con tecnica chirurgica SAVR; la procedura chirurgica comporta una significativa mortalità, dal 4% al 15%, e questa percentuale di rischio aumenta in caso di complicazioni chirurgiche e tecniche. I fattori che aumentano il

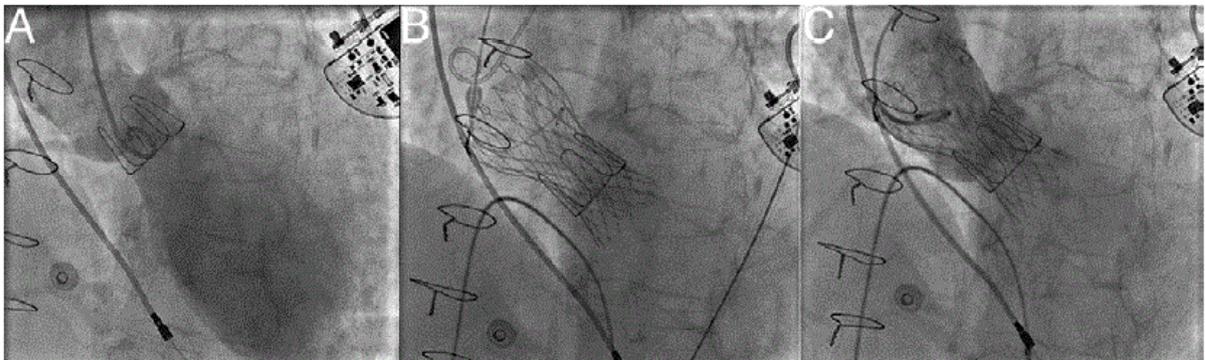
rischio chirurgico sono la gravità della stenosi, l'età, il sesso, eventuali disfunzioni del ventricolo sinistro e il numero di precedenti operazioni.



**Figura 1.17** Valvola biologica degenerata. È possibile notare i cristalli di calcio formati sui leaflet di pericardio. [23]

L'impianto transcateretere di valvola aortica si presenta come una soluzione vantaggiosa per trattare pazienti anziani e con alto rischio chirurgico in cui il precedente impianto di valvola biologica aortica è risultato fallimentare. Il trattamento, denominato "Valve in Valve" (VinV), consiste nell'inserimento di una valvola aortica in modalità mini-invasiva TAVI all'interno della bioprotesi impiantata. (Figura 1.18)

Il VinV si è dimostrato, inoltre, un trattamento utile per ridurre l'insufficienza aortica acuta a seguito di uno scorretto posizionamento del device TAVI; si inserisce, in questo caso, una seconda valvola per via transcateretere al fine di ridurre il rigurgito para-valvolare, senza ricorrere alla chirurgia classica a cuore aperto. [24]



**Figura 1.18** Impianto di CoreValve all'interno di una bioprotesi degenerata. A. l'aortografia evidenzia un rigurgito aortico; B. posizionamento della CoreValve; C. l'immagine mostra l'impianto avvenuto con successo, riduzione del rigurgito e posizione bioprotesi-CoreValve ottimale. [25]

Dal primo impianto TAVI, condotto nel 2002, numerosi sono gli studi che hanno come oggetto la terapia transcateretere di valvola aortica. I risultati clinici degli impianti effettuati nei centri ospedalieri e gli studi condotti *in vitro* su opportuni banchi prova permettono di approfondire la conoscenza dei dispositivi in commercio e, soprattutto, di conoscerne le complicazioni che si manifestano a breve, medio e lungo termine dall'impianto. Il beneficio che si trae dalle campagne sperimentali condotte *in vitro* è triplice: è rivolto in primo luogo al paziente, all'azienda ospedaliera che beneficia della ottimizzazione delle modalità e dei tempi della procedura e, infine, all'azienda biomedica che può continuamente migliorare il proprio dispositivo ed essere competitiva nel mercato. La TAVI si è dimostrata una terapia vantaggiosa in quanto:

1. *Offre un'alternativa per i pazienti con stenosi aortica severa con alto rischio chirurgico o del tutto non operabili.*

Rodés-Cabau *et al.* [26] hanno raccolto i follow-up relativi ad impianti TAVI effettuati in diversi centri ospedalieri; nello studio gli impianti TAVI vengono distinti in due gruppi fondamentali: il primo comprendente pazienti con stenosi aortica severa non-operabili mentre il secondo gruppo comprende pazienti con alto rischio operativo. In entrambi i gruppi sperimentali, trattati alternativamente con protesi *Edwards SAPIEN*<sup>®</sup> o valvola *CoreValve*<sup>®</sup>, si valuta la mortalità ad un anno dall'impianto che mostra, una sopravvivenza media superiore all'80%. In particolare, i risultati mostrano una superiorità della TAVI rispetto alle terapie mediche, per esempio la valvuloplastica, nel gruppo di pazienti non operabili (ad un anno dalla terapia risulta una mortalità del 30,7% in caso di terapia TAVI contro il 50,7% nei pazienti trattati con terapie mediche alternative). TAVI e SAVR risultano invece comparabili nel secondo gruppo di pazienti (mortalità ad un anno dal trattamento pari a 24,2% per TAVI e 26,8% per SAVR).

2. *Presenta dei valori di  $\Delta P$  transvalvolare e EOA paragonabili alle bioprotesi, in commercio da diversi decenni, utilizzate per terapia SAVR.*

Nello studio condotto da Clavel *et al.* [27] si mettono a confronto la valvola transcateretere *Edwards SAPIEN*<sup>®</sup>, per impianto TAVI, e due bioprotesi per trattamento SAVR, di cui una dotata di stent e l'altra di tipo stentless. Dalla ricerca si evince che le valvole per trattamento TAVI presentano una caduta di pressione

transvalvolare media ( $10 \pm 4$  mmHg) dopo l'impianto minore di quella misurata a seguito di posizionamento di bioprotesi ( $13 \pm 5$  mmHg per le bioprotesi dotate di stent,  $14 \pm 6$  mmHg senza stent), e maggiore area di passaggio del flusso, indicata con il parametro EOA ( $1,61 \pm 0,40$  cm<sup>2</sup> per TAVI,  $1,29 \pm 0,25$  cm<sup>2</sup> e  $1,38 \pm 0,38$  cm<sup>2</sup> per bioprotesi rispettivamente con e senza stent). Non sono presenti differenze significative riguardo alla frazione di eiezione del ventricolo sinistro nei tre tipi di valvole considerati.

Smith *et al.* [28], in accordo con i risultati mostrati da Clavel *et al.*, confermano le prestazioni fluidodinamiche incoraggianti dei dispositivi per impianto TAVI, confrontandole con quelle delle bioprotesi chirurgiche. La buona riuscita dell'impianto TAVI è correlato con la scelta della valvola impiantata; generalmente si consiglia il posizionamento di una valvola con valore di diametro annulare aortico maggiore rispetto a quello della valvola naturale al fine di evitare trafiletti di sangue nell'interspazio tra protesi e tessuto nativo.

A fronte dei risultati positivi emersi, la TAVI presenta alcune criticità, una importante che riguarda le prestazioni fluidodinamiche, e diverse complicazioni post-procedurali.

1. Diversi studi riportano l'insorgenza di *rigurgito valvolare aortico* a seguito dell'impianto TAVI.

In Rodés-Cabau *et al.* [27] si riscontra una differenza significativa nelle prestazioni fluidodinamiche della valvola per trattamento TAVI rispetto alle bioprotesi per procedura SAVR; dallo studio risulta che il volume di rigurgito aortico è molto maggiore in caso TAVI (65-85% degli impianti effettuati) rispetto ai casi SAVR (40%). L'elevata incidenza di rigurgito aortico, che può essere sia di tipo para-valvolare che trans-valvolare, rappresenta la maggiore problematica a seguito degli impianti per via percutanea e può essere dovuta ad una scelta errata delle dimensioni della valvola per TAVI rispetto all'annulus della valvola naturale.

Azadani *et al.* [29] hanno riscontrato valori preoccupanti di volume di rigurgito dopo terapia TAVI. Nel loro studio si analizzano, in vitro, le performance emodinamiche delle bioprotesi *Carpentier Edwards*<sup>®</sup> da 19, 21 e 23 mm e del *VinV* di una valvola *Edwards SAPIEN*<sup>®</sup> da 23 mm nella bioprotesi da 23 mm, al fine di quantificare la dissipazione di energia a causa delle rigurgito aortico. I risultati

mostrano frazioni di rigurgito aortico maggiore nei casi di bioprotesi da 23 mm ( $8,4 \pm 1,8 \%$ ) e di TAVI da 23 mm ( $10,6 \pm 1,4 \%$ ) rispetto alle bioprotesi da 21 e 19 mm (frazione di rigurgito  $< 8,5\%$ ), il caso di VinV è il più preoccupante con frazione di rigurgito aortico del  $19,1 \pm 0,9\%$ . Gli effetti delle perdite paravalvolari si riflettono sull'energia dissipata totale; coerentemente con i risultati ottenuti per il calcolo della frazione di rigurgito aortico, non si trovano differenze significative di energia dissipata con le bioprotesi da 21 e 19 mm ( $330 \pm 36,97$  mJ per la 21 mm e  $298 \pm 37,25$  mJ rispettivamente). La valvola per impianto TAVI da 23 mm porta ad una perdita di energia paragonabile con quella della bioprotesi della stessa misura ( $241 \pm 30,55$  mJ) mentre il VinV mostra il più alto valore di energia dissipata ( $365,33 \pm 8,02$  mJ).

2. Le più frequenti complicazioni post-procedurali TAVI sono:

- *Danneggiamento del sistema vascolare*: l'introduzione di cateteri di 18-24 Fr in pazienti molto anziani, solitamente ottantenni, costituisce un rischio elevato di fenomeni di sanguinamento o, addirittura, rottura dei vasi arteriosi (incidenza  $>5-10\%$ ). Per evitare questo tipo di complicazioni ci si accerta dello stato delle arterie ilio-femorali attraverso ecografia o TAC al fine di individuare l'accesso percutaneo più sicuro e procedere con l'approccio transfemorale o transapicale. [26]
- *Ictus*: da studi multicentrici risulta che l'insorgenza di criticità cerebrovascolari si manifesta più frequentemente durante e a seguito della procedura TAVI (probabilità  $6,0\%$ ) rispetto alla SAVR ( $4,2\%$  dei casi trattati). L'origine di questa grave complicazione non è stata ancora riconosciuta ma si pensa che le cause possano essere di natura embolica (per la presenza di bolle d'aria intrappolate nella protesi), ischemica per ipotensione o, ancora, emorragica in associazione a terapie farmacologiche a cui si sottopone il paziente TAVI. [30]
- *Ostruzione coronarica*: questa complicazione può essere dovuta alla infiltrazione di particelle di calcio della placca stenotica nelle arterie coronariche o può verificarsi a seguito di un mal posizionamento della protesi. Le conseguenze di un impianto scorretto della valvola in TAVI è oggetto di studio della presente tesi e verrà pertanto discusso ampiamente nei capitoli successivi.

- *Infarto miocardico*: ostruzione coronarica e anomalie del sistema di conduzione cardiaca sono possibili cause di eventi di blocco cardiaco. Un posizionamento troppo basso della valvola per TAVI, in particolare per la CoreValve<sup>®</sup>, la cui maglia metallica si insinua in media 10 mm all'interno della cavità ventricolare, sembra danneggiare irreversibilmente il sistema di conduzione atrioventricolare con la necessità di impianto permanente di pace-maker. [30]
- *Complicazioni renali*: la procedura transcateretere può causare danneggiamento al sistema renale che, nel peggiore dei casi, può portare il paziente alla terapia di emodialisi permanente.

# CAPITOLO 2

## 2. Stato dell'arte

### Introduzione

In questo capitolo si prendono in considerazione i principali banchi prova per lo studio *in vitro* dell'emodinamica cardiovascolare.

Si descrivono quindi i setup sperimentali utilizzati per la valutazione delle prestazioni fluidodinamiche delle protesi biologiche e meccaniche e dei complessi valvolari *ex-vivo* e ci si concentra principalmente sui banchi prova per cuori interi, umani e porcini, tra i quali viene esaminato in dettaglio il setup di Leopaldi *et al.* [1], disponibile presso il ForCardioLab dell'Ospedale Luigi Sacco di Milano.

L'analisi critica dei differenti setup riportati in letteratura permette di proporre due ottimizzazioni al banco prova di Leopaldi: la predisposizione del banco all'acquisizione di misure ecoDoppler e lo sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica.

Nella parte conclusiva del Capitolo si descrive il tracciato Doppler di flusso coronarico atteso *in vivo* in condizioni fisiologiche e si espongono le principali strategie trovate in letteratura per l'ottenimento di un modello di stenosi aortica artificiale: strategie che hanno permesso lo sviluppo del modello utilizzato nella presente tesi.

## 2.1 Banchi prova per lo studio dell'emodinamica cardiaca

Negli ultimi 30 anni si è assistito ad un progressivo innalzamento della vita media della popolazione, dovuto al miglioramento delle condizioni di benessere socio-economiche e all'evoluzione nel campo delle terapie mediche, che ha comportato, parallelamente, un aumento dei pazienti anziani portatori di malattie cardiovascolari.

Le patologie cardiovascolari rappresentano la principale causa di morte nell'Unione Europea e sono all'origine del 40% circa dei decessi, per un totale di 2 milioni all'anno. Al fine di aumentare il numero dei potenziali beneficiari delle cure è necessario ottimizzare l'approccio clinico/chirurgico. Lo sviluppo di nuove tecniche mini-invasive, non traumatiche per il paziente, permetterebbe di riuscire a trattare un gran numero di pazienti anziani e, al tempo stesso, di ridurre i costi del singolo intervento grazie ai brevi tempi di degenza richiesti da una di queste nuove terapie descritte.

La comprensione della fluidodinamica delle strutture cardiache, in condizioni fisiologiche e patologiche, nonché degli effetti emodinamici di trattamenti chirurgici e di impianti di dispositivi artificiali, sono necessarie al fine di ottimizzare le procedure esistenti, studiarne di nuove ed effettuare un confronto critico tra diverse tecniche.

Attualmente esistono due metodi per rispondere a queste esigenze: uno di tipo numerico e uno di tipo sperimentale. I modelli computazionali hanno avuto negli ultimi anni uno sviluppo eccezionale e permettono una descrizione sempre più accurata delle grandezze emodinamiche; rappresentano modelli ideali del sistema *in vivo* e sono utili quindi nella fase preliminare dello studio sperimentale. I metodi sperimentali, ben consolidati, comprendono i modelli animali *in vivo* e i simulatori *in vitro*, ovvero banchi prova da laboratorio in cui testare le valvole biologiche di interesse.

I modelli animali offrono un valido strumento per simulare condizioni fisiologiche molto simili a quanto succede *in vivo* sull'uomo e vengono, per questo motivo, sfruttate per valutare nuove tecniche operatorie. Le sperimentazioni *in vivo* su animali sono, di contro, decisamente costose e poco efficienti se utilizzate in fase di studio preliminare poiché sono poco ripetibili data la scarsa controllabilità dei parametri in gioco nel complesso sistema biologico.

I simulatori *in vitro* permettono, se ben progettati, di ottenere condizioni sperimentali decisamente più controllabili e ripetibili rispetto ai modelli animali e possono mantenere

coerenza con le condizioni fisiologiche per quanto riguarda sia la morfologia anatomica, sia le condizioni ambientali cui l'unità valvolare da indagare è sottoposta. Il limite fondamentale dei simulatori *in vitro* rimane la riproduzione semplificata della realtà biologica.

La ricerca bibliografica, che verrà esposta nel capitolo, mira a fornire al lettore una panoramica sui banchi prova per simulazione della fluidodinamica cardiaca e comprendere l'evoluzione storica che ha condotto, negli anni, lo sviluppo di nuovi setup sperimentali e le ottimizzazioni effettuate su quelli già esistenti.

L'approccio *in vitro* tradizionale per lo studio dell'emodinamica aortica, risalente ai primi anni '60, è storicamente legato allo sviluppo di valvole protesiche, prima biologiche poi meccaniche. Questi primi setup sperimentali, infatti, si concentrano sulla comprensione delle prestazioni idrauliche delle protesi valvolari testate al fine della loro commercializzazione.

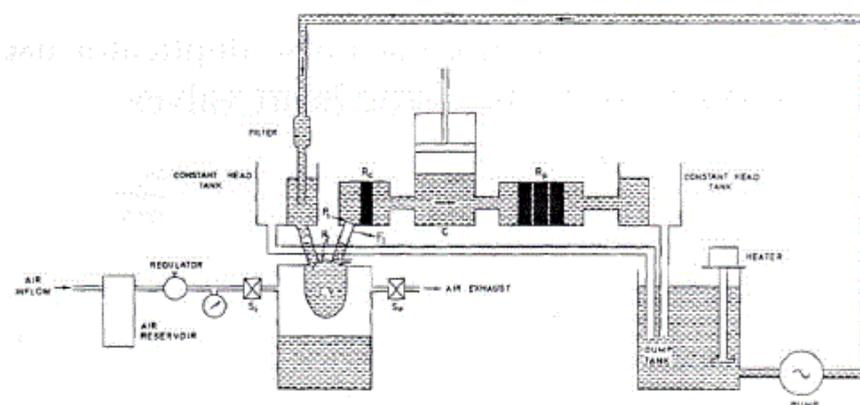
Con lo sviluppo di nuove tecniche chirurgiche riparative e mini-invasive nasce l'esigenza di effettuare *in vitro* operazioni chirurgiche su campioni biologici e pertanto vengono sviluppati banchi prova per la comprensione della fluidodinamica, in condizioni fisiologiche, patologiche e protesizzate, di valvole biologiche *ex-vivo*. L'introduzione di nuova strumentazione di analisi, come l'ecografia e la registrazione di video ad elevata velocità sui complessi biologici, è un passo obbligatorio per effettuare uno studio realistico delle strutture biologiche testate che da un lato si integri con l'ambiente clinico, dall'altro possa beneficiare di approcci sempre più quantitativi.

Per riuscire a studiare sempre più realisticamente l'emodinamica cardiaca, alcuni autori hanno sviluppato dei simulatori *in vitro* in grado di alloggiare cuori interi espantati. Benché si sia ancora lontani dalla riproduzione del complesso sistema fisiologico offerto dai modelli animali, questi banchi prova offrono la possibilità di studiare gli effetti dei trattamenti chirurgici sulle valvole, di valutare l'impianto di dispositivi sulle strutture anatomiche cardiache adiacenti o, ancora, di effettuare procedure su più valvole in un ambiente via via più realistico ma con setup sperimentali relativamente semplici ed economici.

### 2.1.1 Banchi prova per la valutazione delle prestazioni fluidodinamiche di protesi valvole cardiache.

Il set-up di **Cornhill *et al.*** [31] fu uno dei primi a dimostrare la possibilità di riprodurre *in vitro* curve di pressione-portata simili a quelle fisiologiche per testare protesi valvolari aortiche in un circuito che simulasse il complesso ventricolo sinistro – aorta.

Il sistema è costituito da due elementi fondamentali: il ventricolo sinistro e il simulatore di impedenza sistemica. Il ventricolo sinistro è costituito da una sacca collassabile in materiale siliconico alloggiata in un recipiente pressurizzato esternamente mediante un compressore controllato via computer. (vedi Figura 2.1).

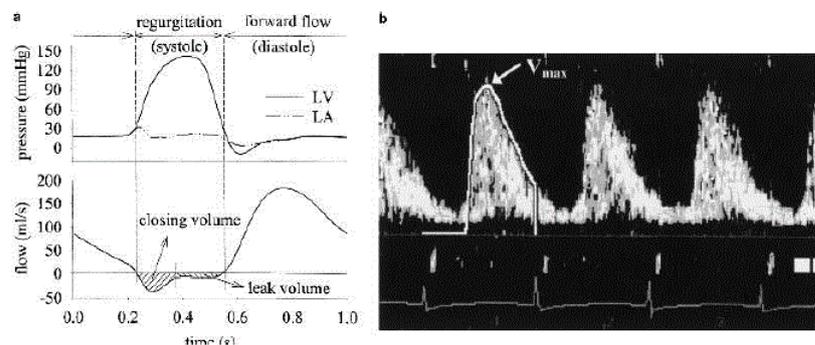


**Figura 2.1** Schematizzazione del circuito realizzato da Cornhill.

L'impedenza sistemica del sistema cardiovascolare, posizionata a valle della valvola aortica, è stata assicurata da un circuito idraulico a 3 elementi RCR: la resistenza caratteristica  $R_c$  simula l'impedenza caratteristica del ramo aortico, la resistenza periferica  $R_p$  rappresenta la resistenza del sistema circolatorio periferico e la compliance  $C$  tiene conto della deformabilità dei grandi vasi. Il sistema così progettato permette di ricreare la forma d'onda pressoria fisiologica e può essere regolato in modo da simulare condizioni di lavoro patologiche.

Il lavoro di **Verdonck *et al.*** [32] prevede un circuito a due parametri in uscita dal ventricolo sinistro, rappresentato da una sacca silconica, per la simulazione della circolazione sistemica. Il setup, per il test di protesi valvolari in posizione mitralica, permetteva l'acquisizione d'immagini ecoDoppler per la valutazione della fluidodinamica

transvalvolare. In Figura 2.2 si riportano alcuni tracciati di pressione e portata, ed un rilevamento eco-Doppler ottenuti con il banco appena descritto.

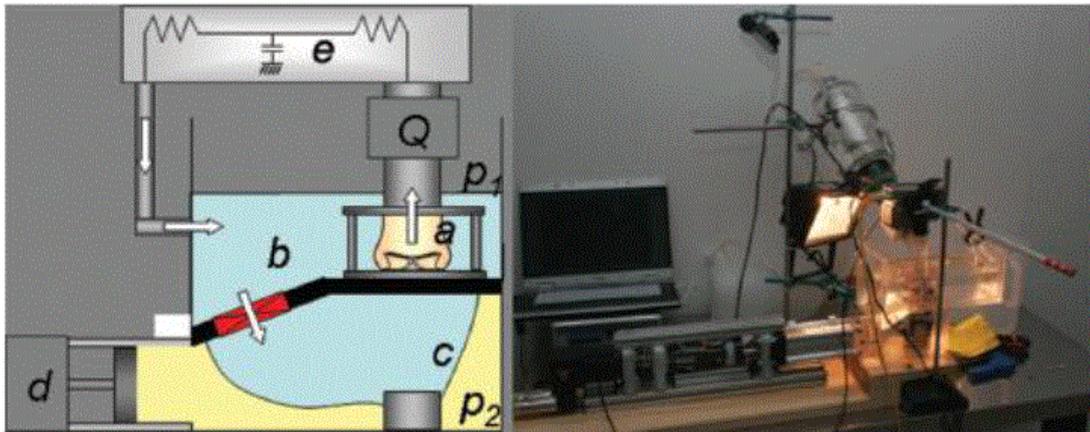


**Figura 2.2** *Immagine a.* Onde di pressione e portata registrati sul banco prova. *Immagine b.* Tracciato ecoDoppler misurato in vitro.

### 2.1.2 Banchi prova per il test di complessi valvolari ex-vivo

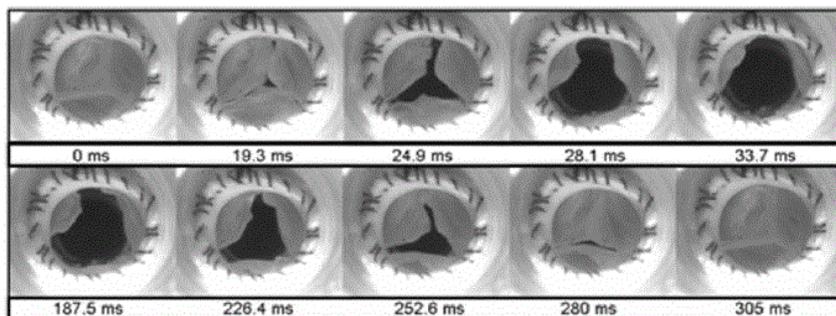
Il lavoro presentato da **Vismara *et al.*** [33], sviluppato presso il ForCardioLab, mira a sviluppare una metodologia innovativa per lo studio *in vitro* dell'emodinamica dell'unità funzionale della radice aortica (ARFU). Il banco prova permette di alloggiare radici aortiche porcine estratte *ex vivo*, replicando, in modo più realistico dei precedenti banchi prova tradizionali, le condizioni presenti *in vivo* e consentendo, in questo modo, al chirurgo sia l'impianto di dispositivi protesici, sia l'esecuzione di procedure riparative sul campione biologico. È possibile così verificare gli effetti che queste operazioni hanno sul comportamento dell'intera ARFU.

In Figura 2.3 è mostrato il setup sperimentale sviluppato, il quale è stato dotato di un sistema pompante volumetrico pulsatile (d), di un simulatore d'impedenza a tre elementi regolabili (e) e di un sistema di alloggiamento per il campione biologico (a). Il sistema pompante, in particolare, è costituito da una pompa a pistone, controllata da un driver, in grado di generare onde di portata che ricalcano quelle misurate *in vivo*. È possibile riprodurre sia la portata transmitralica [34], sia quella di eiezione del ventricolo sinistro o destro [35].



**Figura 2.3** Rappresentazione schematica del banco prova sviluppato da Vismara *et al.* in cui le frecce indicano la direzione della portata. A destra si riporta un'immagine del setup reale.[33]

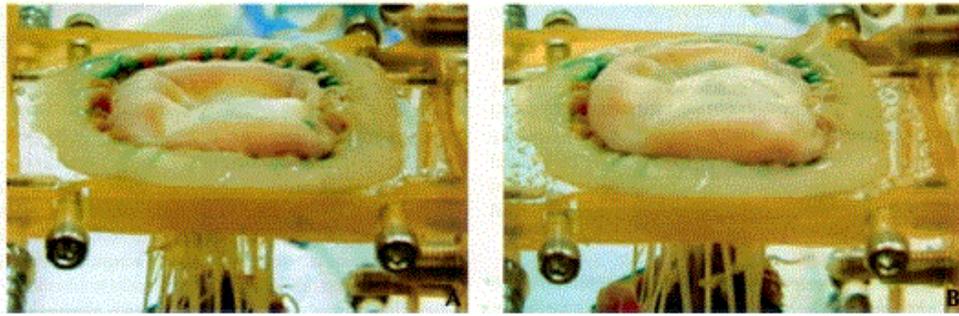
Il banco prova è stato progettato in modo tale da consentire l'acquisizione d'immagini della valvola aortica (Figura 2.4) con una videocamera ad elevata velocità.



**Figura 2.4** Sequenza di immagini registrate a 1200 frame al secondo dell'apertura e chiusura di un campione di radice aortica di 21 mm di diametro. [33]

Il banco prova sviluppato da **Arita *et al.*** [36] permette la simulazione fluidodinamica del complesso mitralico in condizioni fisiologiche e patologiche. Esso presenta alcune differenze fondamentali rispetto al setup di Vismara: l'azionamento del sistema pulsatile è di tipo pneumatico anziché idraulico ed il circuito di postcarico è un semplice sistema Windkessel costituito da una resistenza concentrata e da una compliance. Offre inoltre la possibilità di osservare il movimento 3D dell'anulus mitralico grazie all'installazione di un sensore di movimento e di una videocamera digitale posti sopra la camera atriale.

Il banco prova consente di testare complessi mitralici escissi in modo tale da mantenere intatti sia i muscoli papillari sia le corde tendinee; in questo modo si possono simulare condizioni sia fisiologiche, aventi una morfologia e una configurazione dell'anulus simili a quelle presenti *in vivo*, che patologiche tramite la deformazione dell'anulus e lo spostamento dei muscoli papillari rispetto al piano valvolare. (Figura 2.5)

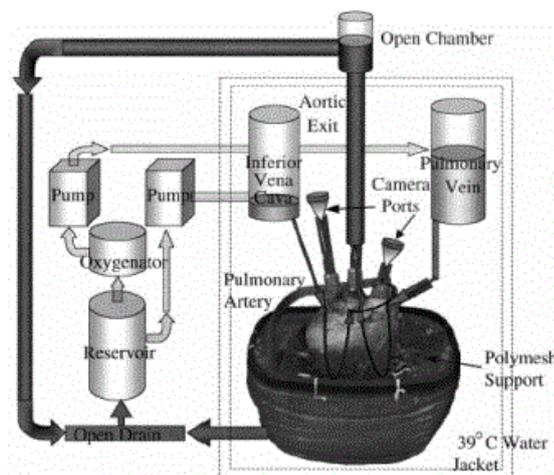


**Figura 2.5** Valvola mitrale montata nel banco di Arita. A sinistra - valvola mitrale in condizioni fisiologiche. A destra - valvola mitrale in condizioni patologiche, simulate con uno spostamento di 5 mm dei muscoli papillari in direzione del piano valvolare.

### 2.1.3 Banchi prova per cuori interi

Il lavoro condotto da **Chinchoy et al.** [37] ha permesso lo sviluppo di un banco prova per cuori porcini battenti al fine di studiarne *in vitro* le prestazioni meccaniche e contrattili.

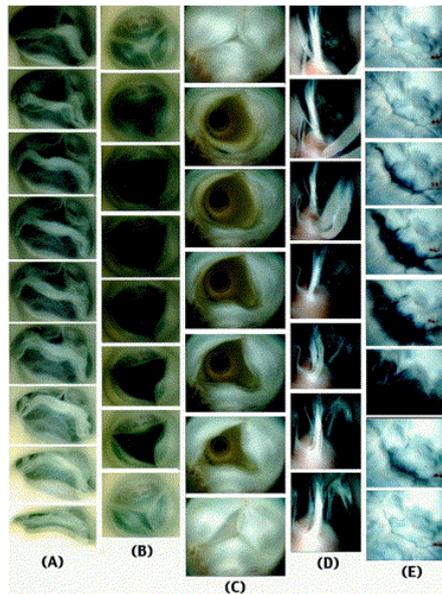
Il cuore porcino espantato viene alloggiato in una camera termostatica a 39°C e collegato al setup sperimentale (Figura 2.6) che comprende un ossigenatore, un reservoir di precarico per la soluzione cristalloide, utilizzata per la perfusione miocardica, un simulatore di impedenza sistemica a valle dell'aorta.



**Figura 2.6** Setup sperimentale utilizzato da Chinchoy et al. [37]

Le prestazioni ottenute da Chinchoy *in vitro* sono risultate confrontabili con quelle misurate *in vivo*, nonostante i valori di pressione sistolica e diastolica, così come la contrattilità e la gittata cardiaca, siano risultati nettamente compromessi dopo un periodo di tempo di circa 4 ore.

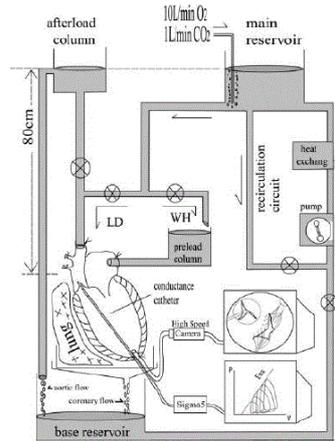
Lo studio prevede la possibilità di ottenere immagini e registrazioni video delle cavità cardiache durante il funzionamento *in vitro* mediante l'inserimento, all'interno delle camere cardiache, di una sonda endoscopica, accoppiata ad una videocamera (Figura 2.7). Gli accessi per la sonda sono costituiti dai vasi afferenti al cuore.



**Figura 2.7** Immagini dei movimenti delle strutture cardiache: (A) valvola polmonare, (B) valvola aortica lato aorta, (C) valvola aortica lato ventricolo, (D) muscoli papillari anteriori, (E) valvola mitrale. [37]

Il setup sperimentale di **Araki et al.** [38] permette, come quello di Chinchoy, di alloggiare cuori porcini battenti ma limita la sua analisi al comportamento del cuore sinistro. Lo scopo del lavoro è verificare le prestazioni del ventricolo sinistro a partire dalle relazioni pressione-volume, per confermare l'affidabilità e la riproducibilità della rianimazione di cuori perfusi con soluzione cristalloide.

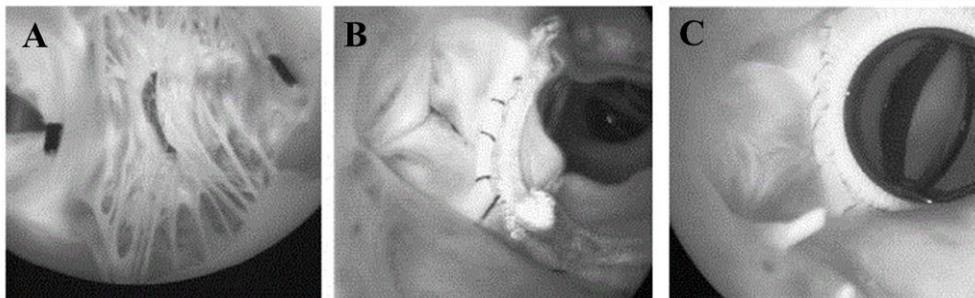
Il setup sperimentale prevede un reservoir di precarico sull'atrio destro e uno di postcarico, connesso all'aorta, aventi un battente idraulico, mantenuto costante, rispettivamente di 15 cmH<sub>2</sub>O e 80 cmH<sub>2</sub>O. Un reservoir è posto al di sotto del cuore per raccogliere le perdite di portata provenienti dal circolo coronarico e riportarle, grazie ad una pompa roller, al reservoir di precarico. Nel circuito è presente inoltre uno scambiatore di calore per mantenere costante a 37°C la temperatura della soluzione cristalloide di perfusione, e un circuito per lo scambio gassoso di ossigeno e anidride carbonica. (Figura 2.8)



**Figura 2.8** Banco prova sviluppato da Araki et al. Si mostrano gli accessi ottenuti nell'apice del ventricolo sinistro per la telecamera ad elevata velocità.

I risultati ottenuti nel lavoro di Araki sono coerenti con quelli ricavati da Chinchoy: la possibilità di ristabilire una contrattilità ventricolare e mantenere una frequenza cardiaca pressoché costante per tre ore dopo l'espianto. Di contro, esiste una netta differenza tra la curva pressione-volume misurata *in vivo* rispetto a quelle ottenute *in vitro*.

Lo studio di Araki ha evidenziato la validità dell'accesso apicale per l'ottenimento d'immagini delle strutture mitraliche. (Figura 2.9)



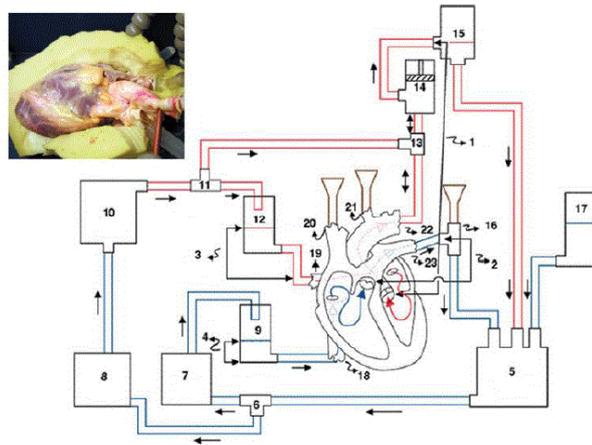
**Figura 2.9** Immagini intracardiache ottenute da accesso apicale. A – cuore normale con pledgets suturati sotto i foglietti valvolari. B – impianto di una valvola biologica. C – impianto di una valvola meccanica. [38]

Il lavoro di Hill et al. [39] presenta una sostanziale differenza rispetto ai banchi prova precedentemente descritti: la possibilità di alloggiare cuori interi umani, giudicati non idonei per un trapianto.

Per il suo studio, Hill ha utilizzato il setup sviluppato da Chinchoy, modificandolo in modo tale da renderlo interfacciabile con cuori umani ed idoneo a supportare sia una perfusione anterograda sia retrograda. (Figura 2.10)

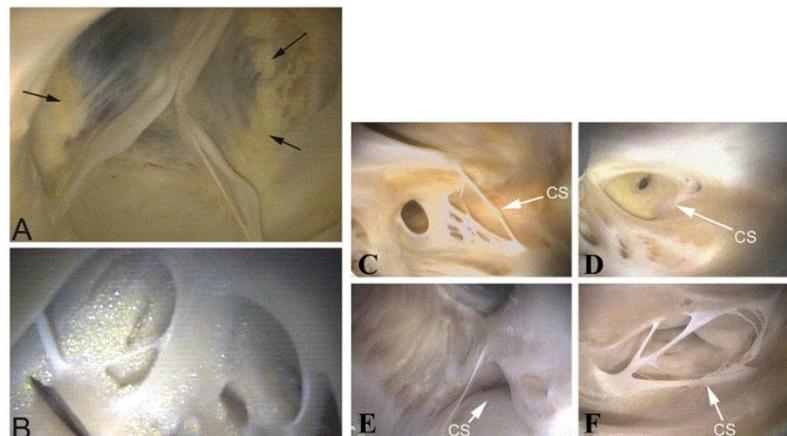
Con il banco prova utilizzato da Hill si ottengono prestazioni meccaniche e contrattili simil fisiologiche; persiste la criticità rappresentata dal progressivo decadimento delle

prestazioni del cuore, che limita il mantenimento di un'adeguata contrattilità per un tempo superiore alle 4 ore dall'espianto.



**Figura 2.10** Setup sperimentale utilizzato da Hill. [39]

L'utilizzo di un'ottica endoscopica del diametro di 6 mm ha consentito, in questo lavoro, l'indagine morfologica di tutti i complessi valvolari cardiaci. E' stato possibile inoltre studiare patologie quali la calcificazione dei lembi valvolari e l'insufficienza; l'utilizzo infine di un fibroscopio ottico del diametro di 1,8 mm ha consentito la visualizzazione di elementi anatomici di dimensioni ridotte come gli osti coronarici. (Figura 2.11)



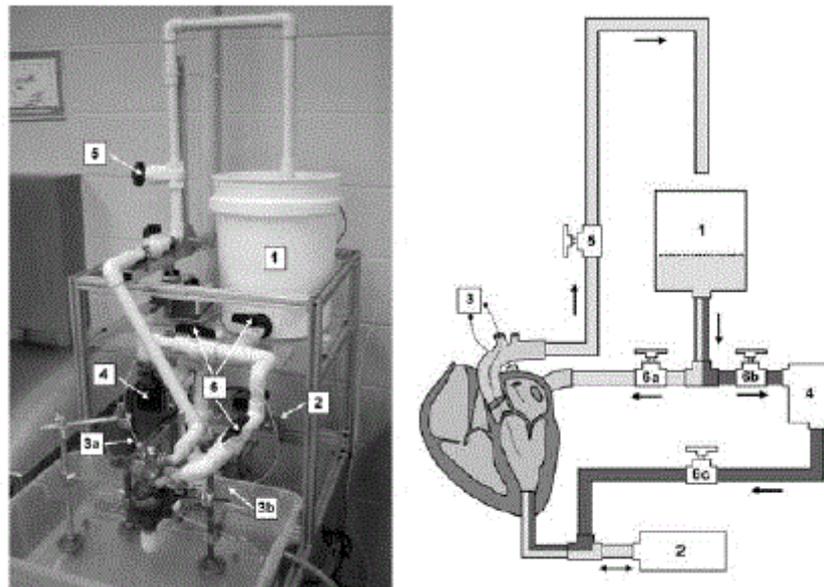
**Figura 2.11** Immagini ottenute con fibroscopio. A – calcificazioni (indicate dalle frecce) nella valvola aortica. B – depositi lipidici nell'endocardio del ventricolo destro. C – F – immagini degli osti coronarici.[39]

In **Richards et al.**[40] viene proposta una soluzione innovativa per condurre test su cuori interi in modo semplice ed economico: un banco prova in cui si utilizza il cuore come

una struttura passiva azionata da una pompa esterna pulsatile, concentrando l'attenzione sulla sola circolazione sinistra.

I componenti principali del setup sviluppato (Figura 2.12), sono: un cuore porcino espianato, un reservoir atriale, un postcarico aortico ed una pompa pulsatile a pistone controllata via computer che consente, analogamente a quanto proposto da Vismara [9], l'ottenimento di onde di portata fisiologiche.

La pompa idraulica è connessa all'apice del ventricolo sinistro, la cui tenuta è garantita dall'applicazione di colla ciano-acrilica. In fase di diastole, il moto retrogrado del pistone richiama il fluido dal reservoir di precarico, collegato all'atrio sinistro, fino ad attraversare la valvola mitrale e riempire il ventricolo sinistro. In fase di sistole, invece, l'avanzamento del pistone, che pressurizza il ventricolo, consente l'eiezione del fluido in aorta, verso il post-carico sistemico.

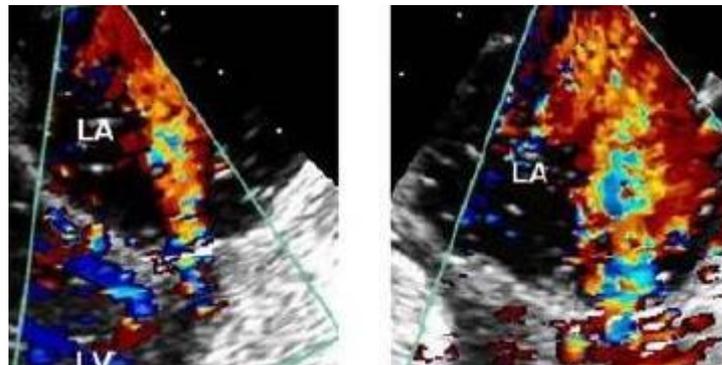


**Figura 2.12** A sinistra: Setup sperimentale progettato da Richards. A destra: schema circuitale del banco.

Il post-carico aortico è ottenuto da un semplice battente idraulico e da una resistenza concentrata che permette di regolare i valori di pressione ottenibili. Le coronarie sono occluse, mediante sutura chirurgica, al fine di evitare perdite di portata durante il funzionamento del banco.

Il sistema permette di studiare gli andamenti della portata aortica in funzione di differenti pressioni ventricolari al fine di valutare l'efficacia di differenti tecniche chirurgiche di riparazione valvolare mitralica. Il banco prova consente di condurre imaging

delle strutture cardiache mediante differenti tecniche, come eco-Doppler (Figura 2.13) ed endoscopia. [40]



**Figura 2.13** Immagini ecoDoppler su valvole mitraliche patologiche testate nel banco prova. [40]

Il lavoro di Richards e collaboratori presenta dei fondamentali vantaggi rispetto agli approcci precedentemente descritti: la semplicità ed economicità dei test. Di contro le condizioni emodinamiche cui il cuore è sottoposto risultano estremamente differenti da quelle riscontrabili *in vivo*. I valori di portata massimi ottenuti da Richards risultano di 1.2 l/min, decisamente inferiori ai valori fisiologici caratteristici di un cuore adulto; al contrario, le onde pressorie misurate *in vitro* ricalcano con buona approssimazione gli andamenti fisiologici.

#### 2.1.4 Il banco prova sviluppato da Leopaldi *et al.*

Il banco prova sviluppato presso il ForCardioLab dell'Ospedale Luigi Sacco di Milano da **Leopaldi *et al.*** [1] nasce con l'obiettivo di offrire al ricercatore uno strumento per:

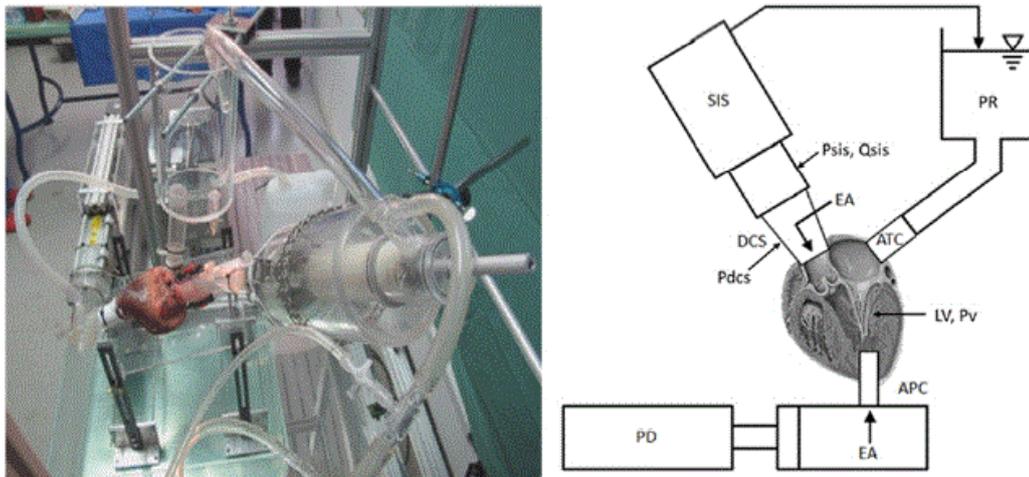
- l'approfondimento delle conoscenze della fluidodinamica e della cinematica delle strutture valvolari cardiache in condizioni fisiologiche e patologiche;
- la valutazione biomeccanica di procedure chirurgiche di riparazione valvolare e di impianti protesici;
- l'ottimizzazione e la standardizzazione delle procedure riparative, al fine di renderle più affidabili e di ridurre la dipendenza del loro successo dall'esperienza dell'operatore;
- il training didattico dei nuovi medici chirurghi;

- l'osservazione nell'immediato della riuscita di una tecnica chirurgica o di un impianto protesico, per esempio per via transcatetere, con tecniche di imaging ecografiche o endoscopiche

#### 2.1.4.1 Descrizione del setup sperimentale

Il setup di Leopaldi *et al.* [1] (Figura 2.14) permette di alloggiare cuori porcini interi. Il ventricolo sinistro è messo in pressione da un sistema pompante esterno. Il circuito è composto da tre elementi principali, idraulicamente connessi al cuore:

- un sistema volumetrico pulsatile (PD) controllato da una centralina dedicata, le cui impostazioni vengono modificate tramite PC;
- un simulatore di impedenza sistemica (SIS);
- un reservoir di precarico (PR).

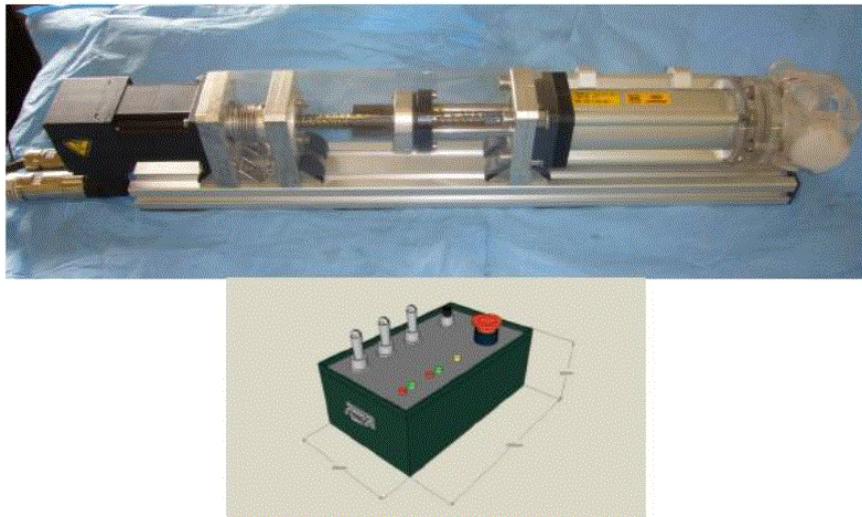


**Figura 2.14** Banco prova. A sinistra è mostrata una fotografia del sistema; a destra è riportata una schematizzazione del setup con i suoi componenti principali.

Il fluido di lavoro è messo alternativamente in pressione e depressione, da una pompa pulsatile, connessa all'apice del ventricolo sinistro. In fase di diastole il moto del pistone richiama il fluido, contenuto in atrio sinistro, a riempire il ventricolo sinistro. Nella fase di sistole il moto del pistone provoca la pressurizzazione del ventricolo sinistro e la conseguente apertura della valvola aortica e chiusura della valvola mitrale, permettendo l'efflusso del fluido in aorta. A valle dell'aorta è presente un simulatore d'impedenza sistemica, il quale è collegato con una riserva aortica a pelo libero che ha funzione di pre-carico per l'atrio sinistro e permette la chiusura dell'intero circuito fluidodinamico.

#### 2.1.4.2 Componenti principali

Il sistema pompante (Lanzarone *et al.*, [41]), disponibile al  $\mu$ BSLab, è in grado di generare una portata che replica le forma d'onda del ciclo cardiaco; in fase di sistole genera una portata basata sull'espressione analitica ricavata da Swanson and Clark [42] e in fase diastolica segue l'andamento ricavato da Talukder e Reul [43], caratterizzato da un doppio picco dovuto al riempimento diastolico passivo e alla successiva contrazione atriale. (Figura 2.15)



**Figura 2.15** Sistema pompante e centralina di comando.

Il dispositivo pompante, mostrato in Figura 2.15, è costituito da un sistema volumetrico cilindro-pistone ed è azionato da un motore a magneti permanenti a bassa inerzia (MCS06C41, Lenze, Hameln, Germany), comandato elettronicamente da un driver (Servo 9322EK, Lenze). La connessione meccanica tra motore e pistone è realizzata mediante una vite senza fine a ricircolo di sfere (SH12.7.12.7R, SKF, Göteborg, Sweden), che trasforma il moto di rotazione dell'albero motore nella traslazione del pistone (CPA Series Cylinders, Waircom-MBS, Granby, QC, Canada), dotato di sensori magnetici di fine corsa (FM158, Waircom-MBS).

Il driver programmabile gestisce l'azionamento del motore e permette di impostare e modificare diversi parametri quali la morfologia della forma d'onda di portata, la frequenza di pompaggio e il volume eiettato (stroke volume, SV) al fine di simulare condizioni di esercizio differenti.

Il *simulatore di impedenza sistemica*, sviluppato da Lanzarone *et al.*, [41] disponibile presso il ForCardioLab è costituito (Figura 2.16) da un circuito idraulico basato sul modello a parametri concentrati di tipo RCR, composto da una resistenza caratteristica  $R_c$  in serie ad un parallelo di una capacità  $C$  e una resistenza periferica  $R_p$ . Tale circuito idraulico consente un'immediata regolazione dei suoi parametri caratteristici necessari ad ottenere la forma d'onda di pressione sistemica desiderata ed a simulare diverse condizioni fisiologiche e patologiche.

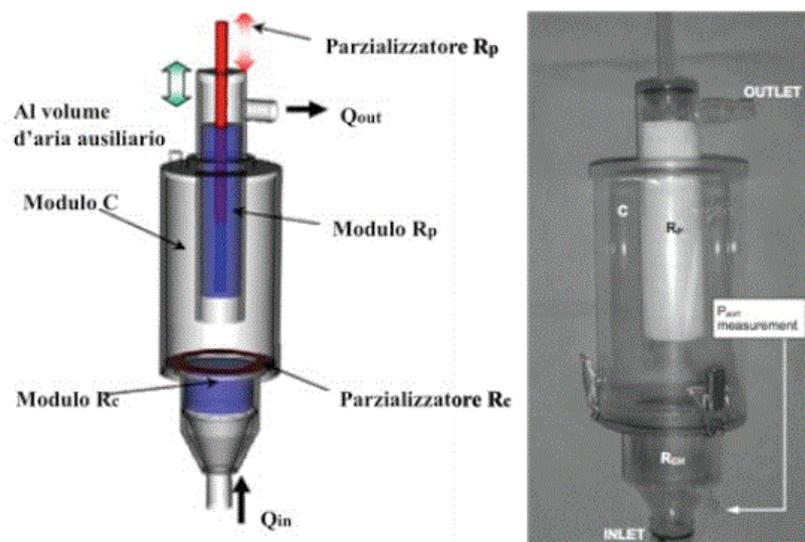


Figura 2.16 *Simulatore di impedenza sistemica.* [41]

La *compliance* è costituita da una camera d'aria di circa cinque litri di volume, dei quali circa un litro è integrato nel simulatore, mentre la porzione restante è tenuta separata per ridurre le dimensioni del circuito; un tubo la collega alla camera d'aria.

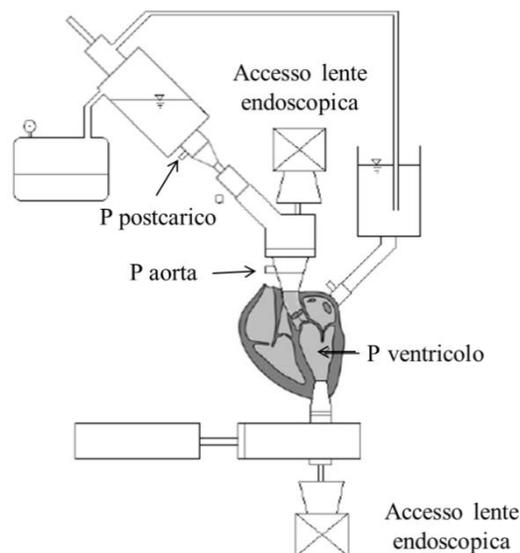
Il *reservoir*, posto a valle del simulatore d'impedenza sistemica, funge da precarico per l'atrio sinistro, il cui valore può essere modificato variando l'altezza del pelo libero del fluido contenuto al suo interno.

Il cuore porcino è alloggiato nel banco prova attraverso tre connettori (apicale, aortico e atriale) ed un collettore, progettati ad-hoc, proprio al fine di consentire un montaggio rapido e agevole del cuore nel banco prova e di ridurre al minimo le perdite di portata.

### 2.1.4.3 Strumentazione del banco prova

Questo complesso apparato fluidodinamico permette di misurare le grandezze fluidodinamiche d'interesse (portata e pressione), consente analisi ecocardiografiche e prevede accessi, in posizione apicale e aortica, al fine di garantire la possibilità di effettuare imaging delle strutture valvolari cardiache.

Durante il funzionamento del banco prova si registrano misure di pressione e portata attraverso opportuni accessi, come mostrato in Figura 2.17.



**Figura 2.17** Schematizzazione del banco prova per la visualizzazione degli accessi per le misure di pressione ed endoscopiche.

Tre trasduttori di pressione Honeywell Micro Switch (Morristown, NJ, USA) posti a monte e a valle della valvola (modello 143PC15D) e all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica (modello 143PC05D) consentono la registrazione dei dati pressori. L'accesso per la misura della pressione ventricolare è stato ottenuto perforando la parete cardiaca con un ago del diametro di 18 gauge.

Per quanto riguarda la misura di portata si utilizza un flussimetro a tempo di transito Transonic Systems HT110R (Ithaca, NY, USA) con apposito sensore di portata posizionato a valle della radice aortica. (Figura 2.18)



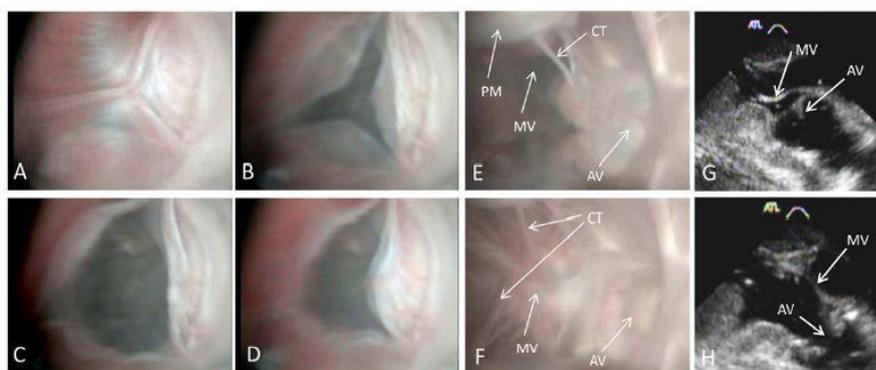
**Figura 2.18** Sonda da 1" del flussimetro a tempo di transito, a sinistra. Immagine a destra trasduttore di pressione piezoresistivo.

#### 2.1.4.4 Strumenti di imaging

Il banco prova prevede due accessi, a livello apicale e aortico, che consentono l'ingresso di una lente endoscopica al fine di condurre ispezioni visive sulle strutture cardiache interne; la lente utilizzata è del tipo rigido Olympus da 10 mm di diametro.

Durante il funzionamento del banco prova è possibile inoltre acquisire misure ecocardiografiche, con un ecografo HDI 5000 con la sonda Philips L15-3 (Figura 2.19).

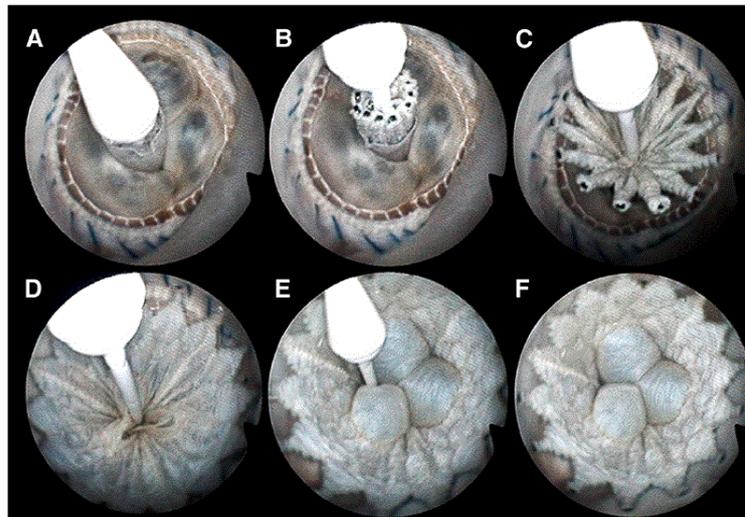
Un opportuno accesso, in posizione aortica, consente l'inserimento di fibroscopio ottico e la sua orientazione durante la fase dinamica di lavoro. Il fibroscopio può essere inoltre inserito in ventricolo sinistro da un accesso laterale praticato chirurgicamente; l'esecuzione di una semplice sutura a "borsa di tabacco" è sufficiente a garantire la tenuta idraulica e meccanica. L'orientabilità della sonda fibroscopica permette un posizionamento ottimale della stessa rispetto alle strutture valvolari oggetto di indagine.



**Figura 2.19** A – D – Sequenza di immagini endoscopiche che mostrano l'apertura e chiusura della valvola aortica. E – F immagini endoscopiche visualizzate dall'accesso apicale: apertura e chiusura delle valvole mitraliche e aortiche. G – H – immagini ecografiche in fase di diastole e sistole. [1]

La possibilità di registrare video e immagini con la sonda fibroscopica permette di sfruttare il banco prova come strumento, non solo per analizzare la dinamica di apertura e chiusura delle strutture valvolari, ma anche per il training del personale medico.

Il setup ha permesso di visualizzare, sia dal lato aortico sia apicale, un tradizionale impianto transcateretere (TAVI), di cui in Figura 2.20 si riportano alcuni frame ricavati dai video registrati durante la procedura. [44]



**Figura 2.20** *Snapshots della procedura di impianto valve-in-valve, visualizzato dall'interno del ventricolo sinistro attraverso la sonda fibroscopica. [44]*

### 2.1.5 Confronto tra i principali banchi prova e ottimizzazione del banco prova di Leopaldi

Per comprendere l'evoluzione storica che ha interessato i banchi prova per la valutazione emodinamica cardiovascolare si riportano schematicamente le caratteristiche dei principali banchi prova riportati in letteratura. Si conduce il confronto secondo due aspetti fondamentali: il setup sperimentale e la strumentazione di misura.

Per quanto attiene il setup sperimentale, l'analisi viene condotta sul tipo di circuito di simulazione di impedenza sistemica utilizzato, sul tipo di sistema di attuazione, sul campione testato e sulla presenza o meno di un modello patologico. (Tabella 2.1)

SETUP SPERIMENTALE							
<i>Banco prova</i>	<i>post-carico</i>	<i>attuazione</i>			<i>cuore</i>		<i>patol</i>
		<i>pneum</i>	<i>idraul</i>	<i>miocard</i>	<i>sx</i>	<i>dx</i>	
<b>Cornhill</b>	✓	✓			VAmecc		
<b>Verdonck</b>	✓	✓			VMmecc		
<b>Vismara</b>	✓		✓		ARFU		
<b>Arita</b>	✓	✓			VM		✓
<b>Chinchoy</b>	✓			✓	✓	✓	
<b>Araki</b>	✓			✓	✓	✓	
<b>Hill</b>	✓			✓	✓	✓	
<b>Richards</b>	✓		✓		✓	✓	
<b>Leopaldi</b>	✓		✓		✓	✓	

**Tabella 2.1** Confronto tra i banchi prova allo stato dell'arte in base al set-up sperimentale.

Il secondo confronto sulla strumentazione integrata ha come oggetto la registrazione di misure pressione-portata e di video ad alta velocità, la visione diretta delle strutture cardiache attraverso endoscopio e/o fibroscopio, la visualizzazione ecografica e la misura ecoDoppler

STRUMENTAZIONE					
<i>Banco prova</i>	<i>P&amp;Q</i>	<i>Alta velocità</i>	<i>Visione diretta</i>	<i>Echo</i>	<i>Doppler</i>
<b>Cornhill</b>	✓				
<b>Verdonck</b>	✓			✓	✓
<b>Vismara</b>	✓	✓			
<b>Arita</b>	✓	3D			
<b>Chinchoy</b>	✓		endo		
<b>Araki</b>	✓		endo		
<b>Hill</b>	✓		endo&fibro		
<b>Richards</b>	✓		endo	✓	✓
<b>Leopaldi</b>	✓	✓	endo&fibro	✓	

**Tabella 2.2** Confronto tra i banchi prova allo stato dell'arte in base alla strumentazione integrata.

Il banco prova di Leopaldi, dotato di una vasta gamma di dispositivi d'imaging (Tabella 2.2), è uno strumento con ottime potenzialità per lo studio del caso fisiologico,

ma, come emerso in Tabella 2.1, non consente di analizzare quello patologico, d'interessante valutazione per il personale medico. Emerge inoltre la necessità di integrare la misura ecoDoppler, per la quantificazione dei flussi ematici cardiaci.

Il setup sperimentale di Leopaldi presenta ancora dei limiti non emersi dal riassunto schematico:

1. Il fluido di lavoro, costituito da acqua demineralizzata, non replica le proprietà reologiche del sangue;
2. La configurazione sperimentale non include un sistema di retroazione per la regolazione automatica dei parametri emodinamici in fase di test.

Nella presente tesi si decide di risolvere due delle criticità individuate:

#### **A. Integrazione della metodica ecoDoppler di misura dei flussi ematici.**

La scelta di equipaggiare il banco prova del sistema di misura ecoDoppler è dettata dai seguenti motivi:

- Le caratteristiche vantaggiose della tecnica d'imaging ossia la non invasività e l'economicità dell'esame, eseguito con apparecchiatura facilmente trasportabile;
- L'ecoDoppler è una metodica frequentemente utilizzata in medicina per la diagnosi dei vasi sanguigni, arteriosi e venosi, e del cuore in tempo reale ed in maniera contemporanea.
- La tecnica Doppler si affianca all'ecografia, di cui il banco prova era già dotato, e permette di aggiungere all'imaging un'informazione sull'emodinamica;
- Dare al personale medico uno strumento che gli permetta di confrontare gli effetti emodinamici di tecniche chirurgiche o di impianti protesici studiati *in vitro* con i risultati clinici.

#### **B. Lo sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica.**

Il modello patologico scelto è quello di stenosi aortica per l'incidenza e l'impatto socio-economico crescenti che caratterizzano questa malattia cardiovascolare, ricorrente nell'anziano. La stenosi aortica, come dettagliato nel Capitolo 1, non può essere riparata ma necessita di interventi di sostituzione chirurgica, i quali, presentando un alto rischio procedurale, non possono essere condotti su alcuni pazienti, soprattutto quelli anziani. Per

trattare questi pazienti si sono sviluppate metodiche alternative transcateretere, che in quanto meno invasive, consentono un rapido recupero.

La possibilità di replicare il funzionamento cardiaco in condizioni patologiche, tipiche della stenosi aortica, permette al personale medico di simulare terapie chirurgiche e impianti di dispositivi artificiali, in modo realistico, e studiarne *in vitro* gli effetti fluidodinamici. Disponendo di un modello patologico è inoltre possibile conferire una maggiore validità clinica ai dati sperimentali relativi all'immediato post-operatorio.

## 2.2 EcoDoppler *in vitro* per la valutazione della perfusione coronarica

Per valutare le potenzialità della misura Doppler *in vitro* si analizza la perfusione coronarica nei cuori interi porcini montati nel banco prova con il sistema in dotazione presso l'Ospedale L.Sacco. La scelta di analizzare il flusso coronarico con la metodologia Doppler è dettata dalla volontà di analizzare l'effetto sulla perfusione coronarica di tecniche riparative e d'impianti di protesi transcateretere. Questi trattamenti sono responsabili dell'alterazione del flusso coronarico e pertanto meritano di essere approfonditi *in vitro*.

La valutazione del flusso coronarico viene effettuata sempre più frequentemente con l'ecocardiografia transtoracica Doppler (TTDE), poiché, come è stato precedentemente detto, è una tecnica non invasiva, economica, veloce e in tempo reale.

Per comprendere le strategie utilizzate per eseguire la misura ecoDoppler *in vitro*, che verranno discusse in dettaglio nel Capitolo 3, è fondamentale delineare i principi fisici e le criticità di questo sistema di analisi.

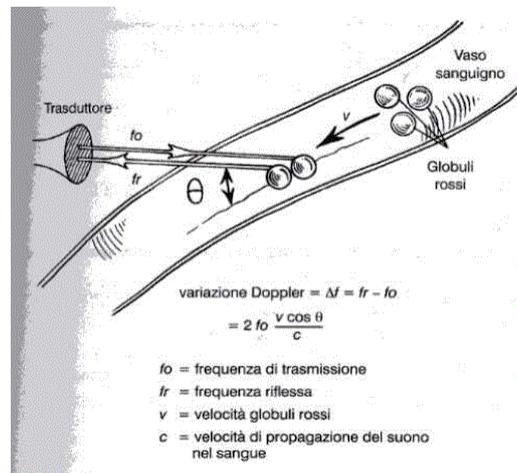
### 2.2.1 Ecocardiografia Doppler

Le misurazioni Doppler della velocità di flusso ematico nel cuore si basano sull'effetto Doppler, descritto dal fisico austriaco Christian Doppler nel 1842, per il quale un'onda sonora varia la sua frequenza, o lunghezza d'onda, se incide su un oggetto riflettente; in particolare la frequenza aumenta se l'oggetto si avvicina alla sorgente, diminuisce se si allontana.

La variazione tra la frequenza incidente  $f_0$  e quella riflessa  $f_r$  è detta *variazione Doppler* ( $\Delta f = f_r - f_0$ ) ed è funzione della frequenza dell'onda incidente, dell'angolo di incidenza  $\vartheta$  dell'onda sonora sull'oggetto riflettente, della velocità  $v$  della particella in movimento e della velocità  $c$  del suono nel mezzo secondo la relazione:

$$\Delta f = \frac{2f_0 \cdot v \cdot \cos \vartheta}{c}$$

Nel sistema cardiocircolatorio l'elemento mobile è rappresentato dai globuli rossi, la cui velocità, ricavabile dall'equazione riportata sopra, è fortemente dipendente dall'angolo di incidenza dei raggi e, conseguentemente, da come viene effettuato l'esame ecografico (Figura 2.21).



**Figura 2.21** Disegno schematico per dimostrare l'effetto Doppler.

Attualmente l'ecografia Doppler viene svolta in tre differenti modalità:

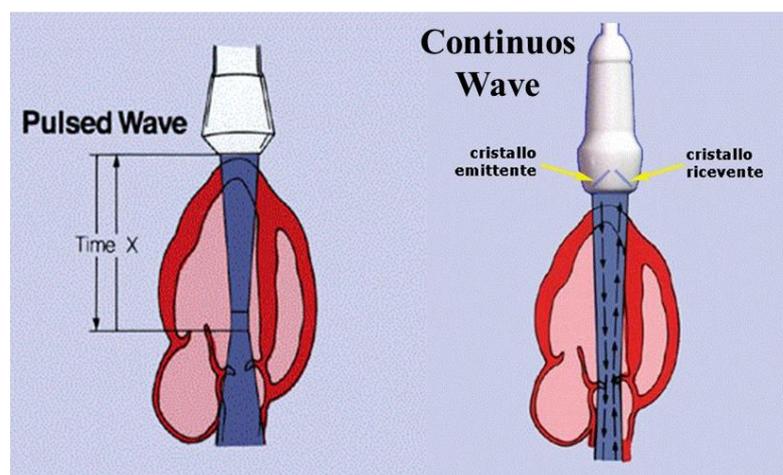
- Doppler pulsato (Pulsed Wave - PW);
- Doppler continuo (Continuos Wave – CW);
- Color Doppler (CD).

Il PW-Doppler e il CW-Doppler vengono visualizzati su un piano cartesiano, in cui in ordinate è riportata la velocità (espressa in cm/s, o in m/s) mentre l'asse delle ascisse rappresenta il tempo.

Nel PW-Doppler (Figura 2.22) i cristalli della sonda ecografica funzionano sia da emettitori dell'ultrasuono, con una determinata frequenza d'impulso, che da ricevitori degli

echi generati dai globuli rossi. Al crescere della frequenza d'impulso aumenta la velocità massima calcolabile fino a un limite massimo di velocità, in corrispondenza della frequenza di Nyquist, oltre il quale il PW-Doppler è limitato dal cosiddetto fenomeno di aliasing e non consente la misura.

Il CW-Doppler non ha limitazioni sul valore massimo di velocità misurabile ma esso non è in grado di discriminare la profondità dell'eventuale disturbo di flusso perché il fascio ultrasonoro non è focalizzato come nel PW-Doppler; nel CW-Doppler, infatti, alcuni cristalli sono deputati alla produzione e altri solo alla ricezione degli echi. (Figura 2.22)



**Figura 2.22** Nel PW-Doppler, a sinistra, il trasduttore trasmette e riceve gli ultrasuoni che vengono focalizzati in un volume campione. Nel CW-Doppler sono presenti sia cristalli emittenti che riceventi.

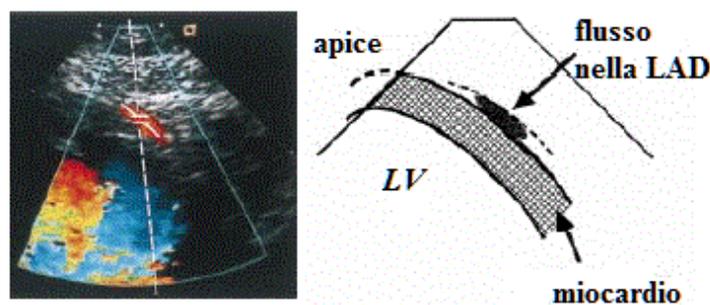
Il Color Doppler, terza modalità citata, sfrutta la tecnologia del PW-Doppler ma, anziché visualizzare il fronte di avanzamento dei globuli rossi, con i suoi picchi e le sue depressioni, rappresenta il flusso, con la media delle sue velocità, permettendone la visualizzazione come una mappa di colore sovrapposta all'immagine 2D. Il colore è codificato, di solito, in maniera tale che il rosso rappresenta un flusso in avvicinamento alla sonda, mentre il blu in allontanamento. La modalità Color Doppler ha il vantaggio di essere di intuibile interpretazione però non fornisce informazioni quantitative ma esclusivamente qualitative sul flusso. Può essere particolarmente utile nella fase iniziale della misura di velocità per individuare picchi di velocità o l'eventuale presenza di turbolenze.

### 2.2.2 PW-Doppler per la misura della velocità coronarica

Lo studio condotto da Hozumi *et al.* ha dimostrato la possibilità di ottenere una misura attendibile della velocità del flusso coronarico con la tecnica TTDE. Per verificare la sua attendibilità, Hozumi ha esaminato un gruppo di 23 pazienti, in cui la velocità del flusso coronarico è stata misurata nella coronaria discendente anteriore sinistra (dall'acronimo inglese Left Anterior Descending, LAD) tramite fili guida doppler (Doppler Guide-Wire, DGW) e, contemporaneamente, tramite TTDE. Il flusso misurato tramite ecocardiografia transtoracica doppler è risultato molto vicino a quello misurato con DGW, metodo convalidato per la misura della velocità. [5]

La misurazione non invasiva della velocità di flusso coronarico eseguita tramite TTDE si effettua generalmente nell'arteria coronarica discendente anteriore (LAD). Essa decorre sulla faccia anteriore del cuore attraverso il solco interventricolare anteriore, una scanalatura anteriore tra il ventricolo destro e sinistro. La LAD è costituita da tre porzioni denominate prossimale, media e distale. La portata non è costante lungo l'arteria discendente, in particolare esso decresce dalla zona prossimale a quella distale a causa delle numerose arteriole collaterali che si dipartono dalla LAD. [12] [5]

Delle tre porzioni la medio-distale risulta essere quella maggiormente utilizzata per l'esame TTDE, di cui si riporta un'immagine schematica in Figura 2.23.



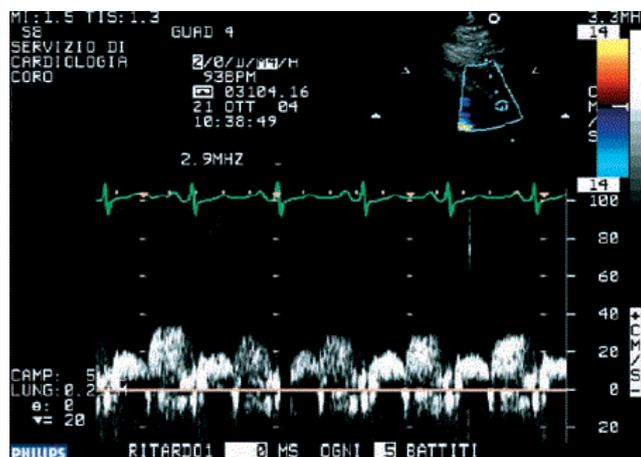
**Figura 2.23** A sinistra è mostrato un tipico TTDE nella LAD distale. A destra una rappresentazione schematica del flusso ematico nella LAD: LV=ventricolo sinistro. [2]

#### 2.2.2.1 Tracciato Doppler di velocità di flusso coronarico.

Come introdotto nel Capitolo 1, il flusso coronarico ha un andamento che differisce per il circolo sinistro e quello destro; nella parte sinistra, che irrorà il cuore sinistro in cui si sviluppano forze notevoli, la portata risulta maggiore (il rapporto tra portata coronarica

sinistra e destra è di 1 a 5). Il flusso coronarico sinistro differisce da quello destro anche come forma d'onda: quello destro segue l'andamento di pressione aortica mentre quello destro ha un profilo costituito da una fase sistolica di durata e picco inferiori rispetto a quella diastolica.

Il tracciato Doppler di un esame TTDE, tipicamente effettuato nella coronaria LAD, è espresso in termini di velocità di flusso. In Figura 2.24 è mostrato un andamento tipico di velocità di flusso coronarico, caratterizzato dall'alternanza di due onde, una sistolica più breve e una diastolica di ampiezza e durata maggiori..



**Figura 2.24** Profilo flussimetrico delle velocità coronariche sistoliche e diastoliche in arteria interventricolare anteriore distale a riposo. La curva in verde sopra il segnale Doppler è relativo all'ECG del paziente e permette di discriminare le fasi sistolica e diastolica.

### 2.3 Sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica

Si descrivono brevemente alcuni metodi di ottenimento di valvole aortiche stenotiche riportati in letteratura e per ognuno di essi si riconoscono vantaggi e svantaggi. Questa analisi critica consente di scegliere il modello di stenosi aortica che verrà sviluppato, oltre che caratterizzato idrodinamicamente, nel presente lavoro di tesi.

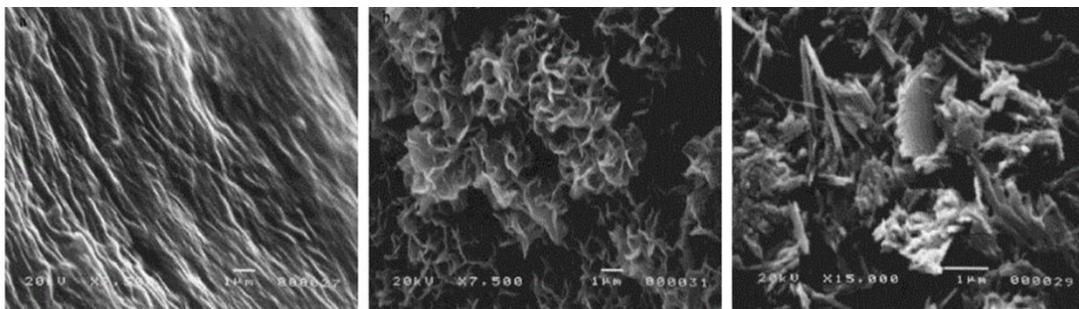
#### 2.3.1 Acceleratori di calcificazioni in vitro

La calcificazione è un processo di formazione di cristalli di calcio, che interessa principalmente cuspidi o vasi, e causa un aumento di rigidità dei tessuti e riduzione della loro flessibilità, ostruzione delle valvole o lacerazione dei condotti ematici.

Al fine di ottenere delle valvole stenotiche *in vitro*, Kaposos *et al.* [45] hanno progettato un sistema in cui il deposito di cristalli di calcio è dinamicamente controllato in termini di spessore del film e di composizione chimica. Il setup sperimentale è costituito da un bioreattore contenente una soluzione satura di calcio-fosfati, a temperatura e pH mantenuti costanti, in cui vengono alloggiati valvole cardiache porcine. Per la realizzazione di valvole stenotiche con il modello descritto sono necessari diversi giorni di azione del fluido di simulazione sui foglietti delle protesi biologiche.

E. Pettenazzo [46] sfrutta le potenzialità di un banco prova normalmente utilizzato per testare bioprotesi porcine al fine di ottenere calcificazioni sui foglietti delle stesse. Utilizzando il protocollo sviluppato da Deiwick, Glasmacher e colleghi [47] si ottengono dei depositi massivi di cristalli di calcio sui lembi delle valvole; il protocollo prevede che il test venga eseguito con un fluido di lavoro contenente una soluzione satura di fosfato di calcio ad una frequenza di test di 300 cicli al minuto a 37 °C per una durata totale di  $19 \times 10^6$  cicli. Con il sistema esposto si ricavano valvole biologiche stenotiche aventi caratteristiche simili a quelle che si formano con i normali processi di degenerazione *in vivo*.

I metodi di calcificazione descritti consentono verifiche sulla composizione chimica e morfologica del deposito cristallino, nonché valutazioni delle sue proprietà chimico-fisiche al variare della composizione chimica del fluido utilizzato per ottenere la placca stenotica. In Figura 2.25 si mostra un esempio di analisi di composizione chimica attraverso test al microscopio elettronico.

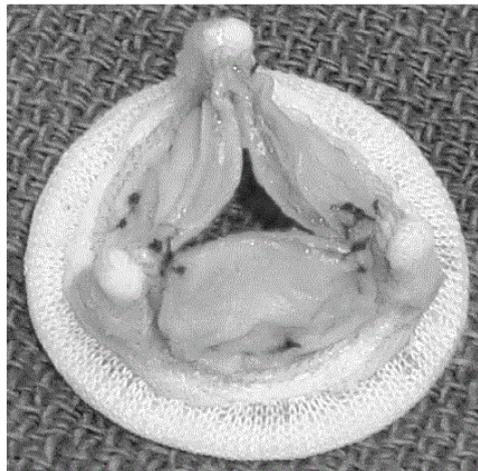


**Figura 2.25** Immagini al microscopio elettronico dei leaflets aortici porcini a seguito della deposizione della fase minerale al variare della composizione chimica del fluido calcificante. [45]

### 2.3.2 Metodo di incollaggio proposto da Azadani

A.N. Azadani e colleghi [48] hanno ottenuto una caduta di pressione di picco di circa 50 mmHg, tipica di una stenosi aortica severa, su una protesi biologica, con un metodo semplice e veloce. Attraverso l'applicazione di uno strato di adesivo chirurgico, denominato BioGlue, solitamente utilizzato in sala operatoria per il raggiungimento dell'emostasi, è stato possibile simulare le calcificazioni sui foglietti di pericardio bovino di protesi valvolari. Per assicurare la compattezza del tessuto e prevenire dislocazioni durante la fase di test delle valvole è stato necessario suturare un ulteriore strato di pericardio sui foglietti.

In Figura 2.26 si riporta un'immagine, tratta dal lavoro di Azadani, in cui si osserva la valvola aortica resa stenotica attraverso la tecnica dell'incollaggio.



**Figura 2.26** Bioprotesi in cui il BioGlue è stato utilizzato per simulare le calcificazioni. [48]

Il modello patologico sopradescritto risulta meno rigoroso rispetto a quelli che utilizzano i circuiti idraulici contenenti i cosiddetti fluidi calcificanti; esso infatti non garantisce il raggiungimento delle stesse caratteristiche chimico-fisiche del tessuto stenotico naturale ma, di contro, fornisce un semplice strumento per simulare le proprietà idrodinamiche di una valvola stenotica naturale.

### 2.3.3 Proposta di un nuovo modello patologico di stenosi aortica

Dall'analisi dello stato dell'arte si evince che i metodi di riproduzione della stenosi *in vitro* sono: gli acceleratori di calcificazioni e le tecniche di incollaggio. Le due soluzioni

si collocano agli antipodi tra loro in termini di controllabilità e ripetibilità del modello contro le esigenze di praticità ed economicità delle prove sperimentali.

Con i simulatori *in vitro* si possono ottenere delle placche stenotiche di cui è possibile controllare la morfologia e la composizione chimica e riuscire pertanto a replicare a priori il grado di stenosi al fine di condurre delle ricerche standardizzate. Gli svantaggi rappresentati da questa tecnica sono i lunghi tempi necessari all'ottenimento dei campioni stenotici e la necessità di utilizzare un fluido di lavoro con proprietà reologiche differenti da quelle normalmente impiegate per i test di valutazione fluidodinamica.

Il metodo di incollaggio proposto da Azadani richiede ridotti tempi di preparazione del modello ed è, soprattutto, pratico ed economico ma è, di contro, scarsamente ripetibile.

Il modello sviluppato nella presente tesi trae ispirazione da quello proposto da Azadani, le cui proprietà di praticità ed economicità sono coerenti con le scelte progettuali fatte per lo sviluppo del banco prova di Leopaldi *et al.*. Il modello proposto in questo lavoro presenta una differenza fondamentale rispetto a quello di Azadani cioè il materiale utilizzato per simulare le calcificazioni aortiche: anziché utilizzare il semplice adesivo BioGlue, durante l'intervento chirurgico di sostituzione della valvola aortica si asportano al paziente i foglietti stenotici naturali che vengono poi incollati, attraverso colla Attack, sulla superficie valvolare aortica porcina.

La soluzione proposta è stata suggerita, dopo un confronto con i chirurghi, dalla facile reperibilità, in ambito ospedaliero, della componente biologica di natura patologica nonché dalla possibilità di ottenere un modello di stenosi aortica simile a quello naturale. I foglietti asportati presentano due superfici con morfologia diversa: quella del lato ventricolare è liscia e si presta pertanto ad essere incollata e modellata sul foglietto del cuore porcino, mentre quella del lato aortico è ricoperta di agglomerati di cristalli di calcio che permettono di conferire rigidità alla valvola porcina.

Il modello proposto nella presente tesi permette, in un modo pratico ed economico, di operare *in vitro* con valvole aortiche patologiche, aventi una morfologia uguale a quelle naturali. In questo modo si possono condurre trattamenti chirurgici o impianti transcateretere e valutare il loro effetto fluidodinamico *in vitro*, paragonabile a quanto accade *in vivo*, almeno nell'immediato post-operatorio. La criticità principale del modello è data dalla difficoltà nel controllare a priori il grado di stenosi da riprodurre.

# CAPITOLO 3

## 3. Messa a punto del sistema di misura ecoDoppler

### Introduzione

L'ecoDoppler è una tecnica pratica e non invasiva, frequentemente utilizzata in ambito clinico, per valutare la fluidodinamica nei vasi ematici cardiaci, dall'aorta alle coronarie endocardiche. La scelta di aggiungere questo sistema di misura al banco prova di Leopaldi *et al.* [1], descritto ed analizzato nel precedente capitolo, è motivata dall'esigenza di fornire al personale medico uno strumento diagnostico, usato tradizionalmente *in vivo*, che permettesse loro di valutare l'effetto emodinamico di terapie chirurgiche e di impianti protesici condotti *in vitro*.

Per sfruttare le potenzialità della misura Doppler *in vitro* si è deciso di analizzare la perfusione coronarica effettuando l'esame ecografico in un distretto anatomico individuato anche *in-vivo* nell'ecografia Doppler trans-toracica (TTDE), tecnica dimostratasi affidabile e precisa come dimostrato dallo studio effettuato da Hozumi *et al.* [5].

Nel presente capitolo vengono inizialmente discussi i metodi impiegati per l'applicazione della tecnica ecoDoppler *in vitro*. Alcune strategie sono state indispensabili per l'implementazione del sistema di misura sul banco prova; altre, più specifiche del metodo Doppler, sono state adottate al fine di garantire affidabilità e ripetibilità della misura.

Al fine di comprendere e gestire le grandezze fluidodinamiche che controllano il sistema, si è condotta una prova preliminare in cui si applica la misura ecoDoppler in condizioni stazionarie, anziché pulsatili, sull'arteria coronarica isolata dal resto della circolazione cardiaca. Si descrivono i metodi, il protocollo di test ed elaborazione dei dati per gli esperimenti in portata continua, ed i risultati preliminari che hanno permesso di perfezionare la campagna sperimentale pulsatile.

Si descrivono successivamente il protocollo di test ed elaborazione dei dati della campagna di messa a punto del sistema Doppler sul vaso coronarico, in condizioni di portata pulsatile, al variare di due fondamentali parametri idrodinamici: la pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica e lo stroke volume sistolico.

Tali campagne sperimentali hanno permesso lo sviluppo di un protocollo che permette di valutare eventuali modifiche indotte nel flusso coronarico dell'impianto di valvole transcateretere. Un errato posizionamento della protesi può, infatti, ostacolare il flusso ematico negli osti coronarici e causare il fallimento dell'intervento transcateretere.

In tutte le prove sperimentali è stato utilizzato il banco prova di Leopaldi *et al.* con la strumentazione di misura descritta in dettaglio nel Capitolo 2. Per effettuare la misura Doppler si è adoperato l'ecografo HDI-5000 Philips, disponibile al ForCardioLab, con l'apposita sonda cardiovascolare L-12.5 .

### 3.1 Strategie di applicazione *in vitro* dell'ecoDoppler sulle coronarie

L'ecoDoppler è una tecnica operatore-dipendente. La sua efficacia e adeguatezza, pertanto, dipendono da chi esegue ed interpreta l'esame. Questa caratteristica rappresenta una criticità per lo sviluppo di uno studio *in vitro* ripetibile e controllabile ed ha posto dei vincoli per la scelta del protocollo sperimentale da seguire.

I principali accorgimenti adottati per la valutazione della perfusione coronarica con la tecnica PW-Doppler sono:

- 1) Scelta di un fluido corpuscolato del sangue da utilizzare nel banco prova.
- 2) Scelta della porzione di vaso coronarico in cui effettuare la misura di velocità;
- 3) Scelta del tipo di trasduttore ecografico da utilizzare;
- 4) Sincronizzazione del profilo di velocità Doppler con i tracciati idrodinamici.
- 5) Individuazione di un protocollo di misura Doppler.

#### 3.1.1 Fluido corpuscolato per effettuare la misura Doppler

Al fine di poter acquisire le misure eco-Doppler è stato necessario utilizzare un fluido di lavoro del circuito idraulico che simulasse la componente corpuscolata del sangue. Seguendo le indicazioni di Ramnarine *et al.*, 1998 [3] è stata realizzata una sospensione acquosa di particelle di poliammide ultrafine (Orgasol ELF Atochem, Paris,

France) di diametro di 10  $\mu\text{m}$  (2001EXDNAT1). Utilizzando particelle di piccolo diametro, simile a quello dei globuli rossi (6-10  $\mu\text{m}$ ) si assicura un'elevata concentrazione in piccoli volumi e nei vasi di piccolo calibro, come le coronarie.

Per mantenere coerenza con il setup sperimentale a disposizione non si sono replicate le caratteristiche di viscosità e densità del sangue ma si è concentrata l'attenzione sul trovare la composizione della miscela che garantisse una dispersione omogenea della polvere di Orgasol.

### 3.1.1.1 Preparazione della soluzione di Orgasol

La soluzione di simulazione dei globuli rossi è stata ottenuta mescolando la percentuale in peso di particelle di Orgasol, individuata in Ramnarine *et al.* [3], in acqua distillata, e aggiungendo una quantità di tensioattivo tale da bilanciare le due esigenze fondamentali di:

1. consentire la dispersione delle particelle ed evitare la formazione di agglomerati di Orgasol;
2. ridurre la produzione di schiuma, condizione indesiderata in fase di funzionamento del banco prova.

Come tensioattivo si è scelto di utilizzare il TRITON X-100 (Octylphenol ethylene oxide condensate, SIGMA) per la sua capacità di disperdere le particelle con la minima produzione di schiuma. Gli altri surfattanti testati sono stati il Laurilsolfato di sodio e il Contrad 2000 concentrato; essi sono stati scartati, rispettivamente, per l'eccessiva produzione di schiuma e per la scarsa capacità di dispersione delle particelle.

La scelta dei componenti della soluzione e delle loro percentuali in peso (Tabella 3.1), si è basata sulla letteratura ed è stata confermata con un approccio qualitativo mediante l'ispezione, al microscopio ottico (Nikon SMZ1000), della dispersione di una goccia di fluido (Figura 3.1) e la valutazione visiva della quantità di schiuma formata in superficie.

Componente	% in peso	Funzione
Orgasol	0,17	simula i globuli rossi
Triton X	0,9	tensioattivo
H <sub>2</sub> O demin	98,93	solvente

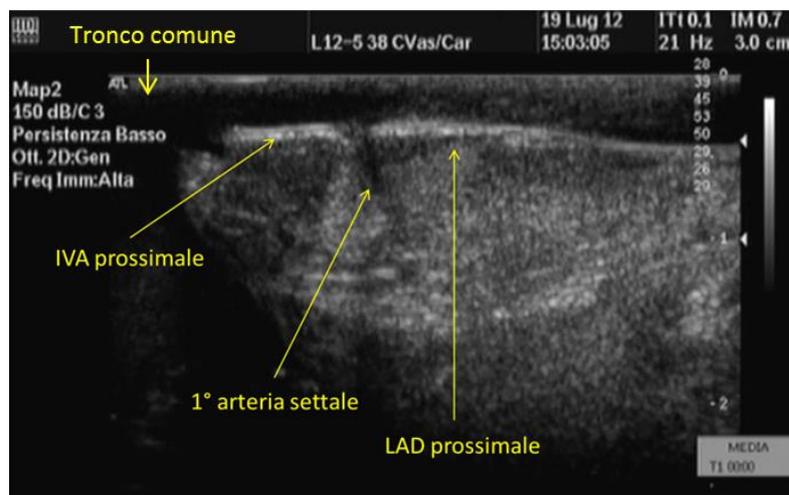
**Tabella 3.1** Composizione del fluido di simulazione del sangue.



**Figura 3.1** Immagine al microscopio ottico della composizione del fluido particolato

### 3.1.2 Identificazione del distretto anatomico

Come già anticipato nel Capitolo 2, l'esame TTDE per la valutazione della perfusione coronarica è stato effettuato generalmente sulla porzione medio-distale dell'arteria coronarica discendente anteriore (LAD). Nella campagna sperimentale *in vitro*, è stata eseguita la misura nella porzione prossimale dell'arteria interventricolare anteriore (IVA) poiché essa permette una misura ripetibile e affidabile. Tale condotto ematico risulta, infatti, d'immediata individuazione ecografica data la sua posizione a monte del complesso circolo coronarico, e non presenta significative differenze tra uomo ed animale. I valori di velocità di flusso sull'IVA non sono dissimili da quelli misurati sulla LAD e, sebbene non si prestino ad un raffronto coi dati clinici relativi al tradizionale esame TTDE, permettono di condurre un confronto tra misure ottenute sperimentalmente su più campioni.



**Figura 3.2** Immagine ecografica della porzione anatomica in cui procedere con la misura Doppler.

Sperimentalmente l'IVA è stata identificata a partire dalla vista ecografica (Figura 3.2) in cui si ritrovano, nell'ordine, tronco comune della coronaria sinistra, IVA prossimale e la sua prima diramazione in prima arteria settale, la quale decorre in profondità verso i tessuti endocardici, e la LAD prossimale.

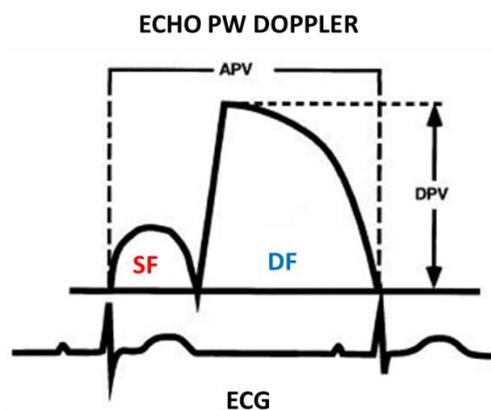
### 3.1.3 Scelta della sonda ecografica da utilizzare

Per effettuare un esame TTDE *in vivo* si utilizza un trasduttore convesso, in cui i cristalli, disposti su una superficie curva, producono un'immagine a tronco di cono. Per la misura *in vitro*, che avviene a diretto contatto con il miocardio porcino, si è impiegata una sonda cardiovascolare, di tipo lineare, poiché essa permette l'esplorazione di strutture nel campo ultrasonoro vicino, a differenza di quelle, normalmente usate per un esame transtoracico, di tipo convesso. La sonda lineare viene utilizzata in clinica per effettuare l'esame ecoDoppler sui vasi carotidei, situazione comparabile al caso testato *in vitro*.

### 3.1.4 Sincronizzazione dati ecoDoppler – dati idrodinamici

In condizioni pulsatili *in vitro* è necessario che le misurazioni della velocità coronarica siano sincronizzate con le registrazioni dei dati fluidodinamici eseguite con la strumentazione del banco prova.

L'ecografo consente di sincronizzare il flusso Doppler e l'elettrocardiogramma del paziente, grazie alla funzione di triggering ECG. (Figura 3.3)



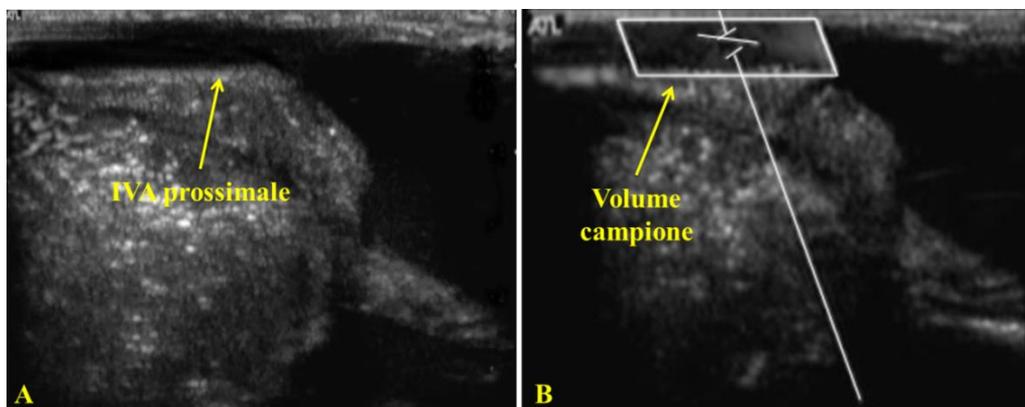
**Figura 3.3** In alto: flusso coronarico caratterizzato da una componente sistolica (SF, meno ampia) e una diastolica (DF, più ampia). In basso: tracciato ECG. APV: Averaged Peak Velocity; DPV: Diastolic Peak Velocity. Adattata da [2].

Il trigger della centralina di acquisizione, opportunamente connesso con l'output ECG dell'ecografo, ha consentito l'invio di un gradino di tensione di +5V sia nei dati registrati su PC sia all'ecografo, generando un segnale ECG fittizio, il quale è stato utilizzato in post-processing, come segnale per la sincronizzazione.

### 3.1.5 Protocollo di misura Doppler

Per effettuare la misura Doppler sull'IVA si è proceduto secondo le seguenti fasi:

- Individuazione della corretta porzione anatomica del vaso coronarico, visualizzato in **B-Mode**; (Figura 3.4)
- Impostazione del **Color Doppler** utilizzato ad una bassa frequenza di ripetizione degli impulsi, dimensione del gate aumentata al massimo, potenza di emissione del colore al massimo livello, guadagno aumentato fino a che il rumore diventa debole;
- Posizionamento del **volume campione** del Doppler pulsato sul vaso scelto in modo che, in modalità Color Doppler, tutto il volume campione sia incluso nel vaso coronarico nonostante la pulsatilità delle pareti delle arterie coronariche durante l'intero ciclo cardiaco; (Figura 3.4)
- Controllo che **l'angolo d'incidenza del fascio Doppler con l'asse del vaso coronarico**, di cui l'ecografo imposta automaticamente un valore medio ottimale, non superi i  $60^\circ$ . È pertanto fondamentale, operando in color mode, utilizzare la funzione di steering del fascio per rendere minimo l'angolo che si viene a creare tra il flusso e gli ultrasuoni.
- Registrazione del segnale **PW-Doppler**.



**Figura 3.4** A – individuazione della corretta porzione anatomica in modalità B-Mode; B – posizionamento del volume campione in modalità Color Doppler.

### 3.2 EcoDoppler sulla coronaria IVA in condizioni di portata generata da una pompa peristaltica

Per la messa a punto della misura ecoDoppler *in vitro* sono stati effettuati alcuni esperimenti in uno scenario sperimentale semplificato in condizioni di portata stazionaria sul letto coronarico sinistro, isolato dal resto della circolazione cardiaca. Tale approccio sperimentale, amplificando le specifiche di ripetibilità e controllabilità delle grandezze fluidodinamiche, ha i seguenti obiettivi:

- Confrontare qualitativamente i tracciati di portata in ingresso e di velocità ecoDoppler;
- Verificare l'attendibilità della misura registrata;
- Valutare l'effetto dell'aggiunta del fluido corpuscolato.

I risultati ottenuti attraverso tale setup semplificato permettono di affrontare il caso più complesso in portata pulsatile con il cuore porcino intero alloggiato nel banco prova.

#### 3.2.1 Setup sperimentale

In un cuore porcino isolato si incannula il tronco comune della coronaria sinistra mediante un tubo del diametro interno di  $\frac{1}{8}$  di pollice, dal quale viene erogata una portata mediante una pompa peristaltica collegata a monte del circolo coronarico sinistro. Per smorzare le oscillazioni della pompa roller si è inserito a valle di essa un elemento capacitivo, regolato da un rubinetto che ne permette l'apertura e la chiusura durante la prova. (Figura 3.5)

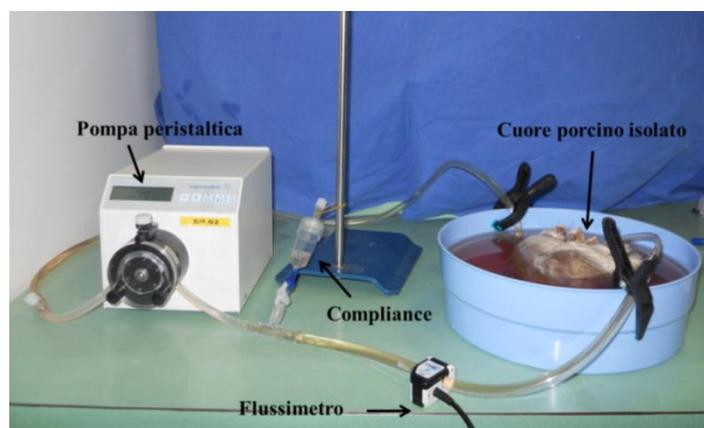
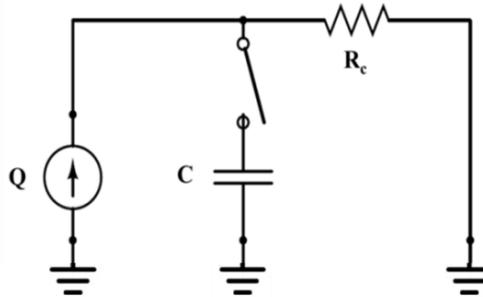


Figura 3.5 Setup sperimentale utilizzato per la messa a punto in condizioni stazionarie.

Si riporta in Figura 3.6 l'equivalente elettrico del circuito idraulico utilizzato per la prova preliminare descritta in cui  $Q$  rappresenta la portata erogata dalla pompa peristaltica;  $R_c$  indica la resistenza del ramo coronarico (sinistro) e  $C$  la compliance dovuta alla cassa d'aria inserita per smorzare le oscillazioni della pompa roller.



**Figura 3.6** Schematizzazione del setup sperimentale per la misura della velocità Doppler in condizioni stazionarie.

### 3.2.1.1 Ottenimento del campione

Il cuore porcino, prelevato dal macello, viene lavato e immerso in un bagno di soluzione fisiologica ed eparina per circa 2 ore al fine di rimuovere eventuali coaguli. Si procede quindi con il lavaggio delle coronarie da eventuali coaguli interni con l'iniezione di acqua demineralizzata con siringa da 5 ml introdotta dall'aorta e posizionata nell'ostio coronarico sinistro.

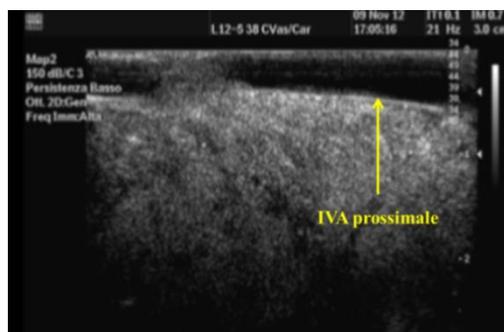
La coronaria sinistra viene incannulata in prossimità del tronco comune attraverso l'inserimento di un tubo da  $\frac{1}{8}$  di pollice la cui tenuta idraulica viene garantita dall'applicazione di una sutura a borsa di tabacco attorno al vaso. (Figura 3.7)



**Figura 3.7** Incannulazione del tronco comune della coronaria sinistra.

**3.2.2 Protocollo di prova**

Connesso il cuore porcino al sistema pompante, si avvia la pompa roller e si verifica che non ci siano perdite in prossimità dell'incannulazione. Si mantiene inalterata la portata per alcuni minuti al fine di eliminare alcuni possibili coaguli residui nel circolo coronarico. Si procede quindi con l'individuazione della porzione di vaso coronarico in cui effettuare le misure di velocità Doppler (Figura 3.8). Una volta individuata l'immagine ecografica B-Mode desiderata, che rimarrà invariata per tutta la durata del test, si attiva la modalità colorDoppler che permette di osservare la direzione del flusso all'interno del vaso coronarico e di posizionare il volume campione del PW-Doppler.



**Figura 3.8** Vista ecografica B-Mode dell'IVA prossimale, oggetto della misura di flusso coronarico.

Il setup sperimentale semplificato consente di valutare gli effetti sui tracciati ecoDoppler delle variazioni sia della portata in ingresso sia della presenza o meno dell'elemento capacitivo. Noto che la compliance, posta a valle della pompa roller, smorza le oscillazioni di portata della stessa, si vuole comprendere il suo effetto sulla velocità misurata con l'ecoDoppler.

In modalità PW-Doppler si registrano quindi i tracciati di velocità al variare della portata in ingresso: si considerano tre prove al variare della portata, denominate  $Q_{max}$ ,  $Q_{med}$  e  $Q_{min}$ , e per ciascuna di esse si valutano, alternativamente, le configurazioni del circuito idraulico con il ramo capacitivo chiuso (che chiameremo configurazione  $C_{off}$ ) e, successivamente, aperto ( $C_{on}$ ). (Tabella 3.2)

test	Configurazione	
	$C_{off}$	$C_{on}$
$Q_{max}$	$Q_{max\_C_{off}}$	$Q_{max\_C_{on}}$
$Q_{med}$	$Q_{med\_C_{off}}$	$Q_{med\_C_{on}}$
$Q_{min}$	$Q_{min\_C_{off}}$	$Q_{min\_C_{on}}$

**Tabella 3.2** Riepilogo delle 6 diverse condizioni di test effettuate al variare della portata e della presenza dell'elemento capacitivo.

Per la condizione  $Q_{max}$  si considera inoltre una misura di velocità in assenza della soluzione contenente Orgasol ( $Q_{max\_senzaO}$ ) nel fluido di lavoro del sistema (Tabella 3.3). L'obiettivo della registrazione di tali misure è quello di valutare l'efficacia della sospensione della polvere di Orgasol.

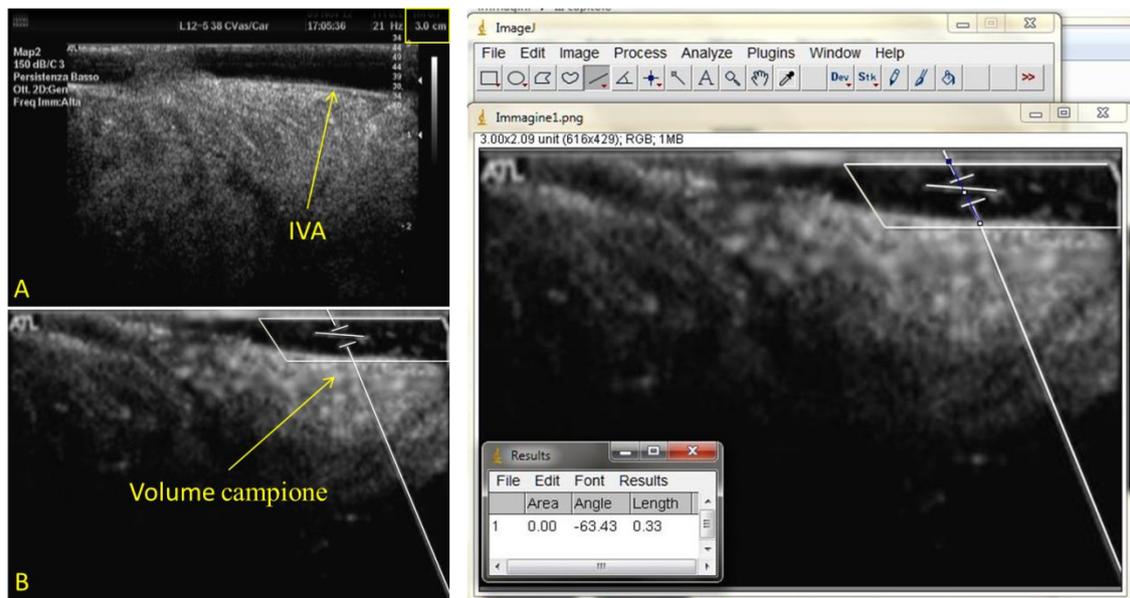
test	Configurazione	
	$C_{off}$	$C_{on}$
100%_senzaO	100%_senzaO_ $C_{off}$	100%_senzaO_ $C_{on}$
100%	100%_ $C_{off}$	100%_ $C_{on}$

**Tabella 3.3** Prove condotte al 100% della portata con aggiunta della soluzione eco-riflettente di Orgasol.

Per ogni condizione di test si registrano la portata in ingresso con un flussimetro a tempo di transito e la velocità di flusso coronarico con l'eco-Doppler.

**3.2.3 Protocollo di analisi dei dati**

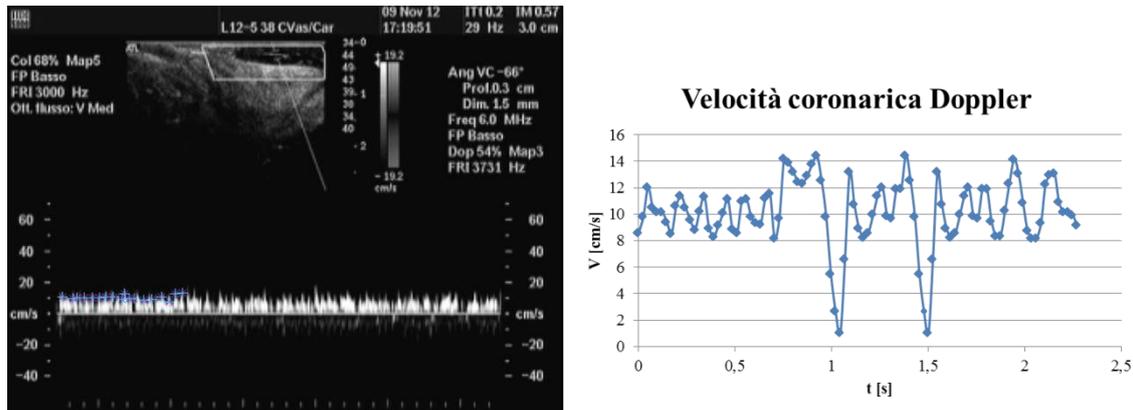
L'immagine in B-Mode (immagine A in Figura 3.9) riporta il valore di profondità del campo ultrasonoro che, per la sonda lineare utilizzata, corrisponde a 3.0 cm. Attraverso questa indicazione si può ricavare il diametro della coronaria in cui è stato rilevato il segnale Doppler, attraverso il programma ImageJ (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA).



**Figura 3.9** A sinistra - Immagine ecografica B-mode per la localizzazione della porzione di vaso coronarico (A) e posizionamento del volume campione in modalità ColorDoppler (B). a destra – schermata del programma ImageJ per la misura del diametro dell'IVA.

La sezione della coronaria viene misurata in corrispondenza del volume campione (immagine B in Figura 3.9) posizionato in modalità ColorDoppler, in questo modo si ricava il diametro dell'IVA nella regione in cui viene effettuata il PW-Doppler. Per tutta la durata del test, le impostazioni del Doppler vengono mantenute inalterate mentre si modificano i parametri fluidodinamici di controllo, come dettagliato in precedenza.

Il segnale di velocità Doppler viene visualizzato in un grafico velocità-tempo, di cui per entrambe le grandezze è riportata una scala graduata. Attraverso un software sviluppato ad hoc in ambiente Matlab (The MathWorks, Natick, Massachusetts, USA) presso il dipartimento di Bioingegneria del Politecnico di Milano è possibile ottenere l'involuppo del segnale Doppler registrato, e riportare in un foglio di calcolo Excel il profilo di velocità massima  $v = v(t)$  stimato col Doppler nel centro del vaso. (Figura 3.10)



**Figura 3.10** A sinistra - Schermata video del software utilizzato per estrapolare il contorno del profilo Doppler. La freccia gialla indica i punti posti in corrispondenza dei picchi del segnale di velocità. A destra – Tracciato di velocità Doppler ricostruito in Excel.

Per ciascuna condizione di test si calcolano:

1. La **portata media** ( $Q_m$ ) e di **picco** ( $Q_{picco}$ ) **in ingresso** erogata dalla pompa peristaltica come media e deviazione standard su 5 intervalli di tempo da 0,5 s.
2. La **riduzione**, espressa in percentuale, **dell'ampiezza di oscillazione della portata** ( $rid_Q$ ) dovuta all'apertura della compliance, come:

$$rid_Q = \left( 1 - \frac{Q_{picco-C_{on}}}{Q_{picco-C_{off}}} \right) \cdot 100$$

3. Le **velocità media**  $v_m$  e di **picco**  $v_{picco}$  della velocità coronarica Doppler  $v(t)$  come media e deviazione standard su 5 intervalli di tempo da 0,5 s.

4. La **riduzione**, espressa in percentuale, **del segnale di velocità ecoDoppler** ( $rid_V$ ) dovuta all'apertura della compliance, come:

$$rid_V = \left( 1 - \frac{v_{picco-C_{on}}}{v_{picco-C_{off}}} \right) \cdot 100$$

3. La **portata**  $Q_{Doppler}$  ottenuta secondo la relazione:

$$Q_{Doppler} = 0,5 \cdot v_m \cdot A \quad (1)$$

in cui A rappresenta l'area di passaggio del flusso coronarico, ricavata a partire dalla misurazione del diametro del vaso coronarico dall'immagine ecografica bidimensionale.

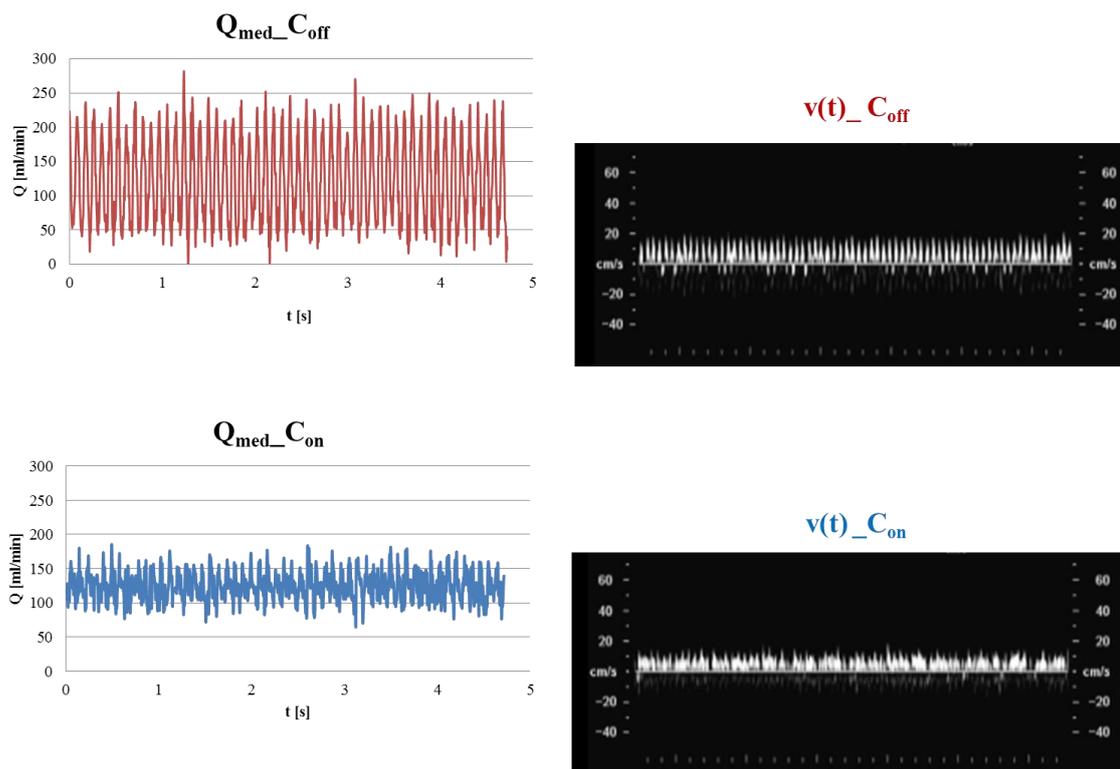
La formula in (1), validata in Doucette *et al.* [49] per stimare la portata in piccoli vasi come le coronarie, viene generalmente utilizzata per stimare il valore dell'integrale lungo un ciclo cardiaco della portata a partire dal solo valore di velocità di centro vaso. L'ipotesi che sta alla base del calcolo della  $Q_{Doppler}$  è che il profilo spaziale della velocità presenti una sostanziale simmetria assiale e che, in media, nel tempo, la forma del profilo spaziale della velocità sia parabolico.

### 3.2.4 Risultati

#### A) *Confronto qualitativo tra i segnali la portata in ingresso e quella ottenuta dalla misura ecoDoppler*

Si confronta qualitativamente l'andamento di portata in ingresso, misurata con flussimetro, con quello di velocità coronarica, rilevato col Doppler.

I tracciati di velocità di flusso coronarico riportano un segnale coerente con quello di portata registrato con il flussimetro; il tracciato di portata in ingresso oscilla attorno ad un valore di media e l'oscillazione diminuisce quando si apre il ramo capacitivo. Nei tracciati di velocità registrati con il Doppler l'apertura della compliance comporta una riduzione dell'ampiezza del segnale con una conseguente diminuzione del valore di velocità massima. (Figura 3.11)



**Figura 3.11** A sinistra – andamento della portata in ingresso nella prova  $Q_{med}$  in configurazione  $C_{off}$  e  $C_{on}$ . A destra – i rispettivi segnali di velocità di flusso Doppler.

**B) Effetto dell’apertura dell’elemento capacitivo**

L’aggiunta della compliance comporta una riduzione percentuale, di valore confrontabile, sia nel segnale di portata in ingresso sia in quello di velocità ecoDoppler. Al decrescere della portata impostata dalla pompa roller diminuisce l’ampiezza di oscillazione di entrambi i segnali. (Tabella 3.4)

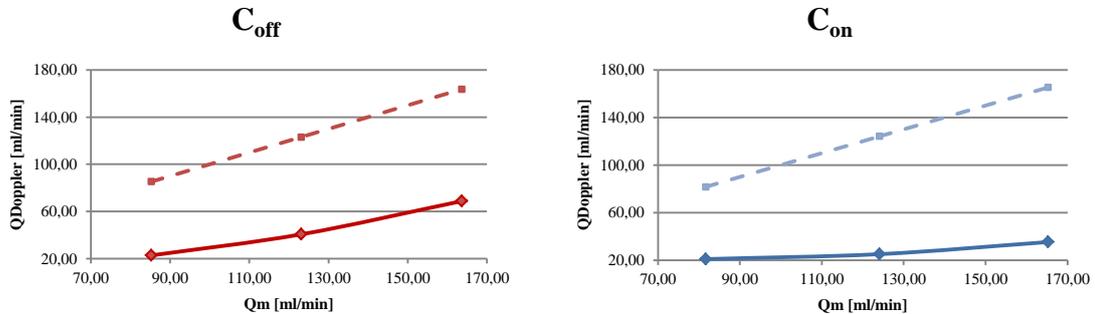
Prova	rid <sub>Q</sub>	rid <sub>v</sub>
$Q_{max}$	33%	40%
$Q_{med}$	30%	38%
$Q_{min}$	23%	10%

**Tabella 3.4** Valori di riduzione, espressa in valore percentuale, dell’ampiezza di oscillazione della portata in ingresso ( $rid_Q$ ) e del segnale di velocità ecoDoppler ( $rid_v$ ).

Lo smorzamento della portata in ingresso e l’attenuazione del segnale di velocità Doppler riportano una sostanziale costanza per le prove in  $Q_{max}$  e  $Q_{med}$  mentre si riducono passando dalla prova  $Q_{med}$  a quella  $Q_{min}$ .

### C) Confronto tra $Q_m$ e $Q_{Doppler}$

L'andamento della  $Q_{Doppler}$  in funzione della  $Q_m$ , mostra il medesimo trend di crescita sia in configurazione  $C_{off}$  che  $C_{on}$ , rispettivamente, a sinistra e a destra nella Figura 3.12.



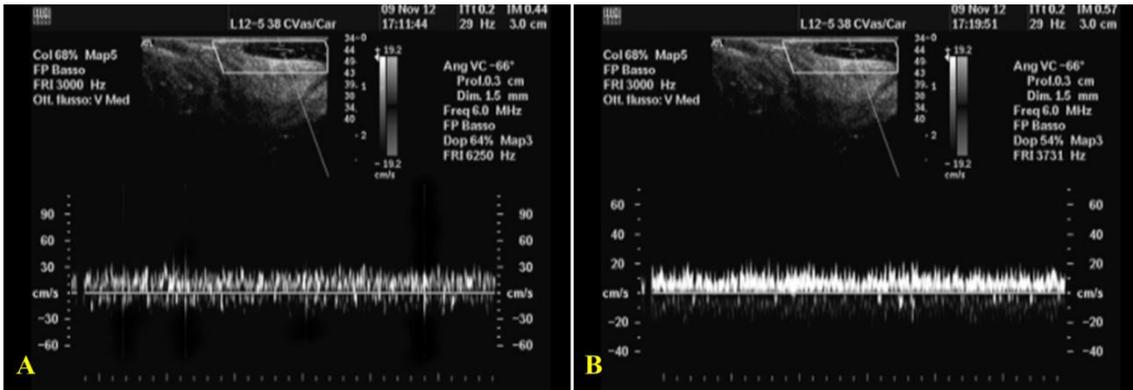
**Figura 3.12** Andamenti di  $Q_{Doppler}$  in funzione di  $Q_m$  relativo alle configurazioni  $C_{off}$  (a sinistra) e  $C_{on}$  a destra. Le linee tratteggiate rappresentano l'andamento identità.

Il confronto con l'andamento idealità (in Figura 3.12) permette di osservare che la portata valutata con il Doppler, secondo la formula (1), sottostima quella “reale” misurata con flussimetro. Tale risultato può essere dovuto a due motivi:

- la portata Doppler, calcolata con la relazione di Doucette [49], non permette di stimare con precisione la portata di effettivo funzionamento della pompa poiché basata sull'ipotesi, altamente semplificata, di profilo di velocità parabolico nella sezione di test.
- La scorretta impostazione dell'angolo d'incidenza del fascio sonoro sull'asse del vaso è fonte di errore e di artefatti nel Doppler spettrale. Angoli d'insonazione  $> 60^\circ$  comportano un'attenuazione del segnale Doppler.

### D) Effetto dell'aggiunta del fluido particolato

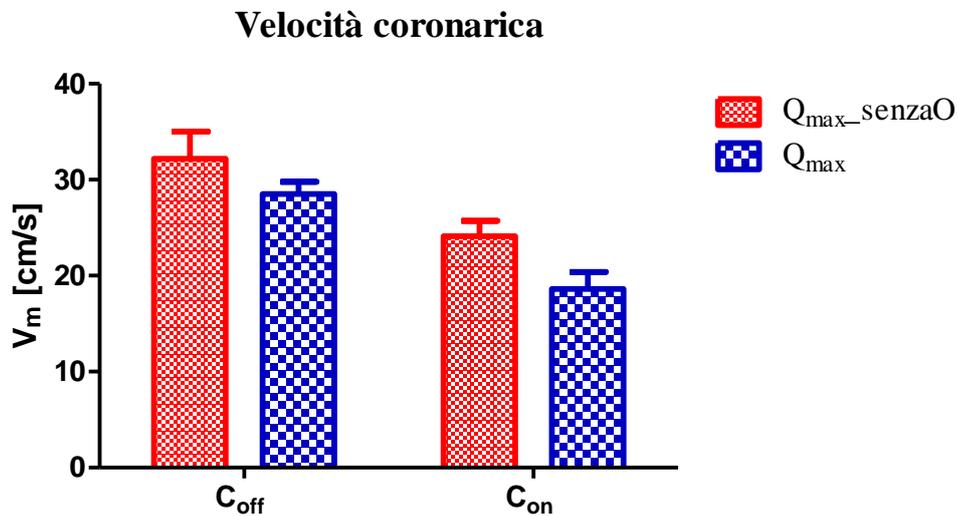
Per valutare, qualitativamente, l'efficacia del fluido particolato si confrontano due immagini (Figura 3.13) relative ai segnali registrati prima e dopo l'aggiunta della sospensione di Orgasol, in cui si mantengono inalterati i parametri di controllo dell'ecografo. Il fluido particolato, altera il segnale di velocità ecoDoppler: nell'immagine B i picchi appaiono, infatti, più nitidi rispetto al caso senza particolato e permettono di effettuare l'involuppo della velocità massima con maggiore precisione, secondo il protocollo di analisi dei dati descritto precedentemente.



**Figura 3.13** A – segnale Doppler sull’IVA prossimale in assenza della soluzione eco-riflettente. B – segnale Doppler registrato, sulla medesima porzione di vaso coronarico, dopo l’aggiunta della soluzione di simulazione dei globuli rossi. Per entrambi i segnali ci si riferisce alla prova  $Q_{max\_Con}$ .

Per comprendere come l’utilizzo del fluido particolato incida sul calcolo della velocità coronarica, si mostrano i valori di velocità coronarica  $v_m$  rilevati col segnale Doppler sia in configurazione  $C_{off}$  sia  $C_{on}$  nelle prove  $Q_{max}$  e  $Q_{max\_senzaO}$ . (Figura 3.14)

L’aggiunta della sospensione di Orgasol ha come effetto la diminuzione dei valori di velocità coronarica Doppler.



**Figura 3.14** Valori di velocità coronarica e deviazione standard ottenuti dall’analisi del segnale ecoDoppler per le prove con  $Q_{max}$  in configurazione  $C_{off}$  e  $C_{on}$ , con e senza Orgasol.

### 3.2.5 Commenti ai risultati ottenuti dalla prova preliminare

Attraverso la prova preliminare è stato possibile confrontare l’andamento della portata in ingresso nella coronaria con il profilo di velocità misurato con il Doppler. I

tracciati presentano la stessa forma d'onda di tipo oscillatorio, la cui ampiezza si riduce con l'apertura dell'elemento capacitivo. Tale riduzione è paragonabile, per ogni condizione di prova, a quella che si osserva nel segnale di velocità ecoDoppler e mostra pertanto l'affidabilità della misura Doppler *in vitro*.

Dal confronto fatto si osserva che i valori di portata calcolati con il PW-Doppler sono inferiori a quelli della portata in ingresso. Anche tale risultato è coerente con quanto atteso, infatti, è noto che la misura Doppler causa una sottostima dei valori di flusso ematico, anche negli esami condotti *in vivo*. Il calcolo della velocità istantanea di flusso è infatti dipendente dal Doppler-shift e dall'angolo di incidenza del fascio sonoro sull'asse del vaso ematico (Capitolo 2). L'angolo di insonazione nell'esperimento risulta essere di circa  $66^\circ$  e tale valore consente di spiegare i valori ridotti di  $Q_{\text{Doppler}}$  ottenuti sperimentalmente. Il posizionamento della sonda, a diretto contatto con il vaso coronarico IVA, non ha infatti permesso di impostare un valore dell'angolo di incidenza  $< 60^\circ$  come prescritto.

È stata inoltre verificata l'utilità del fluido di simulazione dei globuli rossi utilizzato per effettuare le misure Doppler. I tracciati, dopo l'aggiunta della soluzione di Orgasol, appaiono di colore più nitido. Dal confronto dei valori di velocità coronarica ottenuti prima e dopo l'aggiunta del fluido eco-riflettente si nota una riduzione degli stessi, dovuta al fatto che l'inviluppo manuale delle curve, più nitide e delineate in presenza di Orgasol, viene effettuato in modo più preciso.

### 3.3 Campagna sperimentale di messa a punto del sistema di misura ecoDoppler per la stima della velocità coronarica *in vitro*.

Per poter sfruttare la tecnica ecoDoppler *in vitro*, è indispensabile comprendere quali sono le grandezze fluidodinamiche che regolano la perfusione coronarica nel set-up sperimentale di Leopaldi *et al.*[4].

*In vivo* il fenomeno di regolazione del flusso coronarico è molto complesso, poiché dovuto a diversi processi fisici, metabolici e nervoso-ormonali atti al mantenimento di un continuo apporto di sangue al muscolo cardiaco. Nel caso *in vitro* le possibili grandezze fluidodinamiche responsabili dell'aumento del flusso coronarico sono fondamentalmente la differenza di pressione ( $\Delta P$ ) tra aorta e atrio destro e la portata cardiaca. Nel setup sperimentale la pressione in atrio destro è quella atmosferica quindi si può eguagliare il  $\Delta P$  alla pressione aortica, la quale rappresenta la forza motrice della portata coronarica; ci si aspetta pertanto che all'aumentare della pressione aortica aumenti anche la portata nelle coronarie. In condizioni fisiologiche è noto che la portata coronarica sia il 5% della gittata cardiaca, per cui ad un incremento della portata cardiaca corrisponde, ragionevolmente, un incremento di quella in ingresso nei rami coronarici.

Attraverso una campagna sperimentale su 6 cuori porcini si misura pertanto la velocità di flusso coronarico con il sistema ecoDoppler al variare, alternativamente, della pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica e dello stroke volume sistolico, parametri idrodinamici utilizzati nel banco prova per regolare rispettivamente la pressione aortica e la portata cardiaca.

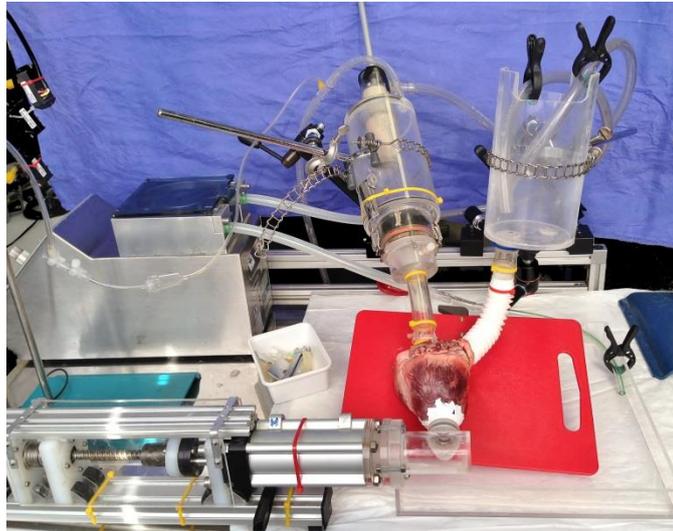
Nei successivi paragrafi si descrivono il protocollo di ottenimento dei campioni, le grandezze fluidodinamiche di controllo e di valutazione considerate nelle prove nonché i protocolli di prova e di analisi dei dati.

#### 3.3.1 Protocollo di ottenimento dei campioni

I cuori porcini prelevati dal macello vengono lavati e messi, per circa 2 ore, in un bagno di soluzione fisiologica ed eparina al fine di eliminare eventuali coaguli intrappolati dentro le cavità cardiache. Per poter montare il cuore intero nel banco prova si procede all'isolamento dell'aorta attraverso la rimozione dei depositi adiposi a livello della radice aortica. Si conducono quindi una serie di trattamenti sul cuore al fine di consentire

l'inserimento degli opportuni connettori in prossimità dell'aorta, dell'atrio sinistro e dell'apice del ventricolo sinistro. [1]

Si procede con il lavaggio delle coronarie da ulteriori coaguli interni con l'iniezione di acqua demineralizzata con siringa da 5 mL introdotta dall'aorta e posizionata dell'ostio coronarico sinistro.



**Figura 3.15** Cuore porcino montato sul banco prova.

Il cuore viene appoggiato su un apposito pianale e collegato al resto del circuito idraulico: il connettore apicale viene inserito nel collettore, il connettore atriale connesso alla riserva di precarico, il connettore aortico collegato al simulatore di impedenza sistemica attraverso un condotto dal diametro di 1 pollice. (Figura 3.15)

### 3.3.2 Protocollo di prova

Montato il cuore, si procede al riempimento del banco prova utilizzando la pompa peristaltica connessa al reservoir di precarico atriale; al fine di agevolare il riempimento delle camere cardiache ed eliminare le bolle d'aria presenti al loro interno si massaggia delicatamente il cuore.

Si aziona dunque il sistema pompante pulsatile, la cui frequenza viene inizialmente impostata a 30 bpm e gradualmente incrementata fino a 70 bpm. Si mantiene la frequenza di 70 bpm per 10 minuti per consentire la completa eliminazione di coaguli intrappolati nell'albero coronarico e si aggiunge la soluzione particolata.

Il protocollo sperimentale consiste in **2 prove sperimentali** al variare di un parametro:

- A. la pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica** ( $p_{\text{sis}}$ ). Mantenuti costanti la frequenza a 70 bpm e lo stroke volume a 70ml, si considerano, nell'ordine, tre condizioni di prova:
1. stato *ipoteso*  $\rightarrow p_{\text{sis}} = 40\text{-}80$  mmHg;
  2. stato *normoteso*  $\rightarrow p_{\text{sis}} = 80\text{-}120$  mmHg;
  3. stato *iperteso*  $\rightarrow p_{\text{sis}} = 120\text{-}160$  mmHg.
- B. lo Stroke Volume (SV)**. Mantenuti costanti la frequenza a 70 rpm e la pressione sistemica in stato normoteso, si considerano le condizioni:
4.  $SV = 70\% = 50$  ml;
  5.  $SV = 100\% = 70$  ml;
  6.  $SV = 130\% = 90$  ml.

I valori percentuali associati alla grandezza SV sono riferiti al valore nominale di progetto della pompa pulsatile, pari a 70 mL.

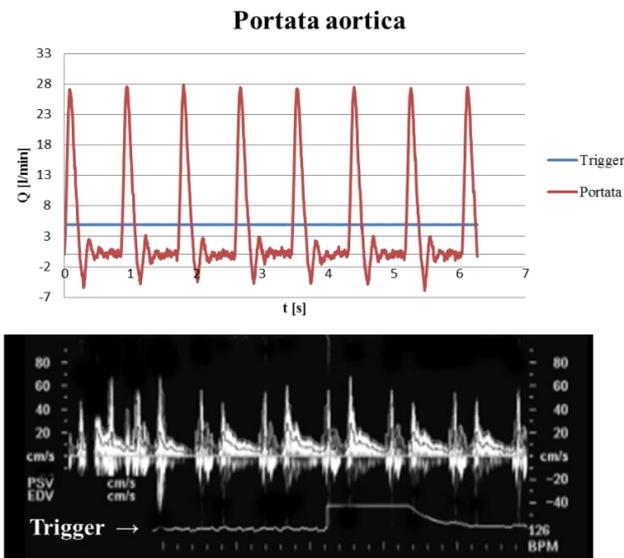
I valori di stroke volume sistolici ( $SV_s$ ) calcolati dall'elaborazione dei dati idrodinamici saranno, come si vedrà nei risultati sperimentali, inferiori a quelli indicati. La presenza di un elemento compliant, quale la camera ventricolare, a valle del sistema pompante, infatti, fa sì che le forme d'onda ed i valori medi delle portate fluenti nel circuito non rispettino quelle imposte dal pompa pulsatile.

Per ogni condizione di prova si acquisiscono le misure di pressione e portata nei siti indicati nel Paragrafo 2.1.4 del Capitolo 2 e, contemporaneamente, si registrano le misure PW-Doppler.

### 3.3.3 Interpretazione dei tracciati Doppler

Il sistema di sincronizzazione dei dati idrodinamici di portata e di pressione con i segnali Doppler ha permesso di individuare alcune peculiarità della dinamica del flusso.

La Figura 3.16 permette di dimostrare che l'inizio della sistole, corrispondente al gradino di tensione di +5 Volt riportato nel tracciato della portata aortica, per  $t=0$ , coincide con il primo picco di velocità di flusso misurato con il Doppler. Il secondo picco di velocità corrisponde all'inizio della fase diastolica.

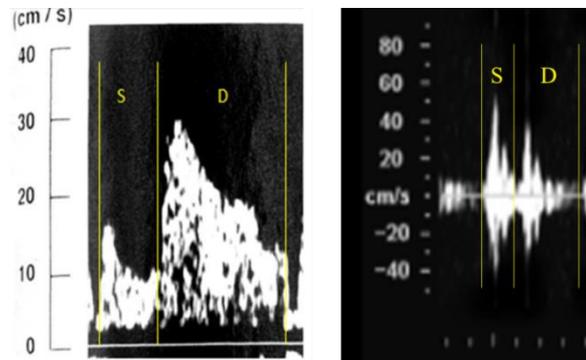


**Figura 3.16** In alto - Andamento della portata aortica registrato sperimentalmente; il gradino di tensione di +5 Volt indica l'inizio della registrazione dati. In basso – Tracciato di velocità di flusso coronarico misurato con il Doppler; la freccia rappresenta il trigger inviato dalla centralina.

Il flusso coronarico, misurato sperimentalmente, ha quindi un andamento bifasico, caratterizzato da una componente sistolica e una diastolica, in cui il primo picco corrisponde alla sistole e il successivo, di durata maggiore, alla diastole. L'andamento è coerente con quello misurato *in vivo* ma presenta delle differenze che meritano di essere studiate in dettaglio.

### 3.3.3.1 Portata in fase di sistole

In fase di sistole la portata coronarica misurata sperimentalmente ha un'ampiezza più ampia di quella riportata in letteratura clinica e talvolta il picco di sistole ha un'ampiezza paragonabile a quello diastolico. (Figura 3.17)



**Figura 3.17** A sinistra – Esame TTDE in vivo sull'IVA distale [5]. A destra – Tracciato di velocità Doppler ottenuto in vitro sull'IVA prossimale. S=Sistole; D=Diastole.

Questo comportamento è ragionevolmente dovuto al fatto che il cuore, nel banco prova, viene azionato passivamente. In sistole, infatti, il moto anterogrado del pistone della pompa pulsatile, causa una dilatazione della camera ventricolare, e questa non impedisce la perfusione del tessuto cardiaco, contrariamente a quanto avviene nel caso fisiologico. *In vivo* infatti è la contrazione ventricolare, nella fase iniziale di sistole, a causare un aumento delle resistenze dei vasi endocardici ed a limitare l'afflusso di portata.

La portata diastolica non presenta differenze significative nel caso *in vitro*.

### 3.3.3.2 Presenza di una componente negativa nel profilo di velocità coronarica

Gli andamenti registrati *in vitro* presentano una fondamentale peculiarità rispetto alle curve riportate in letteratura: una componente di velocità positiva e una negativa, di ampiezza variabili. (Figura 3.17)

Questo effetto può essere ancora dovuto all'alterata fluidodinamica *in vitro* rispetto al caso fisiologico, di cui si individuano tre punti fondamentali:

- 1) Il tessuto che circonda il vaso coronarico, non essendo tonico, permette alle pareti del condotto ematico di muoversi, con dinamiche non facilmente identificabili. Il ritorno elastico del vaso determina un "effetto pompa" sul volume di fluido al suo interno per cui, simultaneamente, alcune particelle eco-riflettenti avanzano e altre si muovono in direzione opposta. A conferma di ciò, in modalità Color Doppler, si osserva un'alternanza caotica di colore rosso<sup>1</sup> e blu<sup>2</sup>.
- 2) Il moto all'interno dell'IVA si presta a riflessioni fluidodinamiche più teoriche. Il profilo di velocità all'interno del vaso coronarico, che nasce subito a valle della valvola aortica, è fortemente condizionato dal regime di moto pulsatile e si sviluppa pertanto secondo il profilo di Womersley. (Figura 3.18)

Il *numero di Womersley*, valore adimensionale che mette in rapporto le forze transienti con quelle viscosive, calcolato secondo la formula:

$$Wo = R \sqrt{\frac{2\pi f \rho}{\mu}} \quad (2)$$

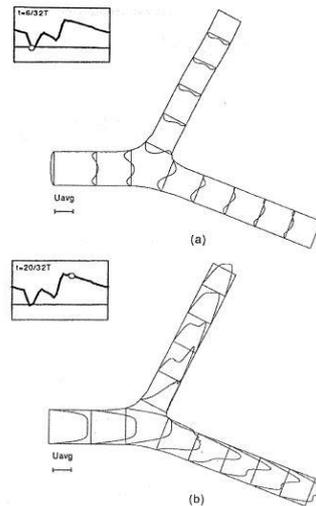
in cui R rappresenta il raggio del vaso coronarico, f la frequenza, ρ e μ rispettivamente la densità e viscosità dell'acqua, risulta essere nel nostro caso

<sup>1</sup> Il colore rosso indica, per convenzione, il moto delle particelle scatteranti in allontanamento dalla sonda, per cui velocità positiva;

<sup>2</sup> Il colore blu indica moto delle particelle riflettenti in avvicinamento alla sonda ossia velocità negativa.

$Wo \approx 8$ . Il risultato dimostra la prevalenza delle forze transienti e un'influenza significativa della pulsatilità del moto sul profilo di velocità.

Sia in fase di sistole sia nella fase iniziale di diastole sono presenti delle componenti di velocità negative, governate fondamentalmente dalla forma d'onda della portata in ingresso nel circolo coronarico che continuamente accelera e decelera. (Figura 3.18)



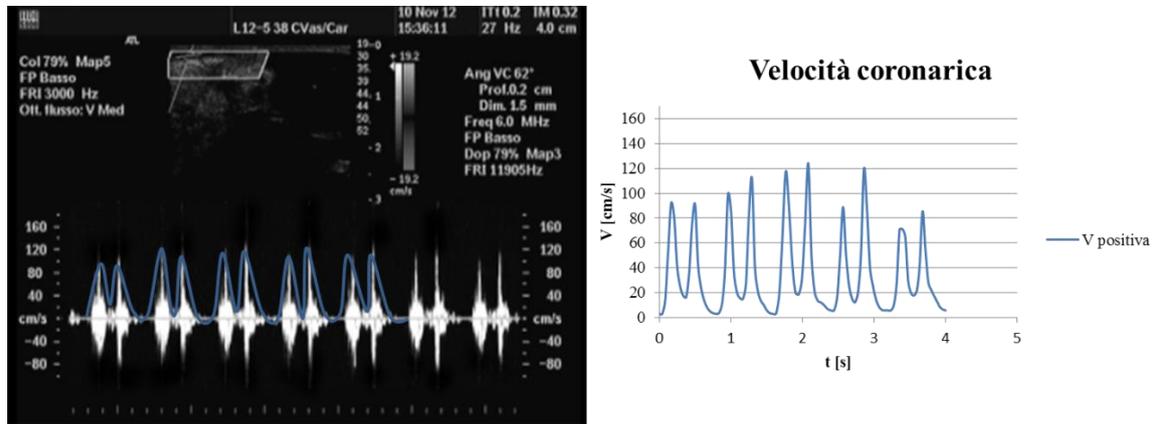
**Figura 3.18** Profilo di velocità assiale nella biforcazione dell'IVA, in LAD e LCx, all'inizio della sistole (a) e della diastole (b) ottenuto da studio computazionale. [50]

- 3) La misura di velocità in PW-Doppler avviene a circa 1,5 cm dall'ostio coronarico, per cui è probabile che come responsabile di una propagazione anomala dell'onda lungo il canale vi sia un ulteriore effetto di imbocco.

Alla luce di queste considerazioni, come base per la valutazione delle alterazioni degli indici di perfusione coronarica a seguito della variazione dei parametri emodinamici, si assume la componente positiva, attribuendo alla componente negativa un ruolo di alterazione fluidodinamica dovuta alle condizioni sperimentali del banco prova. Escludendo la componente negativa di velocità si trae il vantaggio di elaborare un profilo di velocità più confrontabile con quello ottenuto nel caso fisiologico *in vivo* e condurre delle valutazioni quantitative attraverso indici emodinamici tipici della letteratura clinica [7]. Di contro si rinuncia alla possibilità di fornire un dato che sia di utilizzabile per valutare la reale portata coronarica *in vitro*.

### 3.3.4 Procedure di elaborazione dei dati sperimentali

Dal segnale di velocità Doppler si ricava l'involuppo manuale della curva di velocità positiva (Figura 3.19), con il software Matlab, precedentemente utilizzato per l'analisi dei segnali Doppler della prova preliminare.



**Figura 3.19** A sinistra – Segnale di velocità ecoDoppler. A destra – Profilo di velocità coronarica post-processing.

#### 3.3.4.1 Grandezze di valutazione

Dal profilo di velocità coronarica Doppler (Figura 3.19) si ricavano alcuni parametri per la valutazione della perfusione coronarica:

- le **velocità medie in fase di sistole (MSV) e di diastole (MDV)**, espresse in cm/s;
- l'**integrale della velocità coronarica** (dall'acronimo inglese Velocity-Time Integral VTI) **nell'intero ciclo cardiaco**, espresso in cm, secondo la seguente formula:

$$VTI = \int_0^T v(t)dt.$$

Il parametro VTI viene utilizzato in clinica per ottenere, dall'esame ecoDoppler, una stima della portata fluente, note la sezione del vaso ematico testato e la frequenza cardiaca.

Tutti i parametri vengono calcolati, per ogni test, a partire dal tracciato di velocità Doppler come media e deviazione standard su 5 cicli consecutivi.

### 3.3.5 Analisi statistica

Sui parametri di valutazione di perfusione coronarica si effettua il test di Kolgorov-Smirnov per verificare la normalità della distribuzione. I dati vengono indicati come

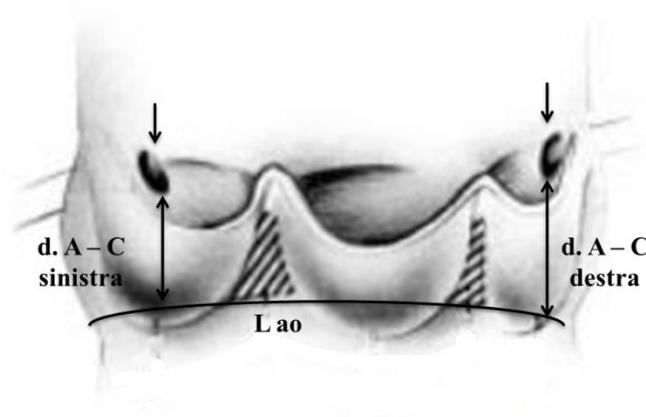
media±deviazione standard sui 5 cuori quando risultano distribuiti normalmente, in caso di non normalità vengono presentati come mediana e quartili.

Per verificare se esista o meno una differenza statisticamente significativa a seguito del cambiamento dei parametri di controllo (significativo per  $p < 0.05$ ) si effettua, sui valori che hanno superato il test di normalità, il test t di Student accoppiato a due code.

### 3.3.6 Risultati

Si considerano separatamente i risultati relativi alla prova sperimentale A e B, come descritte in 3.3.2, per entrambi si riportano le grandezze di controllo (pressione in ingresso al simulatore di impedenza sistemica media in sistole e in diastole e stroke volume) e quelle di valutazione della perfusione coronarica. Per ogni grandezza si riporta una tabella riassuntiva con i valori medi e deviazione standard, per le grandezze di valutazione si presentano inoltre gli andamenti per tutti i campioni.

Si riportano in Tabella 3.5 i dati anatomici relativi ai 6 campioni testati, misurati a fine test, relativi al peso del cuore, alla lunghezza dell'annulus aortico ( $L_{ao}$ ) da cui si ricava il diametro della valvola ( $D_{ao}$ ) e, infine, all'altezza dell'ostio coronarico sinistro e destro (indicati in Figura 3.20 con le frecce nere) dall'annulus aortico.



**Figura 3.20** Misure anatomiche condotte a fine test. Le frecce indicano gli osti coronarici;  $L_{ao}$  la lunghezza dell'annulus aortico;  $d. A - C$  le distanze dall'annulus aortico dell'ostio coronarico, rispettivamente, sinistro e destro.[10]

Tali misure consentono di effettuare ragionamenti sui risultati sperimentali, a fine test, attribuibili alla natura anatomica di ciascun campione.

campione	peso [g]	D ao [mm]	d. A - C	
			sinistra [mm]	destra [mm]
1	625	27,2	8,3	11,7
2	617	22,2	5,7	9,6
3	547	25,5	7,5	10,4
4	542	23,7	5,5	8,2
5	634	24,1	4,3	7,7

**Tabella 3.5** Dati anatomici dei 5 campioni testati. D ao = diametro valvola aortica; d. A - I = distanza Annulus aortico dal margine Inferiore dell'ostio coronarico (sinistro e destro); d. A - C = distanza Annulus aortico dal Centro dell'ostio coronarico (sinistro e destro).

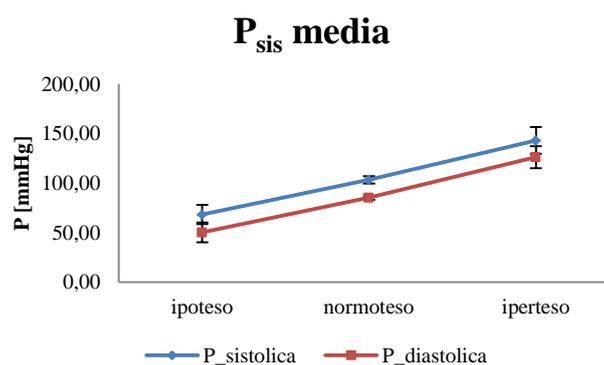
### 3.3.7 Prova sperimentale A: influenza della pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica sulla portata coronarica

In Tabella 3.6 si riportano le **grandezze di controllo** della prova.

Grandezza di controllo	ipoteso	normoteso	iperteso
$P_{\text{sis}}$ media sistolica [mmHg]	$68,2 \pm 9,7$	$103,3 \pm 3,7$	$142,9 \pm 13,6$
$P_{\text{sis}}$ media diastolica [mmHg]	$50,1 \pm 9,9$	$85,2 \pm 2,2$	$126,1 \pm 11,1$
$SV_s$ [ml]	$61,6 \pm 6,2$	$53,6 \pm 5,6$	$45,6 \pm 8,5$

**Tabella 3.6** Grandezze di controllo delle 3 condizioni di prova. I valori sono espressi come  $\text{media} \pm \text{dev.st}$  sui 5 campioni testati.

Nelle tre condizioni di prova, denominate stato ipoteso, stato normoteso e stato iperteso, aumentano progressivamente i valori di pressione in ingresso al simulatore di impedenza sistemica sistolica e diastolica (**Figura 3.21**) mentre diminuiscono gradualmente i valori di stroke volume sistolico.



**Figura 3.21** Variazioni della pressione in ingresso al simulatore di impedenza sistemica per le tre condizioni considerate.

La riduzione dello stroke volume sistolico all'aumentare della pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica può essere attribuita a due fattori: l'alterazione della

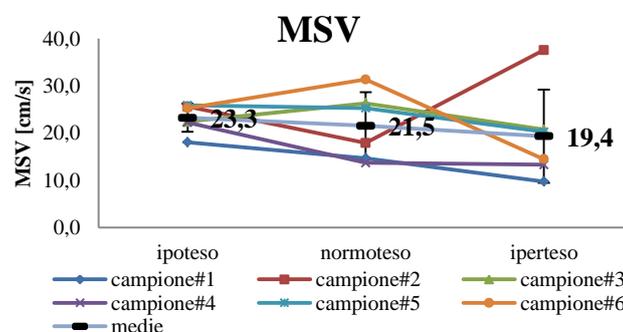
fluidodinamica della valvola mitrale e il protocollo di prova. L'aumento della  $P_{sis}$  può causare un incremento del retroflusso di portata a cavallo della valvola mitrale, il quale si riflette sulla diminuzione del volume eiettato in sistole dalla valvola aortica. Il secondo fattore, relativo al protocollo di prova consiste nel fatto che ciascun campione, testato a partire dalla condizione ipotensiva per arrivare a quella ipertensiva, subisce durante l'esperimento un aumento della compliance ventricolare a causa dei tempi prolungati nel banco prova, con una conseguente diminuzione della gittata cardiaca effettiva.

In Tabella 3.7 si riportano i valori medi e i risultati dell'analisi statistica relativi al **parametro di valutazione** della perfusione coronarica. Si nota come la velocità media in fase di sistole MSV presenti valori maggiori di quella media in fase di diastole MDV.

Grandezze di valutazione perfusione coronarica				Risultato del test t di Student a due code: differenza significativa per $p < 0,05$		
	Ipoteso	Normoteso	Iperteso	<i>ipo vs normo</i>	<i>ipo vs iper</i>	<i>normo vs iper</i>
MSV [cm/s]	23,3±3,0	21,5±7,1	19,4±9,9	ns	ns	ns
MDV [cm/s]	18,8±3,6	17,7±5,9	15,6±6,8	ns	ns	ns
VTI [cm]	15,3±2,3	14,4±4,4	12,7±5,9	ns	ns	ns

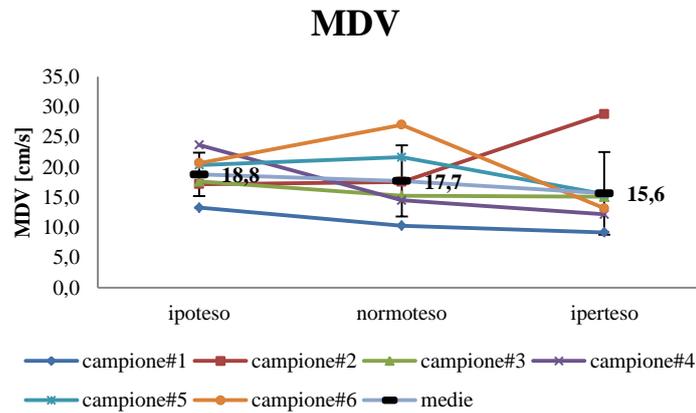
**Tabella 3.7** Media±dev.st del parametro VTI per i 6 campioni testati nelle 3 condizioni di prova al variare della pressione sistemica. ns=non significativo.

I valori della velocità media sistolica MSV per ciascun campione vengono riportati nella Figura 3.22 per le configurazioni in stato ipoteso, normoteso e iperteso. Benché si noti un andamento decrescente della velocità media sistolica passando dalle condizioni di prova in stato ipoteso, normoteso e iperteso, le differenze sperimentali non hanno confermato la significatività statistica ( $p\text{-value} < 0,05$ ).



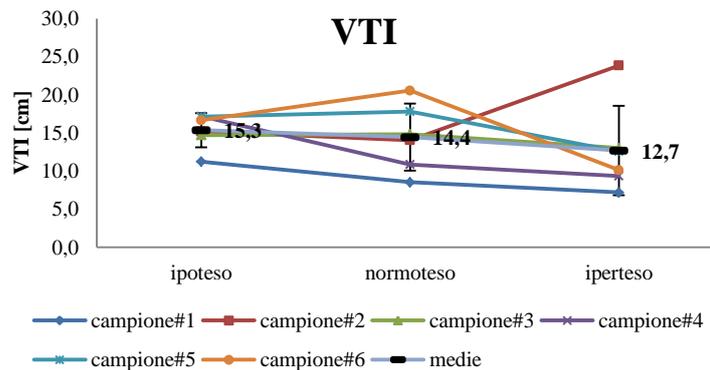
**Figura 3.22** MSV [cm/s] per ciascun campione nelle condizioni di prova in stato ipoteso, normoteso e iperteso. La linea celeste, in cui si riportano i valori indicatori e dev.st, rappresenta l'andamento medio calcolato tra tutti i campioni per ciascuna condizione di prova.

Si riportano nella Figura 3.23 i valori della velocità media diastolica MDV per ciascun campione per le tre diverse condizioni di prova. Si nota come i valori di velocità media diastolica decrescano gradualmente al passare dalle condizioni di prova in stato ipoteso, normoteso e iperteso. Il test T di Student a due code non ha confermato, come per il parametro MSV, alcuna significatività statistica tra i valori sperimentali.



**Figura 3.23** MDV [cm/s] per ciascun campione nelle condizioni di prova in stato ipoteso, normoteso e iperteso. La linea celeste, in cui si riportano i valori indicatori e dev.st, rappresenta l'andamento medio calcolato tra tutti i campioni per ciascuna condizione di prova.

Benché si identifichi un andamento decrescente dell'integrale velocità-tempo nell'intero ciclo cardiaco VTI all'aumentare della  $P_{sis}$ , le differenze sperimentali non risultano statisticamente significative ( $p > 0,005$ ). (Figura 3.24)



**Figura 3.24** VTI [cm] per ogni campione nelle condizioni di test ipoteso, normoteso e iperteso. La linea celeste, in cui si riportano i valori indicatori e dev.st, rappresenta l'andamento medio calcolato tra tutti i campioni per ciascuna condizione di prova.

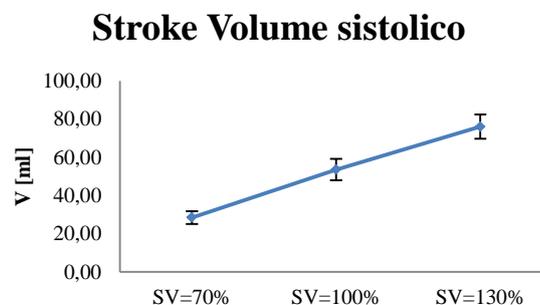
### 3.3.8 Prova sperimentale B: influenza dello stroke volume sistolico sulla portata coronarica

In Tabella 3.8 si riportano le **grandezze di controllo** della prova.

Grandezza di controllo	70% SV	100% SV	130% SV
$P_{\text{sis}}$ media sistolica [mmHg]	98,5 ± 10,7	103,3 ± 3,7	106,0 ± 6,8
$P_{\text{sis}}$ media diastolica [mmHg]	91,5 ± 5,5	85,2 ± 2,2	83,1 ± 7,3
$SV_s$ [ml]	28,5 ± 3,4	53,6 ± 5,6	76,0 ± 6,3

**Tabella 3.8** Grandezze di controllo delle 3 condizioni di prova. I valori sono espressi come  $\text{media} \pm \text{dev.st}$  sui 5 campioni testati.

Nelle tre condizioni di prova, denominate 70%SV, 100%SV e 130%SV aumenta il volume di fluido eiettato in sistole (Figura 3.25), mentre si mantengono pressoché costanti le  $P_{\text{sis}}$  medie sistolica e diastolica. Si ottengono sperimentalmente valori di stroke volume sistolico effettivi inferiori a quelli imposti dalla pompa pulsatile.



**Figura 3.25** Variazioni dello stroke volume per le tre condizioni considerate.

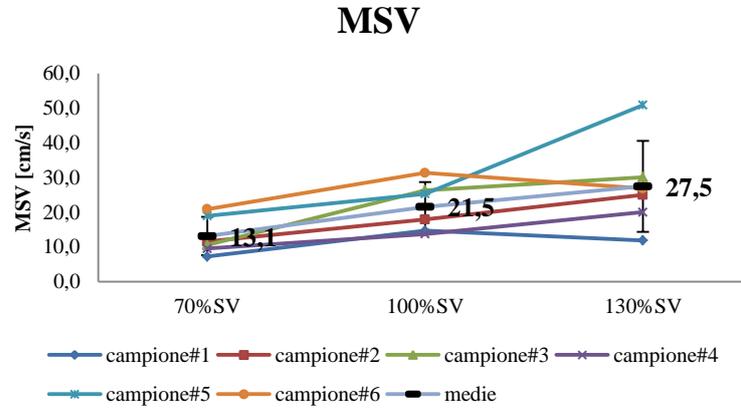
In Tabella 3.9 si riportano i valori medi dei **parametri di valutazione** della perfusione coronarica e i risultati dell'analisi statistica. Dai valori medi si nota che la velocità media in fase di sistole MSV risulta maggiore di quella calcolata in fase di diastole MDV.

	Grandezze di valutazione perfusione coronarica			Risultato del test t di Student a due code: differenza significativa per $p < 0,05$		
	70% SV	100% SV	130% SV	70% vs 100%	70% vs 130%	100% vs 130%
	<b>MSV</b> [cm/s]	13,1±5,5	21,5±7,1	27,5±13,9	<b>p=0,004</b>	<b>p=0,018</b>
<b>MDV</b> [cm/s]	12,3±7,0	17,7±5,9	24,4±14,6	<b>p=0,015</b>	ns	ns
<b>VTI</b> [cm]	9,3±4,5	14,4±4,4	18,9±10,2	<b>p=0,005</b>	<b>p=0,038</b>	ns

**Tabella 3.9**  $\text{Media} \pm \text{dev.st}$  dei parametri di valutazione della perfusione coronarica per i 6 campioni testati nelle 3 condizioni di prova al variare dello stroke volume. ns=non significativo.

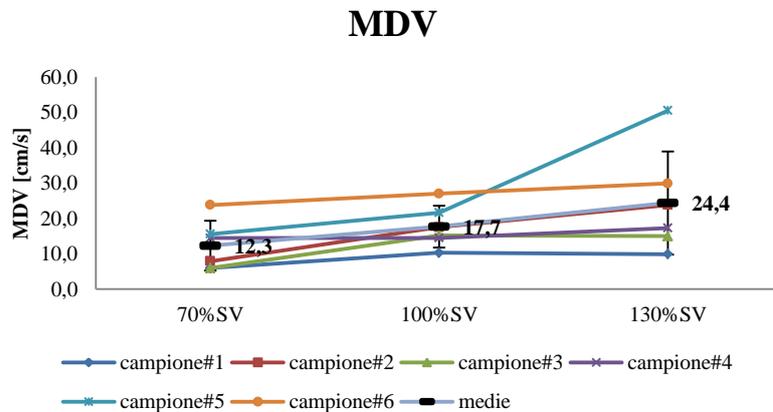
Il parametro di valutazione di velocità media sistolica MSV viene riportato per ciascun campione nelle condizioni di prova 70%SV, 100%SV e 130%SV. (Figura 3.26)

È possibile notare come la velocità coronarica media in sistole aumenti significativamente passando dalla condizione al 70% a quella al 100% di stroke volume ( $p < 0,05$ ) e dalla condizione al 70% a quella al 130% di stroke volume. (Tabella 3.9)



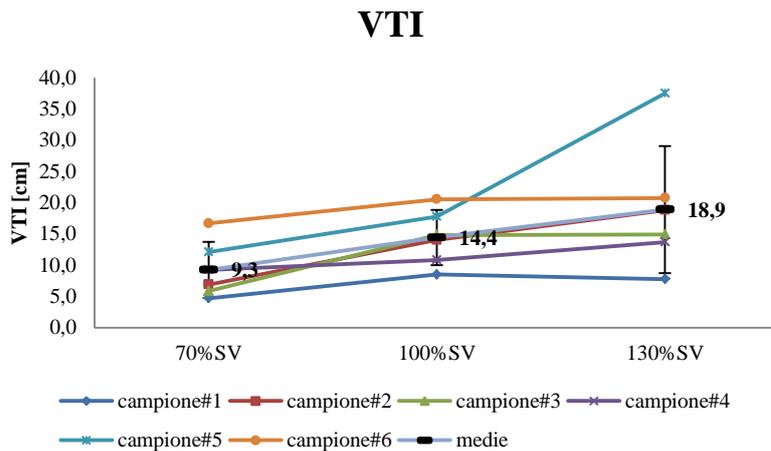
**Figura 3.26** MSV [cm/s] per ciascun campione nelle condizioni di prova 70%SV, 100%SV e 130%SV. La linea celeste, in cui si riportano i valori indicatori e dev.st, rappresenta l'andamento medio calcolato tra tutti i campioni per ciascuna condizione di prova. SV: Stroke Volume.

Nella Figura 3.26 si riportano i valori di velocità media in fase di diastole MDV per i 6 campioni nelle condizioni di prova 70%SV, 100%SV e 130%SV. Il grafico permette di notare che la velocità coronarica media in fase di diastole aumenta significativamente ( $p < 0,05$ ) passando dalla condizione di 70% a quella di 100% di stroke volume. L'andamento della velocità media diastolica sembra crescere gradualmente all'aumentare dello stroke volume nonostante le restanti prove non abbiano mostrato differenza significativa.



**Figura 3.27** MDV [cm/s] per ciascun campione nelle condizioni di prova 70%SV, 100%SV e 130%SV. La linea celeste, in cui si riportano i valori indicatori e dev.st, rappresenta l'andamento medio calcolato tra tutti i campioni per ciascuna condizione di prova. SV: Stroke Volume.

Nella Figura 3.28 si riportano gli andamenti dell'integrale velocità-tempo VTI per tutti i 6 campioni nelle condizioni di prova 70%SV, 100%SV e 130%SV. Il valore di VTI aumenta significativamente passando dalla condizione al 70% a quella al 100% di stroke volume ( $p < 0,05$ ) e dalla condizione al 70% a quella al 130% di stroke volume.



**Figura 3.28** VTI [cm] per ogni campione nelle condizioni di test al variare dello SV. per ciascun campione nelle condizioni di prova 70%SV, 100%SV e 130%SV. La linea celeste, in cui si riportano i valori indicatori e dev.st, rappresenta l'andamento medio calcolato tra tutti i campioni per ciascuna condizione di prova. SV: Stroke Volume.

### 3.3.9 Commenti

La campagna sperimentale ha permesso di verificare le potenzialità dello strumento Doppler per la valutazione del flusso coronarico *in vitro*. Attraverso le due prove sperimentali si è potuto osservare che la pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica e lo stroke volume sistolico hanno degli effetti diversi sulla perfusione coronarica misurata *in vitro*.

La prova sperimentale A ha mostrato che la pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica non ha effetti significativi sulla perfusione coronarica. Questo risultato sperimentale, contrario rispetto a quanto atteso, sembra coerente con la complessità del sistema coronarico *in vitro*. Se da un lato, infatti, l'aumento della pressione "sistemica"<sup>3</sup>, forza motrice della portata coronarica, comporta il conseguente aumento del flusso coronarico, dall'altro lato l'incremento della pressione "sistemica" si riflette direttamente sulla pressione sistolica ventricolare. Data l'alterata pulsatilità cardiaca nel setup a disposizione *in vitro*, tale effetto sulla pressione ventricolare determina una

<sup>3</sup> La pressione all'ingresso del simulatore d'impedenza sistemica viene indicata impropriamente con pressione "sistemica".

dilatazione della camera ventricolare ed un incremento delle resistenze dei vasi coronarici endocardici, ostacolando pertanto l'aumento di portata coronarica. L'effetto complessivo dell'aumento della pressione "sistemica" sul flusso coronarico è quindi sostanzialmente costante.

La perfusione coronarica si è dimostrata essere influenzata dalla gittata cardiaca. Tale risultato sperimentale è stato confermato statisticamente per tutti i parametri di interesse. L'aumento di stroke volume determina un aumento della portata eiettata in sistole e, conseguentemente, della portata coronarica.

Un risultato sperimentale comune si è riscontrato per entrambe le prove sperimentali A e B: nel setup a disposizione *in vitro* la velocità media sistolica riporta un valore maggiore di quella diastolica. In assenza di contrazione del ventricolo sinistro la portata coronarica segue l'andamento della sola pressione aortica, giustificando l'ampiezza maggiore della componente sistolica rispetto a quella diastolica.

### 3.4 Utilizzo del sistema di misura ecoDoppler per la valutazione dell'effetto dell'impianto di Core Valve sulla perfusione coronarica.

La messa a punto del sistema di misura ecoDoppler *in vitro* in condizioni fisiologiche permette di valutare le variazioni della portata coronarica nel caso di impianto di protesi valvolare.

Uno dei rischi correlati all'impianto transcateretere di valvola aortica (TAVI) è, come discusso nel Capitolo 1, l'ostruzione coronarica dovuta ad un mal posizionamento del device, sia nella valvola stenotica nativa sia in una protesi biologica degenerata (impianto cosiddetto valve-in-valve). Benché per ogni dispositivo per TAVI in commercio vengano fornite le direttive sul suo corretto impianto, non è tuttora ben noto l'effetto dell'altezza di posizionamento del device all'interno della radice aortica sulla perfusione coronarica e sulla fluidodinamica cardiaca.

L'obiettivo dello studio condotto è identificare una relazione tra l'altezza di posizionamento della TAVI, con un sistema che permette di controllare il livello di impianto del device, e le grandezze emodinamiche, con particolare attenzione alla perfusione coronarica.

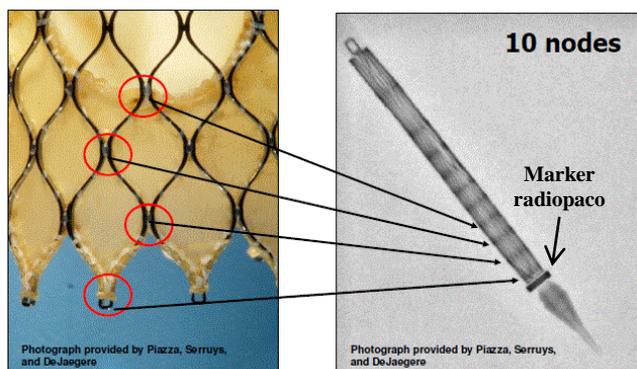
Per la prova si considerano 3 diversi livelli di posizionamento di una CoreValve (Medtronic Inc; Minnesota, MN) da 26 mm nella procedura valve-in-valve (tecnica descritta nel Capitolo 1) di una valvola biologica Hancock II (Medtronic Inc.) da 21 mm. Per ciascuna condizione di prova si valutano un indice della perfusione coronarica (l'integrale velocità-tempo VTI), un parametro fluidodinamico caratteristico della stenosi aortica ( $\Delta P$  transvalvolare medio in sistole) e, infine, un indice della insufficienza aortica (il retroflusso statico percentuale).

Il setup sperimentale, la strumentazione di misura e il protocollo di elaborazione dei tracciati ecoDoppler sono gli stessi utilizzati nella campagna di messa a punto descritta nel Paragrafo 3.3; si descrivono di seguito il sistema di riconoscimento delle altezze di impianto della CoreValve e le protesi valvolari utilizzate per la prova sperimentale. Si espongono inoltre il protocollo di prova, le grandezze fluidodinamiche di controllo e valutazione e i risultati ottenuti.

### 3.4.1 Posizionamento della CoreValve

Dallo studio delle direttive Medtronic e degli studi clinici relativi all'analisi degli effetti post-procedurali TAVI viene individuata l'altezza di posizionamento ottimale per l'impianto di una CoreValve in modalità valve-in-valve (VIV) e, di conseguenza, si identificano quelli che in pratica clinica vengono definiti "mal posizionamenti". Per comprendere come è stato ottenuto il sistema di impianto controllato della CoreValve è necessario fare un breve accenno al suo design.

La CoreValve è costituita da uno stent in Nitinolo in cui si riconoscono delle figure ripetitive dette *maglie*, i cui *nodi* sono rivestiti da una guaina radiopaca che ne permettono la localizzazione in fluoroscopia e permettono il corretto posizionamento del device. (Figura 3.29)

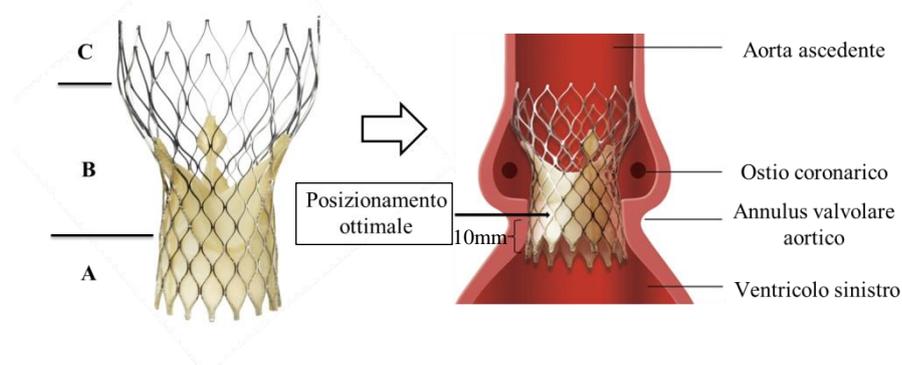


**Figura 3.29** A sinistra: la CoreValve in conformazione espansa in cui si riconoscono i nodi. A destra la CoreValve in conformazione crimpata per il riconoscimento radiopaco.

Medtronic prescrive che, per un impianto ideale, la valvola dev'essere posizionata in modo tale che il secondo nodo, a partire dal marker radiopaco prossimale, indicato nella Figura 3.29, si trovi in corrispondenza del piano valvolare aortico. (Figura 3.30)

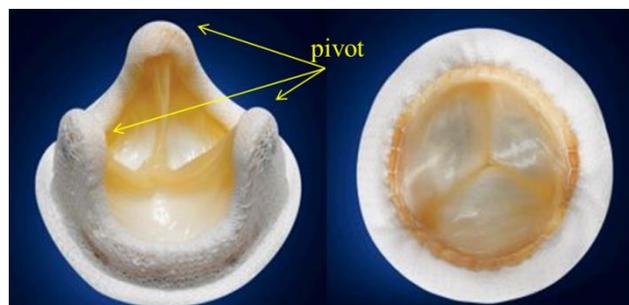
Noto che, quando la valvola è crimpata (a destra in Figura 3.29), la distanza tra ogni nodo è pari a circa 5 mm, si deduce che, per un impianto **ottimale**, la maglia metallica deve penetrare all'interno del ventricolo sinistro di **10 mm** rispetto al piano valvolare aortico. Tale altezza permette di non ostacolare l'afflusso di sangue agli osti coronarici e garantire che essi non vengano occlusi durante l'apertura dei foglietti aortici in fase di sistole.

Grazie agli studi relativi agli effetti post impianto TAVI e grazie al consulto con i medici chirurghi che effettuano di consueto l'impianto, nel test sperimentale si considera **basso** un impianto in cui la valvola penetra di **5 mm** sotto il piano valvolare aortico, **alto** se penetra di **15 mm**.



**Figura 3.30** Valvola CoreValve per impianto TAVI. A sinistra sono riportate le zone caratteristiche del dispositivo: A. zona di afflusso; B. zona intermedia; C. zona di efflusso. A destra la CoreValve all'interno della radice aortica. Si riconoscono le porzioni anatomiche di interesse e il punto di posizionamento ottimale prescritto da Medtronic Inc.

Per riuscire a controllare l'altezza di impianto si sfrutta il riferimento geometrico, offerto dalla valvola biologica Hancock II. (Figura 3.30)



**Figura 3.31** valvola biologica Hancock II. A sinistra la freccia gialla indica i 3 pivot della valvola. A destra la valvola vista dal basso mostra il piano valvolare aortico.

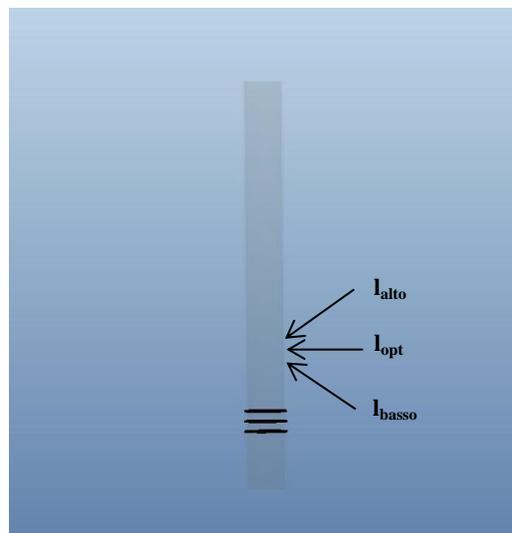
La bioprotesi (Figura 3.31), suturata chirurgicamente, permette di riconoscere univocamente il piano valvolare aortico e fornisce un punto di riferimento per l'inserimento, all'interno dell'aorta, di uno strumento, che chiameremo sizer, che permetta di posizionare la CoreValve in modo ripetibile e ad altezze ben controllate.

I parametri di progetto del sizer sono i seguenti:

1. Deve poter essere inserito in aorta ma non penetrare all'interno della valvola biologica perciò avrà un diametro  $D$  tale che:  $d_{biol} < D < d_{aorta}$

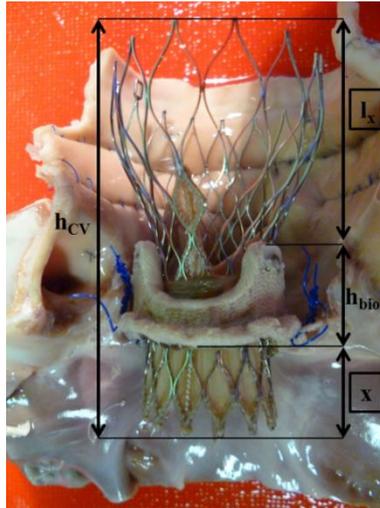
2. Deve permettere di riconoscere dall'esterno della parete aortica i livelli di posizionamento della CV.
3. Deve essere maneggevole;
4. Non deve causare danneggiamento alle strutture biologiche.

Per assolvere la specifica al punto 2 è stato utilizzato un tubo cavo cilindrico di lunghezza 20 cm (in modo da poter essere manovrato dall'alto con facilità), diametro esterno di 20 mm e spessore 2 mm, che permette l'inserimento di un fibroscopio. Tale strumento, realizzato in polimetilmetacrilato (PMMA), è munito di fascette adesive nere distanziate di 5 mm (Figura 3.32).



**Figura 3.32** Sizer utilizzato per controllare l'altezza di posizionamento della CV.

Il sizer, inserito all'interno dell'aorta e poggiato stabilmente sopra i 3 pivot della Hancock II, viene illuminato dall'alto attraverso l'inserimento di un fibroscopio. Le fascette opache, che corrispondono all'altezza del margine superiore dello stent metallico, possono essere individuate dall'esterno della parete aortica e consentono al chirurgo di applicare un punto di sutura trans-parete sull'aorta in prossimità dei 3 livelli basso, ottimale e alto.



**Figura 3.33** Immagine di un impianto valve-in-valve per il riconoscimento delle misure da cui si ottengono i livelli di posizionamento della CoreValve.

Le fascette nere segnate sul sizer si trovano ad un'altezza  $l_x$ , ricavata secondo la formula (2) in funzione dall'altezza di penetrazione della CoreValve al di sotto del piano valvolare aortico:

$$(2) \quad l_x = h_{CV} - (h_{bio} + x)$$

in cui  $h_{CV}$  rappresenta l'altezza della CoreValve,  $h_{bio}$  l'altezza dei pivot della Hancock II. (Figura 3.33)

Per una CoreValve di misura 26 mm e una Hancock di 21 mm, come quelle utilizzate per la prova sperimentale, le tre altezze risultano:

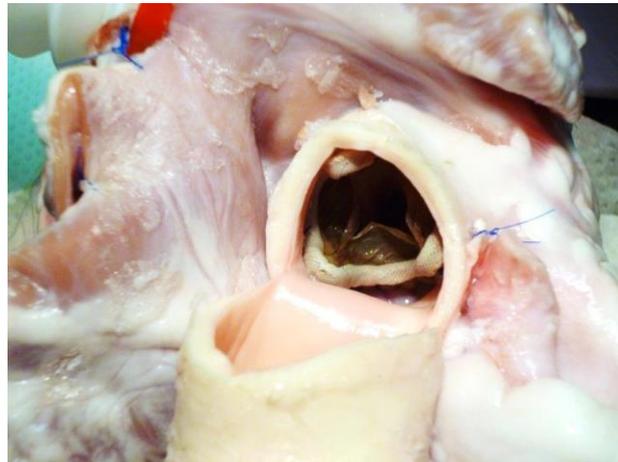
$$l_{basso} = 28 \text{ mm}; \quad l_{opt} = 33 \text{ mm}; \quad l_{alto} = 38 \text{ mm}.$$

### 3.4.2 Protocollo di prova

Per la prova si effettuano misure fluidodinamiche ed ecoDoppler in condizioni basali (senza alcuna valvola impiantata) e in caso di valve-in-valve alle altezze di posizionamento denominate **basso**, **opt** e **alto**.

La preparazione del cuore porcino per la prova in **condizioni basali** è la stessa dettagliata per la campagna di messa a punto della misura ecoDoppler. Una volta registrati i dati fluidodinamici, in condizioni di frequenza cardiaca 70 bpm e pressione in ingresso al simulatore di impedenza sistemica in stato normotensivo, si smonta il cuore dal banco

prova e si procede con l'impianto chirurgico della valvola biologica in aortotomia. (Figura 3.34)



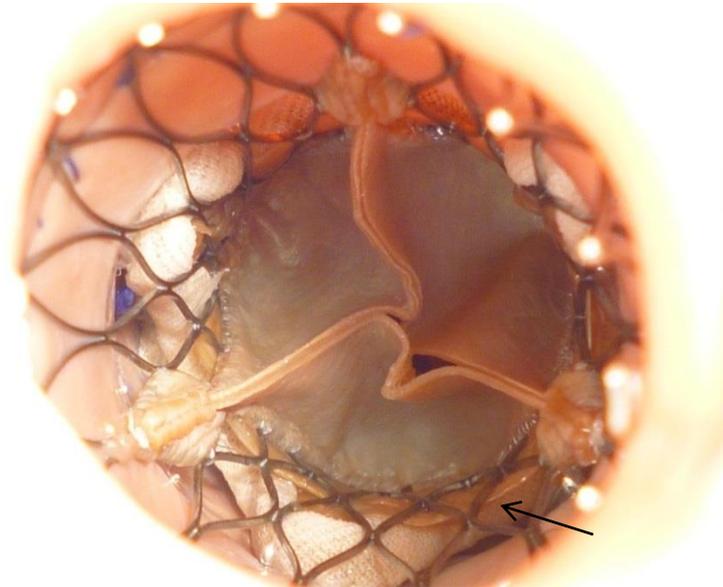
**Figura 3.34** Impianto della Hancock II vista dall'alto grazie all'aortotomia.

Utilizzando il sistema di delivery fornito dalla Medtronic, si posiziona la CoreValve all'interno della Hancock II, in modo che lo stent crimpato si trovi al di sotto del livello più basso. Si procede con l'espansione della CoreValve all'interno della radice aortica e si aggiusta con precisione il suo posizionamento, garantito stabilmente dall'applicazione di un punto di sutura passante tra la maglia più alta dello stent e la parete aortica. Questo permette di evitare eventuali dislocazioni della CoreValve in fase di test. Si rimonta il cuore sul banco prova e si procede con la registrazione, come nel caso basale.



**Figura 3.35** Cuore porcino pronto per l'inserimento della CV; la freccia indica i punti di sutura trasparente rappresentanti il margine superiore dello stent metallico nelle tre posizioni basso, opt e alto.

Per le ultime due prove si sconnette il connettore aortico dal simulatore d'impedenza sistemica per poter posizionare la CoreValve al livello successivo e fissarla con un punto di sutura per evitarne la dislocazione. (Figura 3.36)



**Figura 3.36** Impianto valve in valve visto dall'alto all'interno dell'aorta. Si nota come i foglietti in pericardio porcino della CV schiaccino completamente quelli della Hancock II, indicati con la freccia nera, di cui si intravedono solo i pivot.

#### 3.4.2.1 Grandezze fluidodinamiche di controllo

Per ogni test si considerano come parametri di controllo lo stroke volume sistolico ( $SV_s$ ) e la **pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica ( $P_{sis}$ ) media sistolica e diastolica** calcolati come media e deviazioni standard su 5 cicli consecutivi. Al termine del test si effettuano alcune misure: peso del cuore espresso in grammi, diametro della valvola aortica, altezza degli osti coronarici rispetto al piano valvolare aortico.

#### 3.4.2.2 Grandezze di valutazione

Per una stima della perfusione coronarica si considera l'**integrale della velocità coronarica nell'intero ciclo cardiaco VTI**, espresso in cm, calcolato come nella campagna sperimentale descritta nel Paragrafo 3.3 .

Per comprendere l'effetto dell'impianto sulla stenosi aortica si calcola inoltre la **caduta di pressione a cavallo della valvola aortica media in sistole**  $\Delta P_{\text{medio}}$ .

Per valutare l'insufficienza aortica creatasi a seguito dell'impianto della CoreValve si considera, per ogni prova, il **retroflusso statico** (3) espresso in valore percentuale:

$$(3) RF = \frac{|VR|}{SV_s} = \frac{\int_{\text{inizio diastole}}^{\text{fine diastole}} Q_{td} dt}{\int_{\text{inizio sistole}}^{\text{fine sistole}} Q_s dt};$$

in cui VR rappresenta il volume di rigurgito calcolato integrando la portata media in telediastole  $Q_{td}$  in tutta la durata della diastole, relazione validata in Vismara *et al.* [33].  $Q_s$  rappresenta la portata istantanea in sistole.

### 3.4.3 Risultati

In Tabella 3.10 si riportano le **grandezze fluidodinamiche di controllo** come media $\pm$ dev.st .

<b>Grandezza di controllo</b>	<b>basale</b>	<b>basso</b>	<b>opt</b>	<b>alto</b>
<b>P<sub>sis</sub> media sistolica</b> [mmHg]	101,3 $\pm$ 0,2	116,3 $\pm$ 0,4	112,8 $\pm$ 0,4	111,4 $\pm$ 0,4
<b>P<sub>sis</sub> media diastolica</b> [mmHg]	92,3 $\pm$ 0,2	98,5 $\pm$ 0,2	96,0 $\pm$ 0,2	95,8 $\pm$ 0,2
<b>SV<sub>s</sub></b> [ml]	68,4 $\pm$ 1,1	69,1 $\pm$ 3,9	63,7 $\pm$ 1,2	59,1 $\pm$ 0,7

**Tabella 3.10** Grandezze fluidodinamiche di controllo.

La pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica medie in sistole e in diastole nella condizione basale presentano un valore inferiore rispetto alle condizioni di prova cosiddette basso, opt e alto. Nelle ultime 3 condizioni di test la  $P_{\text{sis}}$  media, sia in sistole sia in diastole, si mantiene su valori pressoché costanti. Lo stroke volume sistolico diminuisce gradualmente, a parità di  $P_{\text{sis}}$  passando dalle condizioni di test basale, basso, opt e alto; ciò è dovuto probabilmente sia ad un aumento della compliance ventricolare subito dal campione per i tempi prolungati di test sia ad una possibile alterazione fluidodinamica della valvola mitrale.

Si riporta nella Figura 3.37 il valore del parametro VTI nelle diverse configurazioni di prova. I risultati sperimentali mostrano che il valore di VTI in condizione di impianto basso è in disaccordo rispetto ai valori di VTI nelle altre configurazioni, in cui la perfusione coronarica si può considerare sostanzialmente costante.

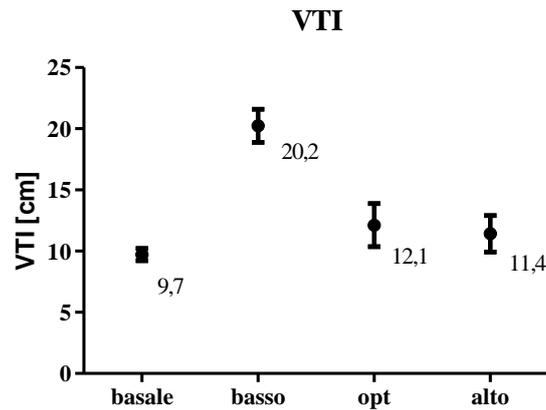


Figura 3.37 VTI [cm] in condizioni basali e nelle 3 diverse altezze di posizionamento della CV.

Si mostrano i profili ecoDoppler registrati per ciascuna configurazione di prova (Figura 3.38). Dal confronto tra i segnali ecoDoppler nelle diverse condizioni sperimentali si nota come nel caso di impianto basso (in alto a destra nella Figura 3.38) il flusso in ingresso nell’ostio coronarico sia disturbato dalla presenza di bolle e/o agglomerati di Orgasol.

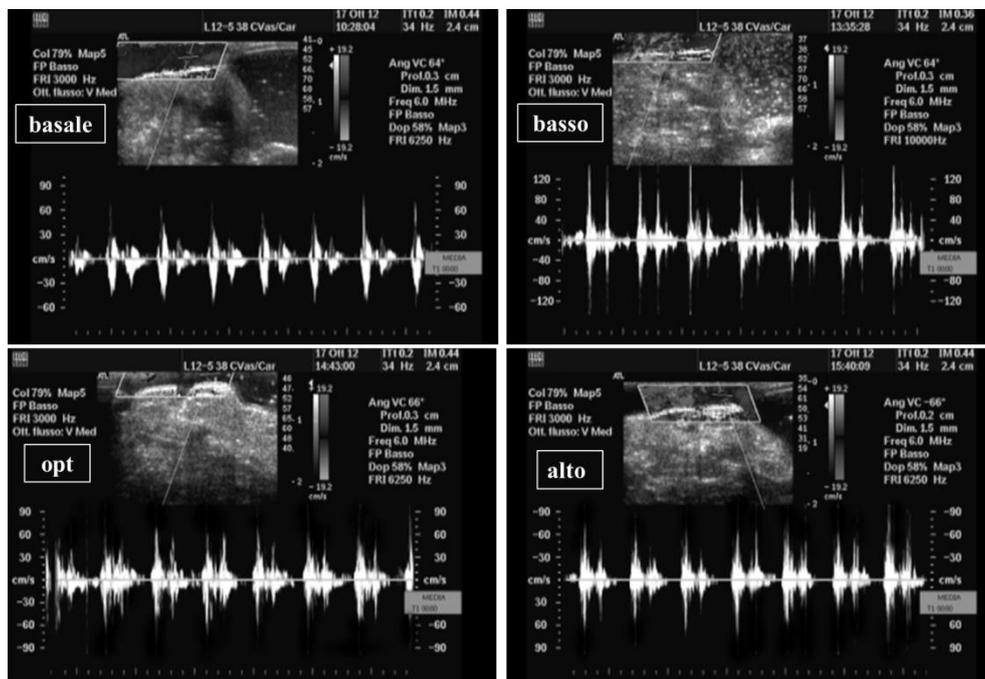
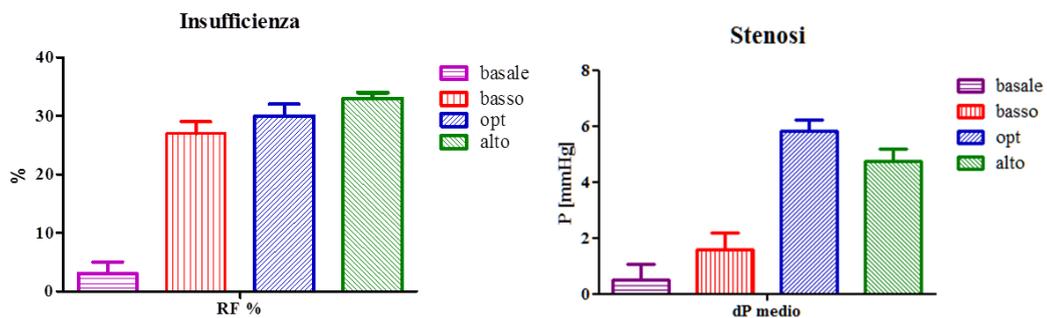


Figura 3.38 Segnali registrati in PW Doppler nelle diverse condizioni di prova. In alto: impianto basale (a sinistra) e basso (a destra). In basso: impianto opt (a sinistra) e alto (a destra).

La variazione del retroflusso statico, espresso in %, per le diverse prove condotte mostra come l’impianto della CoreValve causi un netto aumento dei valori di RF%; il caso

peggiore è rappresentato dall'impianto in posizione alto ( $RF=33\pm 1\%$ ) mentre il posizionamento basso risulta quello con insufficienza minore ( $RF=27\pm 2\%$ ). (Figura 3.39 a sinistra).

Il posizionamento basso sembra mostrare risultati migliori rispetto agli altri testati anche riguardo al grado di stenosi ( $\Delta P_{\text{medio}}=1,6\pm 0,6$  mmHg) che risulta molto simile al caso basale fisiologico ( $\Delta P_{\text{medio}}=0,5\pm 0,5$  mmHg). Le altezze di posizionamento opt e alto causano un grado maggiore di stenosi. (Figura 3.39 a destra).



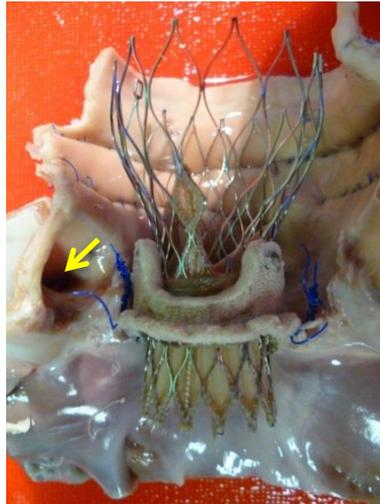
**Figura 3.39** Influenza dell'altezza di posizionamento della CoreValve sul Retroflusso statico % (a sinistra) e sulla caduta di pressione transvalvolare aortica (a destra).

### 3.4.4 Commenti

La prova sperimentale condotta sembra mostrare che l'impianto basso comporti sia una ridotta insufficienza aortica sia un minore grado di stenosi rispetto alle altre condizioni testate. La presenza di bolle e/o agglomerati di Orgasol durante la registrazione del segnale Doppler possono essere responsabili dell'anomala misura Doppler riscontrata nel calcolo dell'integrale velocità-tempo VTI per cui non è possibile trarre conclusioni riguardo alla perfusione coronarica nel caso di impianto basso della CoreValve.

Gli impianti in posizione ottimale e alta sembrano garantire una portata coronarica paragonabile al caso basale fisiologico.

La CoreValve in posizione basso (Figura 3.40) consente una completa espansione dello stent sul telaio della Hankok, e questo dovrebbe giustificare il retroflusso ridotto rispetto ai successivi livelli di impianto.



**Figura 3.40** Valve in Valve della CoreValve in posizione basso. La freccia indica l'ostio coronarico sinistro.

Tuttavia è bene sottolineare che le perdite di portata registrate non sono dovute esclusivamente al livello di posizionamento della CoreValve, ma all'impianto valve in valve condotto in un caso non patologico. *In vivo* il tessuto rigido delle calcificazioni conferisce stabilità alla CoreValve, riducendo i trafiletti di portata tra le due protesi. Nella prova *in vitro* la valvola biologica Hancock II non presenta alcun deposito calcifico sui foglietti di pericardio bovino ed quindi è probabile che una quota parte del retroflusso calcolato sia dovuto al “mismatch” tra le due protesi.

L'inserimento della valvola in TAVI è responsabile inoltre della formazione di una perdita di carico concentrata sull'annulus aortico che causa una stenosi e varia, come visto dai risultati sperimentali, con l'altezza di posizionamento dello stent. Anche in questo caso l'altezza bassa sembra dimostrarsi quella migliore rispetto agli altri livelli di impianto seppure tale risultato necessita di un modello patologico che permetta di condurre uno studio più realistico per la presenza delle calcificazioni sui foglietti della valvola.

È necessaria una campagna sperimentale su più campioni per validare statisticamente il risultato ottenuto e comprendere a fondo l'effetto fluidodinamico dell'altezza di posizionamento della CoreValve.

Attraverso il test condotto è stato inoltre possibile individuare le criticità della terapia TAVI legate alla modalità di impianto transcateretere che non permette di controllare finemente il posizionamento del device, fattore che, come visto, ne influenza notevolmente la riuscita. Il risultato dell'impianto *in vivo* dipende dalla perizia ed esperienza

dell'operatore, il quale può sfruttare il banco prova per perfezionare la tecnica di rilascio dello stent nella posizione corretta.

# CAPITOLO 4

## 4.Sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica *in vitro*

### Introduzione

Nel Capitolo 4 si riportano le strategie di ottenimento *in vitro* del modello patologico sviluppato nella presente tesi.

Il modello sviluppato trae ispirazione dal metodo di incollaggio proposto in Azadani [48], che presenta il vantaggio di riprodurre una stenosi aortica *in vitro* in modo pratico ed economico grazie all'incollaggio di adesivo chirurgico BioGlue sui foglietti valvolari aortici. Si propone, in questo lavoro, l'utilizzo di un diverso materiale per simulare le calcificazioni: foglietti calcifici naturali asportati in sala operatoria ed incollati, attraverso colla acrilica, sulla superficie valvolare aortica dei cuori porcini.

La soluzione proposta è stata identificata da un confronto coi chirurghi, poiché dettata dalla facile reperibilità della componente biologica di natura patologica nonché dalla possibilità di ottenere un modello di stenosi aortica simile a quello naturale. Il modello patologico proposto permetterebbe inoltre al chirurgo di operare *in vitro* con strutture molto simili a quelle con le quali è solito ritrovare *in vivo* in sala operatoria. La criticità principale del modello è data dalla difficoltà nel controllare il grado di stenosi che si intende riprodurre.

Si è condotta una campagna sperimentale preliminare su 5 campioni con il metodo di incollaggio scelto. Tale campagna sperimentale permette di valutare i parametri idrodinamici tipici della stenosi ottenuta con il modello e individuare una strategia per il superamento di alcuni limiti, evidenziati dall'ispezione visiva delle strutture valvolari interne mediante fibroscopio ed ecografia. Si riportano per questa campagna sperimentale il protocollo di ottenimento dei campioni, gli strumenti utilizzati per registrare i dati

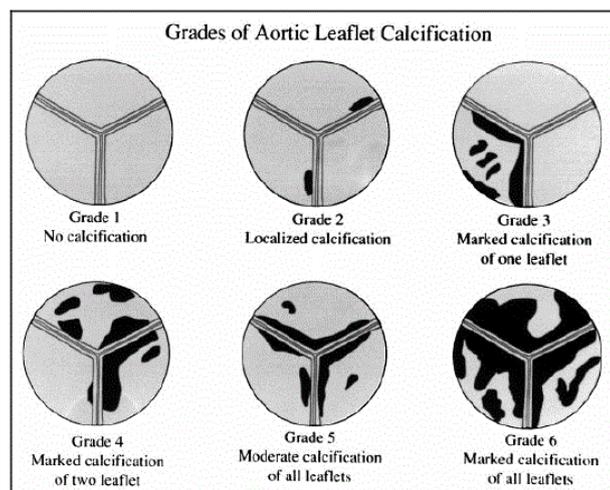
sperimentali, il protocollo di prova, le grandezze fluidodinamiche di controllo e di valutazione scelte e i risultati ottenuti.

Si analizzano quindi i risultati sperimentali ottenuti dal test sperimentale su 2 campioni in cui è stata introdotta una ottimizzazione sul protocollo di ottenimento dei campioni.

Il modello patologico sviluppato permette infine di valutare l'effetto di impianto transcateretere di una protesi in posizione aortica, secondo la tecnica TAVI. Si descrivono in questo caso il protocollo di prova e i risultati ottenuti.

#### 4.1 Strategie di ottenimento di valvole aortiche patologiche *in vitro*

La patogenesi della stenosi aortica coinvolge una complessa serie di fattori; essa nasce con l'infiammazione del tessuto, spesso dovuta ad una lesione di natura aterosclerotica, e si conclude con il processo di calcificazione, dovuto alla trasformazione in osteoblasti delle cellule del tessuto sclerotico. Le cuspidi valvolari subiscono un differente processo degenerativo della patogenesi della stenosi: congenito, infiammatorio-reumatico o senile. La degenerazione fibro-calcifica senile, che si vuole simulare *in vitro*, è caratterizzata da depositi nodulari di calcio sul versante aortico delle cuspidi valvolari.



**Figura 4.1** Gradi di calcificazione aortica.

In Bahler *et al.* [6] si dimostra l'esistenza di una correlazione tra la conformazione dei depositi calcifici sui foglietti aortici e il livello di motilità degli stessi con il grado di

severità della stenosi. Il grado di calcificazione, ottenuto da un'analisi qualitativa ecografica, viene codificato, secondo una scala di gravità, e per ciascun valore viene associato un livello di motilità residua dei lembi. (Figura 4.1)

Al grado 6, corrispondente ad una marcata calcificazione di tutti i foglietti della valvola, corrisponde secondo Bahler una stenosi aortica severa. La morfologia che caratterizza il grado 6, individuato in Bahler, caratterizza anche la valvola che si ritrova generalmente in sala operatoria prima della sostituzione valvolare ed è pertanto quella che si vuole replicare *in vitro*.

Per la preparazione dei modelli patologici di stenosi aortica severa si cerca pertanto di replicare la morfologia delle calcificazioni che interessano la valvola stenotica naturale, ricoprendo tutta la superficie del foglietto aortico porcino con quello asportato *in vivo*.

## 4.2 Campagna sperimentale su 5 campioni

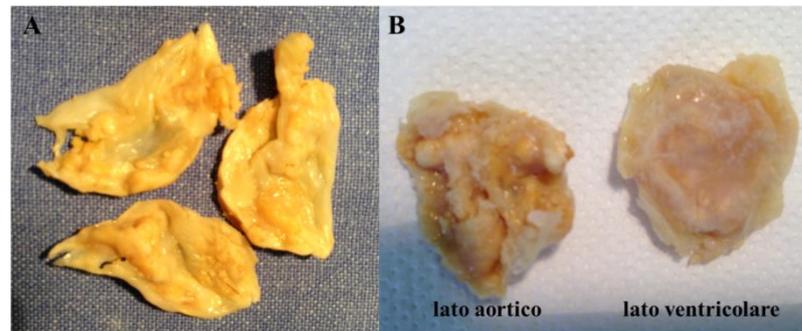
Per ottenere un modello patologico che replicasse la stenosi aortica severa *in vitro* si è condotta una campagna sperimentale, grazie al sistema *in vitro* [1], descritto nel Capitolo 2, su 5 cuori porcini.

### 4.2.1 Protocollo di replicazione della stenosi aortica *in vitro*

Per ottenere valvole porcine stenotiche si segue un protocollo basato sull'esperienza del chirurgo e considerazioni nel ricreare la morfologia della valvola stenotica naturale. Il protocollo prevede le seguenti procedure:

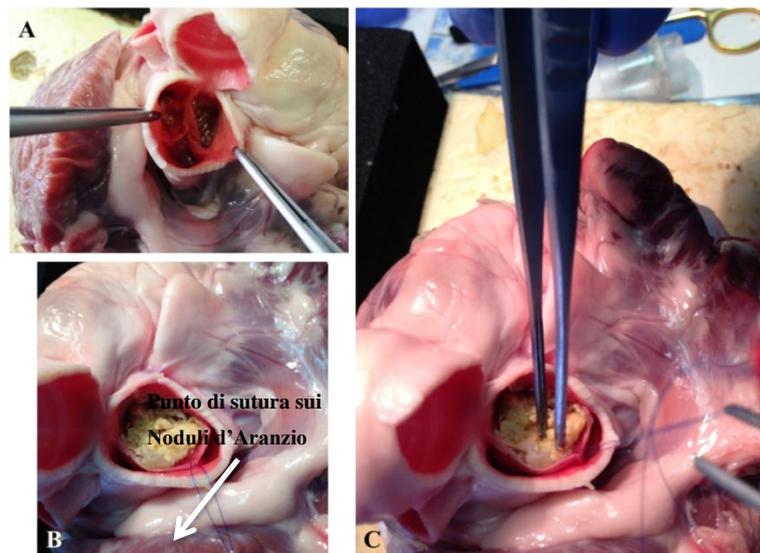
1. I cuori porcini, precedentemente lavati in un bagno di soluzione fisiologica ed eparina al fine di eliminare possibili coaguli intrappolati nelle cavità cardiache interne, vengono ripuliti dai depositi adiposi a livello della radice aortica;
2. Esecuzione di un'aortotomia 2 mm sopra la giunzione senotubulare (STJ, dall'acronimo inglese Sino-Tubular Junction) al fine di esporre adeguatamente i foglietti valvolari e condurre agevolmente le successive procedure sulla valvola aortica porcina (immagine A in Figura 4.3);
3. Asciugatura dei foglietti valvolari mediante tamponamento con carta assorbente;
4. Applicazione di un punto di sutura sui tre noduli di Aranzio (immagine B in Figura 4.3). Il fine di questa operazione è duplice in quanto permette di verificare

eventuali prolapsi dei foglietti e, al tempo stesso, tendere la loro superficie agevolando il posizionamento dei foglietti stenotici;



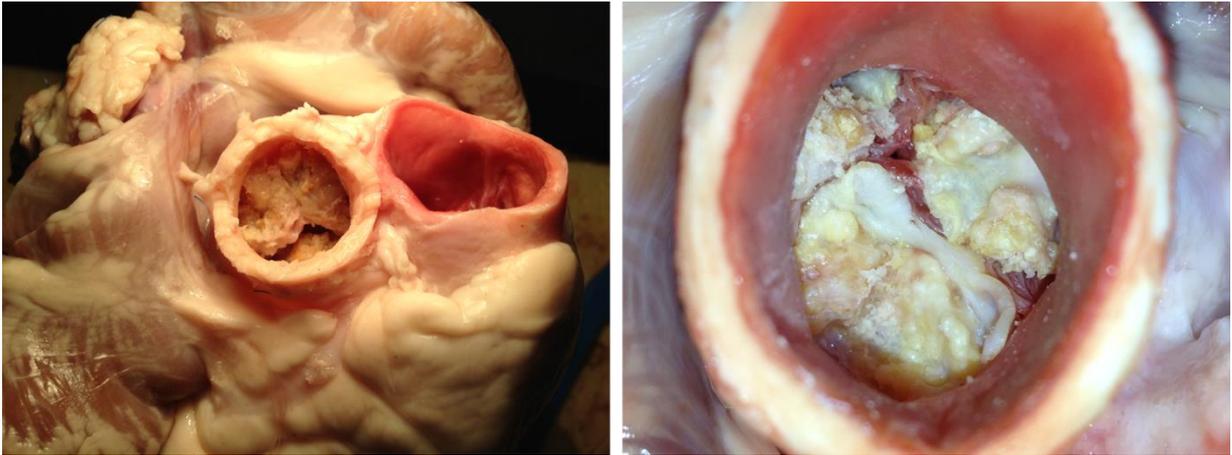
**Figura 4.2** Foglietti stenotici espianati *ex vivo*. A – immagine delle tre cuspidi valvolari aortiche stenotiche. B – foglietto stenotico: lato aortico ricoperto di agglomerati calcifici; lato ventricolare liscio.

5. Applicazione di uno strato di colla acrilica gel (Super Attack Power gel, Loctite; Milano, Italy), sulla superficie ventricolare liscia di un foglietto calcifico (Figura 4.2) e posizionamento su una cuslide valvolare porcina in modo da ricoprirne tutta la superficie;
6. Applicazione di ulteriore colla nei punti eventualmente non adesi;
7. Applicazione di compressione per 2 minuti, mediante pinza chirurgica, tra i due foglietti a contatto; (immagine C in Figura 4.3)
8. Asciugatura della colla acrilica sotto lampada ad incandescenza per 15 minuti;



**Figura 4.3** A – aortotomia e esposizione della valvola aortica porcina al trattamento. B – tenditura del foglietto aortico con il punto di sutura sui noduli d'Aranzio e posizionamento del foglietto calcifico. C – pressione applicata sul foglietto stenotico mediante pinza chirurgica.

9. Il procedimento descritto dal punto 5 viene ripetuto per le restanti 2 cuspidi aortiche;
10. Asciugatura della colla acrilica sotto lampada ad incandescenza per 2 ore.
11. Verifica della non completa ostruzione della valvola, tramite inserimento di pinza chirurgica nell'orifizio valvolare aortico.
12. Rimozione del punto di sutura nei noduli di Aranzio. (Figura 4.4)



**Figura 4.4** Cuore porcino reso stenotico a seguito del protocollo descritto. A destra – ingrandimento sull'anulus aortico che permette di osservare l'incollaggio dei foglietti calcifici sul tessuto fisiologico.

#### 4.2.2 Protocollo di prova

Il cuore porcino viene montato nel banco prova e si aziona il sistema pompante pulsatile, la cui frequenza viene inizialmente impostata a 30 bpm e gradualmente incrementata fino ai 70 bpm. Raggiunto il punto di lavoro si regola il simulatore di impedenza sistemica in una condizione di pressione normotesa.

##### 4.2.2.1 Grandezze fluidodinamiche di controllo e valutazione

Come **parametri di controllo** vengono calcolati, per ogni test:

- la pressione media all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica nell'intero ciclo cardiaco,  **$P_{\text{sis media}}$** ;
- la portata media nell'intero ciclo,  **$Q_{\text{media}}$** ;
- lo stroke volume sistolico,  **$SV_s$** .

La grandezza fluidodinamica di **valutazione della stenosi** è la caduta di pressione a cavallo della valvola aortica ( $\Delta P$ ), indice tradizionalmente utilizzato in pratica clinica per la valutazione del grado della stenosi. Per tale parametro si valutano:

- $\Delta P$  media in sistole,  $\Delta P_{\text{media}}$ ;
- $\Delta P$  massima in un intero ciclo cardiaco,  $\Delta P_{\text{max}}$ .

Per analizzare l'efficacia del modello patologico replicato *in vitro* si valuta l'eventuale presenza di **insufficienza aortica**. La tecnica di incollaggio può infatti causare un'alterata chiusura dell'orifizio aortico nella fase che segue il periodo espulsivo ventricolare, per cui il sangue retrofluisce dall'aorta al ventricolo.

Come grandezza fluidodinamica di **valutazione dell'insufficienza aortica** si calcola:

- Retroflusso statico, espresso in valore percentuale: **RF**;

$$(1) RF = \frac{|VR|}{SV_s} = \frac{\int_{\text{inizio diastole}}^{\text{fine diastole}} Q_{td} dt}{\int_{\text{inizio sistole}}^{\text{fine sistole}} Q_s dt};$$

in cui VR rappresenta il volume di rigurgito calcolato integrando la portata media in telediastole  $Q_{td}$  in tutta la durata della diastole, relazione validata in Vismara *et al.* [33].  $Q_s$  rappresenta la portata istantanea in sistole.

Tutti i parametri fluidodinamici vengono calcolati, per ogni prova, come media e deviazione standard su 5 cicli cardiaci consecutivi.

## 4.2.3 Risultati

### 4.2.3.1 Valutazione dati idrodinamici

Si riportano le **grandezze fluidodinamiche di controllo** della campagna sperimentale (Tabella 4.1).

Grandezze di controllo	
$P_{\text{sis media}}$ [mmHg]	80,30 ± 26,41
$Q_{\text{media}}$ [l/min]	2,29 ± 1,41
$SV_s$ [ml]	56,34 ± 6,08

**Tabella 4.1** Grandezze di controllo espresse in  $\text{media} \pm \text{dev.st}$  sui 5 campioni testati.

Nella Figura 4.5 si mostrano gli andamenti della pressione media all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica e della portata media nei 5 campioni testati. La scarsa portata media registrata nel campione 1 ( $Q_{\text{media}}=0,20 \pm 0,10$  l/min), dovuta alla presenza di un elevato retroflusso aortico, non ha permesso di regolare la pressione nel simulatore di

impedenza sistemica ( $P_{\text{sis}}$  media=39,02±0,20 mmHg). Lo stroke volume sistolico risulta pressoché costante (Tabella 4.1).

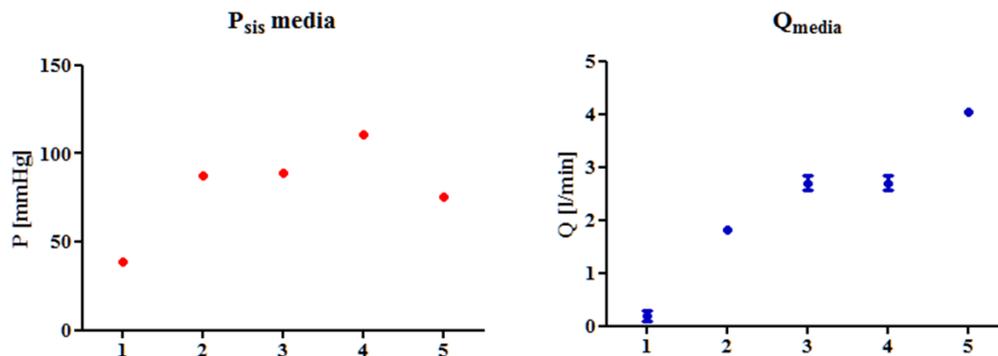


Figura 4.5 Andamenti della pressione media all'ingresso del simulatore d'impedenza sistemica (a sinistra) e della portata media (a destra) nei 5 campioni patologici.

Si riportano in una stessa Tabella 4.2 le grandezze di valutazione della **stenosi aortica** e dell'**insufficienza**. Per ogni parametro si riporta il valore medio±dev.st sui 5 campioni e l'andamento nei 5 campioni testati. (Figura 4.6)

Grandezze di valutazione		
STENOSI	$\Delta P_{\text{medio}}$	13,44 ± 5,50 mmHg
	$\Delta P_{\text{max}}$	37,69 ± 14,43 mmHg
INSUFFICIENZA	RF statico	30% ± 38%

Tabella 4.2 grandezze di valutazione della stenosi e dell'insufficienza aortica medi per i 5 campioni patologici.

I risultati ottenuti dimostrano che è stata ricreata una stenosi aortica moderata ( $\Delta P_{\text{medio}} < 20\text{mmHg}$ ). Tuttavia gli elevati valori di RF statico mostrano che il modello introduce una insufficienza aortica non voluta. Questo avviene in almeno due esperimenti su 5, come mostrato nel diagramma a destra della Figura 4.6.

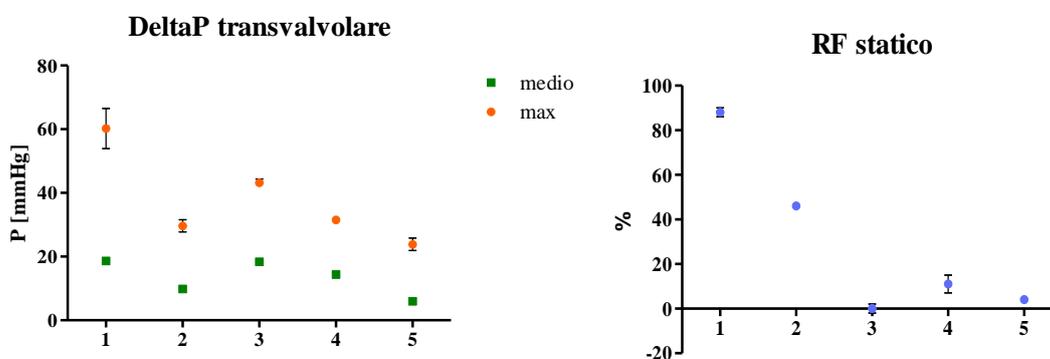
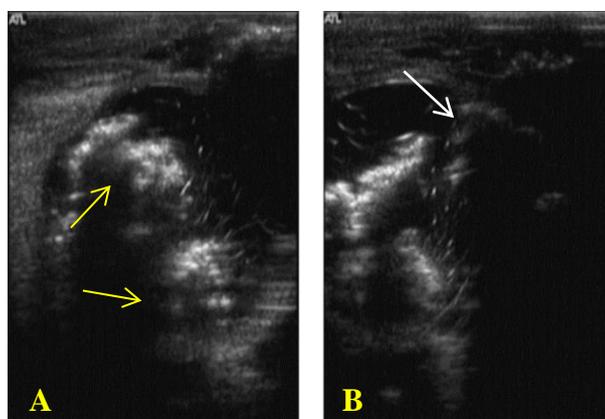


Figura 4.6 A sinistra: andamento del  $\Delta P$  medio in sistole e massimo nell'intero ciclo nei 5 campioni patologici. A destra: andamento del RF stat% nei 5 campioni patologici

#### 4.2.3.2 Ispezione visiva

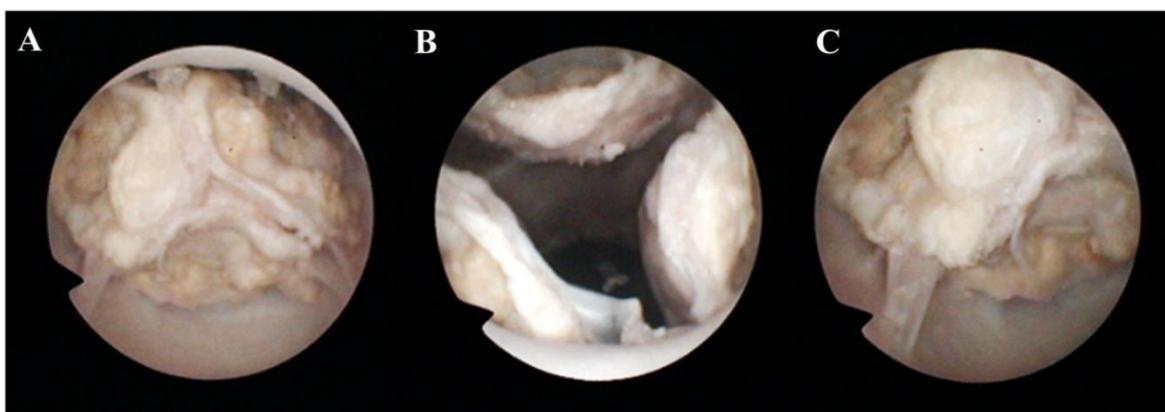
Data la dispersione dei dati idrodinamici sperimentali si riportano i risultati delle ispezioni visive dei campioni 1 e 3 che hanno mostrato caratteristiche opposte: il campione 1 ha riportato una stenosi severa ma, di contro, un'insufficienza elevata. Il campione 3 presenta un retroflusso quasi nullo, e un discreto grado di stenosi.

Le immagini ecografiche della valvola aortica nel campione 1 (Figura 4.7) permettono di osservare l'ispessimento dei foglietti valvolari, indicati con le frecce gialle nell'immagine A in asse lungo. In asse corto (B) si osserva la differente morfologia delle commissure (freccia bianca) caratterizzate da uno spessore sottile.



**Figura 4.7** Immagini ecografiche B-Mode della valvola aortica. A – asse lungo; B – asse corto. Le frecce gialle indicano i foglietti valvolari stenotici.

A titolo di esempio si riporta un'ispezione visiva attraverso fibroscopio condotta sul campione 3. Le immagini in Figura 4.8, secondo le osservazioni qualitative dei chirurghi, mostrano una morfologia della valvola aortica molto simile a quella patologica naturale.



**Figura 4.8** Snapshots della valvola aortica stenotica in fase di diastole (A), in fase di sistole (B) e ingrandimento sulla commissura (C).

#### 4.2.4 Commenti e ottimizzazione del modello

La campagna sperimentale sui 5 campioni ha permesso di individuare vantaggi e alcune criticità del metodo utilizzato.

L'incollaggio consente di replicare fedelmente le caratteristiche morfologiche delle valvole stenotiche naturali e permette di ottenere una caduta di pressione transvalvolare tipica di una stenosi moderata.

Le criticità riscontrate sono fondamentalmente due: la scarsa ripetibilità del metodo di incollaggio e l'insufficienza aortica indotta dallo stesso.

Gli elevati valori di deviazione standard dei valori medi indicano una scarsa controllabilità del modello patologico, infatti, mentre nel campione 1 e 3 si ottengono  $\Delta P$  transvalvolari massimi tipici da stenosi severa, in altri, come il campione 5, la stenosi risulta lieve. (Figura 4.6)

La Tabella 4.2 mostra come, in alcuni casi, il trattamento di incollaggio induca, non solo un restringimento dell'annulus, tipico della stenosi, ma anche un retroflusso dall'aorta al ventricolo sinistro. L'insufficienza aortica presenta delle differenze più marcate rispetto alla stenosi nei diversi campioni: nel campione 1 il retroflusso aortico è dell'88% mentre negli ultimi tre campioni l'insufficienza risulta nettamente minore rispetto ai campioni 1 e 2. (Figura 4.6)

Da un consulto con l'equipe chirurgica si sono valutate diverse soluzioni per ottimizzare il modello patologico e tra queste si è considerata promettente quella di sutura delle commissure poiché rappresenta una tecnica semplice e di rapida applicazione al fine di:

1. Aumentare la riproducibilità e il controllo della tecnica sviluppata;
2. Regolare la sezione di passaggio al fluido in fase di sistole e controllare così il grado di stenosi;
3. Garantire una maggiore tenuta della valvola in fase di diastole e ridurre l'insufficienza aortica.

Le ipotesi nei punti precedenti verranno verificate attraverso la prova sperimentale descritta nel prossimo paragrafo.

### 4.3 Caratterizzazione del modello patologico di stenosi aortica

Si riportano i test effettuati su 2 campioni sui quali viene introdotta la tecnica della sutura delle commissure. Il protocollo di ottenimento dei campioni descritto precedentemente viene mantenuto inalterato ma si conclude con l'applicazione di un punto di sutura, con filo da 6 zeri, su ciascuna commissura ad una distanza di circa 3 mm dalla parete aortica. (Figura 4.9)

Il protocollo di test e i parametri di controllo e valutazione sono gli stessi considerati nella prova sperimentale sui 5 campioni.

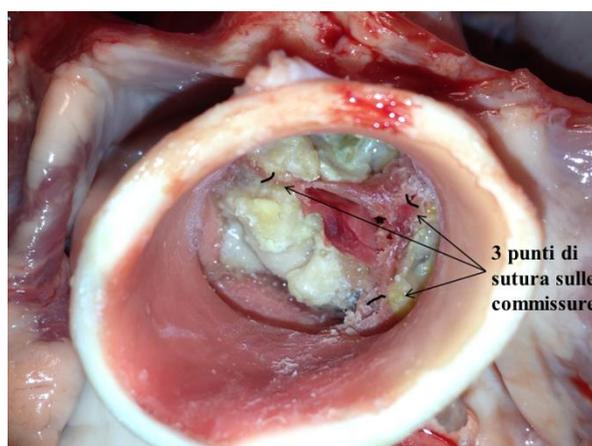


Figura 4.9 Applicazione dei punti di sutura in prossimità delle 3 commissure.

#### 4.3.1 Risultati

I parametri di controllo calcolati per le prove sono mostrati in Tabella 4.3.

Grandezza di controllo	Campione 1	Campione 2
$P_{\text{sis media}}$ [mmHg]	$107, \pm 0,7$	$109,3 \pm 1,6$
$Q_{\text{sis media}}$ [l/min]	$2,6 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,3$
$SV_s$ [ml]	$48,1 \pm 0,3$	$48,2 \pm 1,1$

Tabella 4.3 Grandezze di controllo delle prove su 2 campioni.

In Tabella 4.4 si riportano i valori medi dei parametri di valutazione della stenosi e dell'insufficienza aortica, calcolati su 5 cicli consecutivi, per ciascun campione testato.

Grandezza di valutazione		Campione 1	Campione 2
<b>STENOSI</b>	$\Delta P_{\text{medio}}$ sistole [mmHg]	$47,5 \pm 0,5$	$38,9 \pm 1,7$
	$\Delta P_{\text{max}}$ [mmHg]	$98,7 \pm 2,2$	$77,9 \pm 1,5$
<b>INSUFFICIENZA</b>	RF stat %	$11\% \pm 3\%$	$11\% \pm 4\%$

Tabella 4.4 Caratterizzazione idrodinamica del modello patologico di stenosi aortica.

I risultati sperimentali mostrano un netto incremento dei valori di  $\Delta P$  a cavallo della valvola: i  $\Delta P$  transvalvolari, sia medio in sistole sia massimo, hanno valori confrontabili tra i due campioni e sono attribuibili ad una stenosi aortica severa ( $\Delta P_{\text{medio}} > 35$  mmHg). La sutura delle commissure ha comportato, in accordo con quanto atteso, un restringimento della sezione di passaggio del flusso in fase di sistole. È presente un retroflusso aortico medio dell'11%, uguale nei due campioni. (Tabella 4.4)

#### 4.3.2 Commenti

L'introduzione della sutura commisurale nella tecnica di incollaggio dei foglietti stenotici naturali ha permesso di aumentare, e controllare, il grado di stenosi e ottenere un'accettabile insufficienza aortica di  $RF \approx 11\%$ . Si sono pertanto ottenuti gli obiettivi di replicare *in vitro* la stenosi aortica, con un metodo economico e pratico, che ha il vantaggio di presentare una morfologia simile a quella che si ritrova *in vivo*.

Il modello patologico diventa uno strumento utile per il chirurgo, il quale può applicare tecniche di sostituzione valvolare e impiantare protesi valvolari al fine di comprendere l'effetto che queste procedure hanno sui parametri fluidodinamici.

Nonostante i vantaggi riscontrati sono presenti due criticità: la ripetibilità del modello e i lunghi tempi di preparazione dei campioni.

La scarsa ripetibilità del modello sviluppato è insita nel metodo scelto e, nonostante essa sia stata migliorata con l'introduzione della sutura commisurale, non è ancora possibile controllare finemente il grado di stenosi. Tuttavia, visti gli obiettivi alla base dello sviluppo del modello patologico, non è indispensabile controllare a priori il grado di stenosi quanto disporre di un sistema che replichi la stenosi aortica in termini fluidodinamici e, soprattutto, morfologici.

I lunghi tempi di preparazione, di circa 4 ore, rappresentano una criticità soprattutto per il personale clinico e limitano la possibilità di effettuare un confronto, su ogni campione, tra il caso fisiologico e quello patologico. Tuttavia, grazie a precedenti lavori, è stata studiata a fondo la fluidodinamica, sul banco prova, in condizioni fisiologiche e si possiedono pertanto le informazioni necessarie per condurre un confronto tra i casi fisiologici e patologici (in condizioni fisiologiche  $\Delta P_{\text{medio}} \approx 0$  mmHg;  $\Delta P_{\text{max}} \approx 16$  mmHg e  $RF_{\text{stat}} \approx 2\%$ ).

#### 4.4 Impianto di valvola transcateretere CoreValve sul modello patologico

Si presenta una prova sperimentale preliminare in cui viene utilizzato il modello patologico sviluppato. Tale prova riporta uno scenario che si presenta di norma nella realtà clinica, e ha come obiettivo la valutazione dell'effetto, sui parametri idrodinamici, dell'impianto di una valvola transcateretere in un cuore porcino nel quale si replica una stenosi aortica severa.

##### 4.4.1 Protocollo di prova

Sul cuore porcino viene replicata una stenosi aortica secondo il protocollo descritto nel Paragrafo 4.2.1 e testato sul banco prova.

Si riportano i risultati relativi a diverse procedure condotte, secondo il parere del chirurgo, al fine di ottenere una sostituzione ottimale di valvola aortica. Si considerano pertanto 4 casi sperimentali:

1. **Stenosi** aortica replicata in vivo;
2. Impianto transcateretere di CoreValve (**CV**) da 29 mm;
3. **angioplastica** attraverso il gonfiaggio di un palloncino all'interno della CV per consentire una migliore adesione della protesi sull'annulus della valvola stenotica.
4. tecnica valve-in-valve (**VIV**) di una seconda CoreValve da 26 mm.

I parametri di controllo e di valutazione sono gli stessi considerati per le campagne preliminari di sviluppo del modello patologico e vengono calcolati come media e deviazione standard su 5 cicli consecutivi. Durante la prova viene registrato inoltre il video dell'ispezione diretta con il fibroscopio.

##### 4.4.2 Risultati e commenti

Durante la prova, condotta sul campione 4 riportato nella campagna sperimentale preliminare, la pressione media all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica non si è mantenuta in condizioni normotensive a seguito dell'impianto della CoreValve il quale causa una diminuzione della portata media. Lo stroke volume sistolico si mantiene pressoché costante durante i test. (Tabella 4.5)

Grandezze fluidodinamiche di controllo				
	Stenosi	CV	Angioplastica	VIV
$P_{\text{sis media}}$ [mmHg]	110,8 ±0,0	42,5±0,2	43,4±1,3	57,6±0,1
$Q_{\text{sis media}}$ [l/min]	2,7±0,1	1,1±0,2	0,9±0,4	1,3±0,0
$SV_s$ [ml]	58,4 ±0,3	60,9±0,8	54,4±1,4	60,0±0,7

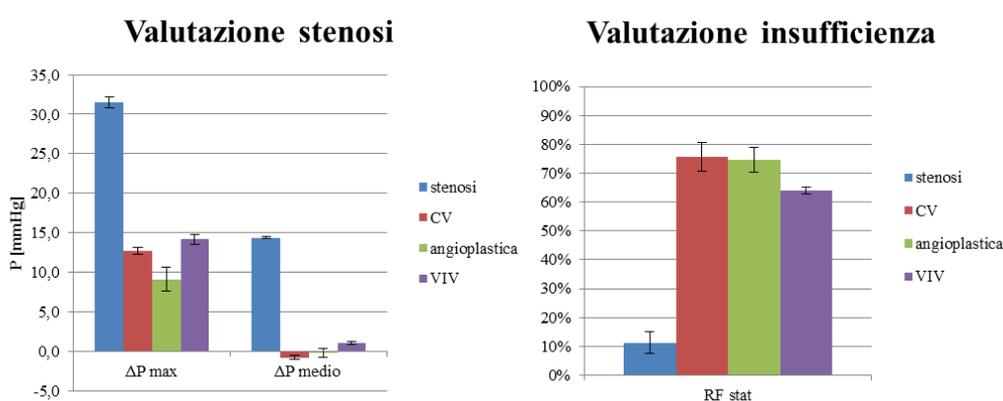
**Tabella 4.5** Grandezze fluidodinamiche di controllo della prova. CV: impianto di CoreValve; VIV: tecnica di impianto valve-in-valve.

Le grandezze di valutazione della stenosi e dell'insufficienza calcolate per la prova sperimentale vengono riportate in Tabella 4.6; in Figura 4.10 vengono riportati gli andamenti dei parametri di valutazione nelle diverse procedure.

Grandezze di valutazione		Stenosi	CV	Angioplastica	VIV
STENOSI	$\Delta P_{\text{medio}}$ [mmHg]	14,4±0,2	-0,8±0,3	-0,2±0,6	1,0±0,2
	$\Delta P_{\text{max}}$ [mmHg]	31,5±0,7	12,7±0,5	9,1±1,5	14,2±0,6
INSUFFICIENZA	RF stat %	11±4 %	76 ±5 %	75±4 %	64±1 %

**Tabella 4.6** Grandezze di valutazione della stenosi e dell'insufficienza nelle diverse procedura di prova. SV: impianto di CoreValve; VIV: impianto valve-in-valve.

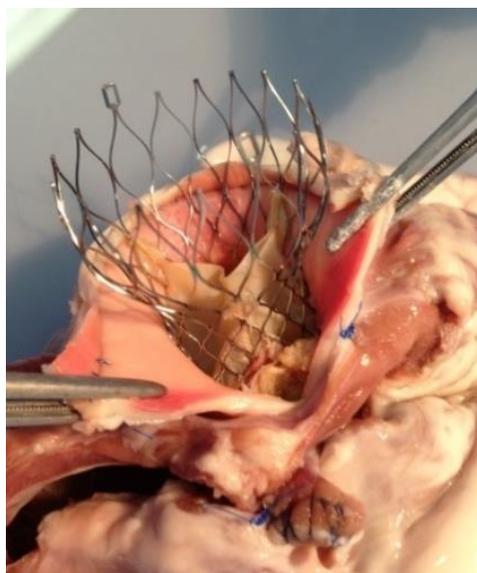
I risultati ottenuti sono coerenti con le procedure effettuate (vedi Figura 4.10): attraverso il modello patologico è stato possibile riprodurre una stenosi aortica severa ed ottenere valori di  $\Delta P$  massimo durante il ciclo cardiaco e di  $\Delta P$  medio in sistole, rispettivamente, di 31,5±0,7 mmHg e 14,4±0,2 mmHg.



**Figura 4.10** Valutazione della severità della stenosi (a sinistra) e dell'insufficienza aortica (a destra) a seguito delle diverse procedure.

L'impianto della CoreValve determina, come atteso, una riduzione dei valori di  $\Delta P$  transvalvolare, che risultano paragonabili a quelli in condizioni fisiologiche non trattate. L'espansione della maglia metallica dello stent consente di comprimere i depositi di calcio sulle pareti aortiche e permette quindi di sostituire la valvola patologica. (Figura 4.11)

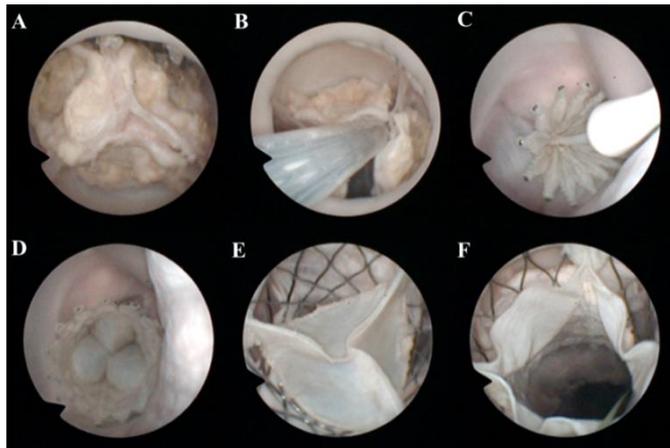
Dalla valutazione dell'insufficienza si nota come l'inserimento della CoreValve causi un aumento del retroflusso aortico: questo effetto è dovuto non solo al posizionamento dello stent ma al "mismatch" tra la valvola protesica e l'anatomia del cuore porcino. L'angioplastica non ha effetti significativi sul retroflusso aortico, il quale diminuisce a seguito dell'impianto di una seconda CoreValve nella prima. L'insufficienza aortica indotta con l'impianto TAVI *in vitro* non presenta valori di RF statico di tipo fisiologico.



**Figura 4.11** Fotografia, a fine prova, dell'impianto della CoreValve nella valvola aortica patologica.

L'angioplastica riduce ulteriormente i valori di  $\Delta P$  per l'espansione forzata del lume valvolare. L'interposizione di una seconda CoreValve di taglia inferiore della precedente nella procedura VIV, tecnica utilizzata in clinica per risolvere la scorretta adesione della prima protesi, non ristabilisce nonostante la procedura di angioplastica, produce un aumento del  $\Delta P$  a causa della riduzione dell'area di passaggio del flusso ematico. (Figura 4.10)

La registrazione del video attraverso il fibroscopio consente di visualizzare dall'interno il posizionamento della protesi e osservare come la CoreValve sostituisca la valvola patologica con l'espansione della maglia metallica. (Figura 4.12)



**Figura 4.12** Snapshot del video registrato attraverso fibroscopio dell'impianto della CoreValve nella valvola aortica resa patologica *in vitro*. A – stenosi; B – inserimento del catetere; C – rilascio controllato della CV, vista lato ventricolo; CoreValve chiusa vista dal lato ventricolo (D) e vista dal lato aortico (E); F – CoreValve aperta vista dal lato aortico.

# CAPITOLO 5

## 5. Misure EcoDoppler e modello patologico di stenosi aortica *in vitro*

### Introduzione

Nel Capitolo 5 vengono descritte due prove sperimentali in cui si integrano gli strumenti sviluppati nei precedenti Capitoli 3 e 4: la misura ecoDoppler e il modello patologico *in vitro*.

L'obiettivo di queste prove sperimentali è mostrare le potenzialità del banco prova a valle delle nuove integrazioni, che permette di condurre studi sperimentali complessi e più raffrontabili con la realtà clinica.

Con gli esperimenti condotti, entrambi su un solo campione, si vuole valutare l'effetto sulla perfusione coronarica della stenosi aortica e, secondariamente, dell'impianto di valvola transcateretere nel campione patologico. Si descrivono, per entrambe le prove, i protocolli di prova e i risultati ottenuti.

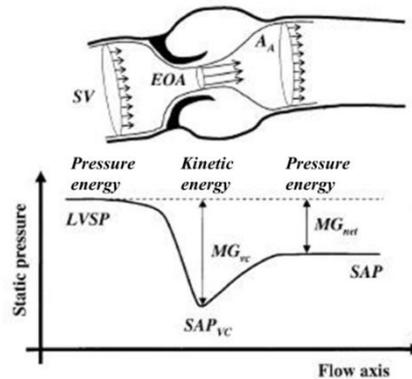
Le conclusioni tratte dalle prove sperimentali presentate nei prossimi paragrafi non mirano ad ottenere risultati rigorosi ma rappresentano delle proposte per ulteriori studi sperimentali.

#### 5.1 Effetto della stenosi aortica sul flusso coronarico *in vitro*

Verificati gli effetti delle alterazioni del flusso coronarico *in vitro* in condizioni fisiologiche, attraverso la campagna sperimentale riportata nel Capitolo 3.3, è interessante analizzare l'effetto della stenosi aortica sul flusso coronarico.

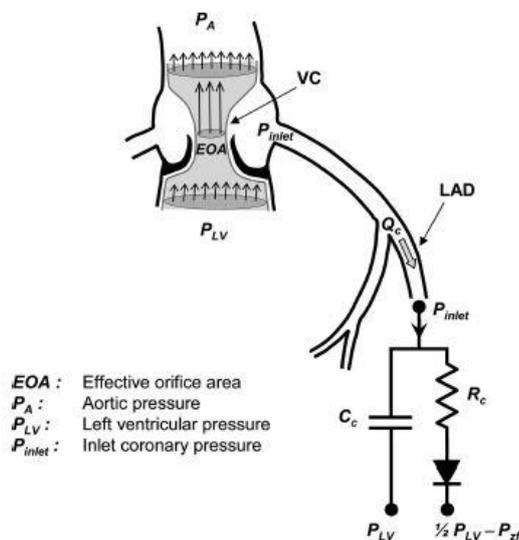
Il percorso del flusso ematico attraverso la stenosi è caratterizzato (come mostrato in Figura 5.1) da un forte restringimento, seguito da una brusca espansione. Il restringimento, in particolare, comporta la conversione della pressione statica in pressione cinetica e a

valle della vena contratta, parte della pressione cinetica viene recuperata in pressione statica. Il fenomeno descritto, tipico dell'idraulica, è noto come *pressure-recovery*. [51]



**Figura 5.1** Rappresentazione schematica del flusso e della pressione statica, in fase di sistole, tra il ventricolo sinistro (LV), la valvola aortica e l'aorta ascendente. SV: Stroke Volume; EOA: Effective Orifice Area;  $A_A$  area di efflusso aortico. [51]

Dato che la pressione all'imbocco delle coronarie (come mostrato in Figura 5.2) è assimilabile a quella della vena contratta (VC), si può ipotizzare che la portata nelle coronarie risenta della riduzione della pressione a valle della stenosi e che, pertanto, risulti inferiore alla portata coronarica fisiologica. [52]



**Figura 5.2** Rappresentazione schematico del modello a parametri concentrati proposto in Garcia. VC:vena contratta; LAD: arteria coronarica discendente anteriore;  $Q_c$  portata nella LAD;  $C_c$  compliance coronarica totale;  $R_c$  resistenza coronarica totale. [52]

Questi ragionamenti, che si riferiscono alle condizioni *in vivo*, valgono anche nel caso *in vitro*. Nel modello patologico *in vitro* ci si aspetta quindi una portata coronarica

minore rispetto al caso fisiologico; per verificare questa ipotesi si misura il flusso coronarico mediante la misura ecoDoppler integrata nel setup sperimentale.

### 5.1.1 Protocollo di prova

Per comprendere le alterazioni del flusso coronarico in presenza di stenosi aortica è stato necessario effettuare, su uno stesso campione, una prova in condizioni basali fisiologiche, nonostante i lunghi tempi richiesti alla preparazione del campione patologico.

Si considerano 2 condizioni di test: **fisiologico** e **patologico**. Il primo caso indica il cuore porcino non trattato, il secondo test viene condotto a valle del protocollo di ottenimento della stenosi aortica *in vitro*.

Per le condizioni di test elencate si procede con la registrazione dei dati di pressione e di portata e del profilo di velocità ecoDoppler, secondo il protocollo descritto nel Capitolo 3. Durante le prove vengono mantenuti costanti la frequenza cardiaca, lo stroke volume impostato a 70 mL con la pompa pulsatile e la pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica regolata in condizioni normotese.

### 5.1.2 Risultati

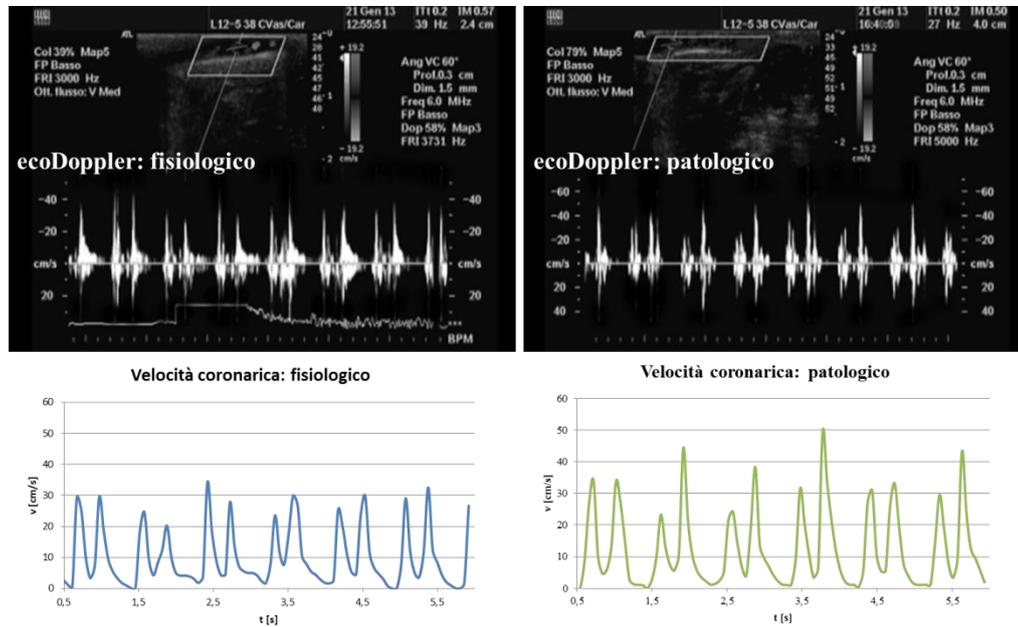
Le grandezze fluidodinamiche di controllo vengono riportate come media tra le due condizioni di test per ciascuna condizione di test (Tabella 5.1)

Grandezze di controllo	Fisiologico	Patologico
$P_{\text{sis media}}$ [mmHg]	$91,6 \pm 0,1$	$89,2 \pm 0,1$
$Q_{\text{media}}$ [l/min]	$4,4 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,1$
$SV_s$ [ml]	$64,3 \pm 1,0$	$56,8 \pm 1,4$

Tabella 5.1 Grandezze fluidodinamiche di controllo su ciascuna condizione di test

Inizialmente si effettua un confronto qualitativo tra il profilo di velocità Doppler registrato in condizioni fisiologiche e quello in caso patologico per verificare se è presente un'alterazione del flusso coronarico in sistole. In Figura 5.3 (in alto a sinistra) si mostra il segnale ecoDoppler relativo al caso fisiologico, che, da una valutazione qualitativa, ha un'ampiezza paragonabile a quella misurata in condizioni patologiche (in alto a destra). Il profilo di velocità in condizioni fisiologiche presenta una componente negativa ridotta rispetto a quella patologica. Altra differenza tra i due tracciati è la riduzione nel profilo patologico della fase, che in clinica prende il nome di diastolic slope, di decremento

diastolico a pendenza costante fino all’inizio della successiva sistole. Ancora in Figura 5.3 si mostra il profilo di velocità, ottenuto con l’elaborazione di ciascun segnale descritta nel Paragrafo 2.3 del Capitolo 3, in funzione della componente positiva di velocità coronarica.



**Figura 5.3** In alto: segnale ecoDoppler sull’IVA prossimale relativo al caso fisiologico (a sinistra) e patologico (a destra). In basso: profilo di velocità in foglio di lavoro Excel in caso fisiologico (a sinistra) e patologico (a destra).

Si conduce un’analisi quantitativa, considerando separatamente le grandezze fluidodinamiche di valutazione del modello patologico e della portata coronarica.

Per caratterizzare il **modello patologico** si calcolano:

- **$\Delta P$  medio in sistole e  $\Delta P$  massimo nell’intero ciclo cardiaco;**
- **RF statico**, calcolato come nei capitoli precedenti 3 e 4.

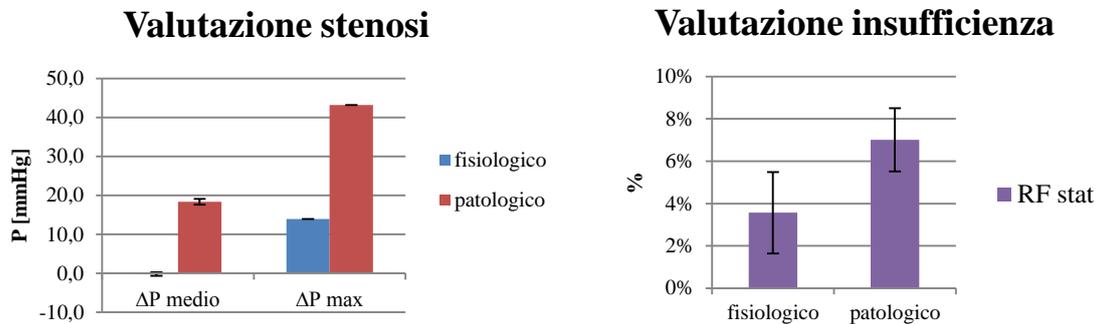
Per valutare la **perfusione coronarica** si ricava l’indice **VTI** (Integrale Velocità-Tempo) dal profilo di velocità Doppler misurato *in vitro*.

Si riportano i valori  $medi \pm dev.st$  su 5 cicli cardiaci consecutivi per ciascun parametro nelle due condizioni di test (Tabella 5.2).

Grandezze di valutazione		Fisiologico	Patologico
Stenosi	$\Delta P_{medio}$ sistole [mmHg]	$-0,2 \pm 0,2$	$18,4 \pm 0,4$
	$\Delta P_{max}$ [mmHg]	$18,4 \pm 0,4$	$43,2 \pm 0,7$
Insufficienza	RF stat %	$4\% \pm 2\%$	$7\% \pm 1\%$
Perfusione coronarica	VTI [cm]	$7,4 \pm 0,6$	$9,2 \pm 0,9$

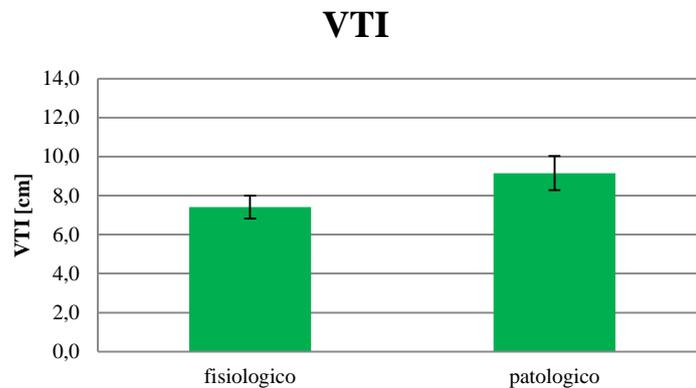
**Tabella 5.2** Grandezze fluidodinamiche di valutazione della stenosi, insufficienza e perfusione coronarica per le due condizioni di test.

L'applicazione del modello patologico *in vitro*, come detto nel paragrafo 4.3.2 ha permesso di ottenere una stenosi aortica severa. (Figura 5.4)



**Figura 5.4** A sinistra: Variazione della caduta di pressione a cavallo della valvola aortica in presenza del modello patologico. A destra: valutazione del reflusso aortico indotto dal metodo di incollaggio.

Il parametro di valutazione della perfusione coronarica VTI, espresso in cm, mostra (Figura 5.5) che non ci sono alterazioni significative pre e post stenosi. L'andamento mostra un aumento del valore di VTI ma risulta difficile trarre conclusioni disponendo di un solo campione.



**Figura 5.5** Variazione del parametro VTI [cm] in condizioni fisiologiche e patologiche.

## 5.2 L'impianto di CoreValve in presenza di stenosi aortica *in vitro*: valutazione delle alterazioni sulla perfusione coronarica

In questa sezione del Capitolo 5 si descrive un esperimento in cui sono stati utilizzati gli strumenti introdotti nel banco prova per lo studio delle alterazioni della portata coronarica a seguito dell'impianto di CoreValve in cuori porcini con stenosi aortica replicata *in vitro*. La prova sperimentale ha il duplice obiettivo di affrontare *in vitro* un problema clinico attuale quale l'effetto post-impianto TAVI e di mostrare, al contempo, la possibilità di utilizzare simultaneamente le due tecniche, l'ecoDoppler e lo sviluppo del modello patologico, sviluppate nei precedenti capitoli.

### 5.2.1 Protocollo di prova

Per l'esperimento si considerano due condizioni di test:

- basale sul modello **patologico**;
- impianto transcateretere di CoreValve (CV) da 29 mm, sotto guida fibroscopica.

Per le condizioni si registrano i dati idrodinamici e si conduce la misura ecoDoppler per valutare le alterazioni della perfusione coronarica a seguito dell'impianto della valvola protesica.

### 5.2.2 Risultati

I risultati sono relativi alle condizioni di lavoro caratterizzate da frequenza cardiaca a 70 bpm, SV a 70 mL e pressione all'ingresso del simulatore di impedenza sistemica  $P_{\text{sis}}$  50-90 mmHg. La scelta di considerare uno stato ipotensivo permette di ottenere due condizioni di test confrontabili. L'impianto della CoreValve comporta generalmente, *in vitro*, la formazione di un abbondante retroflusso aortico transvalvolare che non permette di ottenere valori di  $P_{\text{sis}}$  desiderati. Lo stroke volume sistolico risulta pressoché costante nelle due condizioni testate. (Tabella 5.3)

Grandezze fluidodinamiche di controllo		
	patologico	CV
$P_{\text{sis}}$ media [mmHg]	72,1 ± 1,1	52,1 ± 0,4
$Q_{\text{media}}$ [l/min]	4,0 ± 0,1	1,4 ± 0,2
$SV_s$ [ml]	63,4 ± 0,6	61,4 ± 0,9

Tabella 5.3 Parametri fluidodinamici di controllo nelle due condizioni di test.

Si mostrano in un'unica tabella le grandezze fluidodinamiche medie di valutazione calcolate per ciascuna condizione sperimentale. (Tabella 5.4)

Grandezze di valutazione		Patologico	CV
Stenosi	$\Delta P_{\text{medio}}$ sistole [mmHg]	$6,0 \pm 0,3$	$-0,6 \pm 0,2$
	$\Delta P_{\text{max}}$ [mmHg]	$23,85 \pm 1,9$	$12,1 \pm 2,7$
Insufficienza	RF stat %	$4\% \pm 1\%$	$67\% \pm 2\%$
Perfusione coronarica	VTI [cm]	$9,3 \pm 1,2$	$15,1 \pm 1,4$

Tabella 5.4 Grandezze fluidodinamiche di valutazione della stenosi, insufficienza e perfusione coronarica nelle due condizioni di test. CV: CoreValve.

L'impianto di CV risolve la stenosi, garantendo una diminuzione dei  $\Delta P$  transvalvolari sia medi sia massimi. (Figura 5.6)

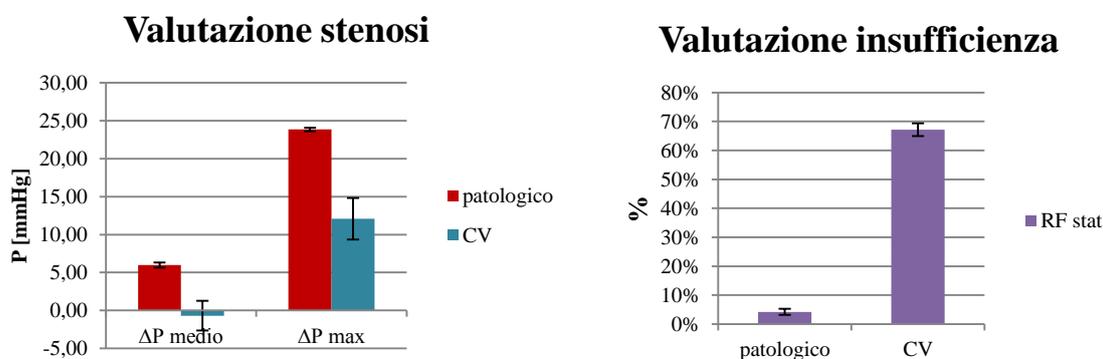


Figura 5.6 Valutazione stenosi (a sinistra) e insufficienza aortica (a destra) a seguito dell'impianto CV.

La misura ecoDoppler effettuata in entrambe le condizioni di test permette di valutare la perfusione coronarica mediante il calcolo del parametro VTI. La Figura 5.7 mostra un andamento crescente del parametro VTI che indica il miglioramento della perfusione coronarica a seguito dell'impianto della CoreValve.

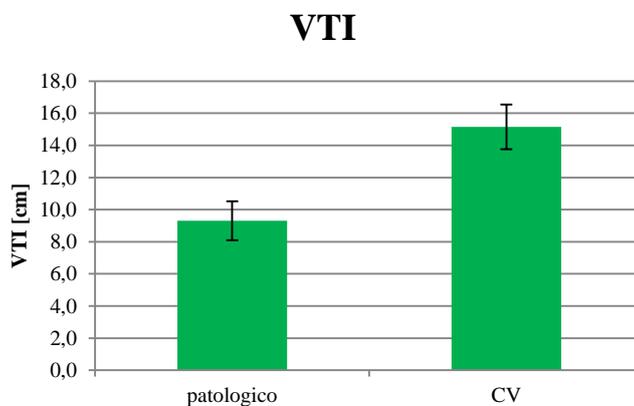
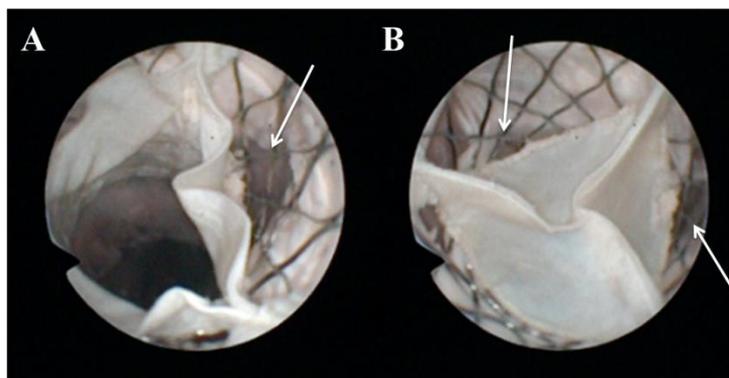


Figura 5.7 Valutazione della perfusione coronarica a seguito dell'impianto della CoreValve.

La visualizzazione diretta mediante fibroscopio (Figura 5.8) permette di osservare un'adesione non ottimale tra la valvola protesica e la valvola aortica che giustifica i valori elevati di RF statico ottenuti a seguito dell'impianto della CoreValve. (Figura 5.6)



**Figura 5.8** Snapshot del video registrato con fibroscopio. Le frecce bianche indicano i punto di scorretta adesione della CoreValve nell'anulus aortico, sia in sistole (A) che in diastole (B).

L'adesione non corretta della protesi può essere dovuta alla differente anatomia del cuore porcino rispetto a quello umano, il primo generalmente più grosso del secondo, e al “mismatch” protesi – annulus aortico porcino. Gli elevati costi del dispositivo CoreValve hanno imposto il vincolo di disporre di pochi campioni per le prove sperimentali ed obbligato la scelta di utilizzare come taglia massima quella da 29 mm benché talvolta il cuore porcino necessitasse di una taglia superiore.

### 5.3 Commenti

Dopo aver sviluppato, e caratterizzato idrodinamicamente, il modello patologico *in vitro*, si sono potute studiare le alterazioni sul flusso coronarico in presenza della stenosi aortica. Si è potuta applicare la misura ecoDoppler anche nel caso più completo di stenosi aortica e sostituzione valvolare transcateretere.

Le prove sperimentali condotte su un solo campione permettono di osservare una confrontabilità tra i valori dell'integrale velocità-tempo nei casi fisiologico e patologico. Rispetto a quanto atteso il flusso coronarico in presenza di stenosi, non diminuisce, ma si mantiene su valori di  $VTI \approx 8$  cm. Come possibile spiegazione dell'aumento della perfusione coronarica a seguito dell'impianto della CoreValve si può ipotizzare che l'introduzione della valvola transcateretere abbia comportato delle alterazioni di natura geometrica all'interno della radice aortica. Tali modificazioni possono essere responsabili

di un'alterazione della fluidodinamica locale, in particolare delle pressioni a valle della valvola aortica che inducono un aumento del VTI.

In entrambi questi studi, sia i parametri di valutazione idrodinamici, di stenosi e insufficienza, sia quello relativo alla perfusione coronarica hanno mostrato degli andamenti non discordanti rispetto a quanto atteso. Si è pertanto dimostrata l'opportunità di utilizzare congiuntamente le due tecniche introdotte nel banco prova che, a seguito delle nuove integrazioni al setup sperimentale e alla strumentazione di misura, permette di condurre delle valutazioni fluidodinamiche più realistiche e complete, poiché maggiormente orientati verso uno scenario clinico.

# CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

Il presente lavoro di tesi si è focalizzato sull'ottimizzazione di un setup sperimentale per la simulazione dell'emodinamica cardiaca *in vitro*.

Con lo sviluppo di nuove tecniche chirurgiche riparative e mini-invasive nasce l'esigenza di effettuare *in vitro* operazioni chirurgiche su campioni biologici, per cui vengono sviluppati banchi prova per la comprensione della fluidodinamica, in condizioni fisiologiche, patologiche e protesizzate, di valvole biologiche naturali. L'introduzione di strumentazione di analisi, quali l'ecografia e la registrazione di video ad elevata velocità sui complessi biologici, è premessa indispensabile per effettuare uno studio realistico delle strutture biologiche testate, che da un lato si integri con l'ambiente clinico e dall'altro possa beneficiare di approcci sempre più quantitativi.

Il confronto con i principali banchi prova allo stato dell'arte ha permesso di individuare le potenzialità e i limiti del banco prova pulsatile per cuori interi porcini, disponibile presso il ForCardioLab dell'Ospedale Sacco di Milano. Tra le criticità individuate nel setup sperimentale si è focalizzata l'attenzione su due aspetti in particolare: l'introduzione del sistema di misura ecoDoppler e lo sviluppo di un modello patologico di stenosi aortica.

La tecnica ecoDoppler è stata affiancata all'ecografia, di cui il banco prova era già dotato, e ha permesso di aggiungere all'imaging un'informazione sull'emodinamica. Con l'introduzione della metodica ecoDoppler si è fornito al personale medico uno strumento pratico e non invasivo, frequentemente utilizzato in pratica clinica, per condurre analisi quantitative sull'emodinamica coronarica. L'esame ecoDoppler, messo a disposizione del chirurgo, potrà trovare svariate applicazioni, come lo studio *in vitro* sull'emodinamica cardiaca di tecniche chirurgiche di riparazione valvolare e di impianti di protesi valvolari.

Con il modello patologico sviluppato è stato possibile ottenere *in vitro* cuori porcini con stenosi aortica severa; il metodo proposto ha il vantaggio di replicare le condizioni patologiche *in vivo* e permette pertanto al clinico di studiare gli effetti di tecniche di

riparazione e di impianti di dispositivi in uno scenario sperimentale molto simile a quello di norma presente in sala operatoria.

I due fronti sperimentali sviluppati possono inoltre essere utilizzati congiuntamente per effettuare delle valutazioni fluidodinamiche complete e sempre più raffrontabili alla realtà clinica e, nella presente tesi, si sono fornite proposte indicazioni per condurre delle future campagne sperimentali per la valutazione degli effetti emodinamici della stenosi aortica e dell'impianto di una protesi valvolare.

A fronte dei vantaggi descritti, il lavoro svolto ha messo in luce alcune criticità che dovranno essere oggetto di miglioramento nell'immediato futuro. Il primo punto critico, relativo alla tecnica ecoDoppler, è insito nel tipo di misura operatore-dipendente e alla precisione dello strumento, per il quale il minimo spostamento della sonda provoca variazioni significative nei profili di velocità registrati. Per ovviare a questo limite può essere utile predisporre il banco per l'utilizzo di cateteri Doppler (DGW, dall'acronimo inglese Doppler Guide-Wire), i quali consentono di effettuare misure accurate della velocità anche da un piccolo campione volumetrico posto accanto o davanti alla punta del catetere. Pertanto possono essere applicati nella misurazione della velocità del flusso coronarico e, poiché posizionati in asse col vaso coronarico, possono consentire misure con angolo di insonazione sostanzialmente nullo, senza disturbi legati al tessuto vasale e muscolare cardiaco.

Il secondo punto critico riguarda l'impiego dell'acqua demineralizzata con una sospensione particolata, che simula esclusivamente i globuli rossi del sangue e non la sua viscosità. L'utilizzo di questo fluido di lavoro, pur concedendo la valutazione della fluidodinamica cardiaca mediante la tecnica ecoDoppler, limita la possibilità di confrontare i risultati sperimentali con i dati clinici. Tale criticità può essere superata ricorrendo ad un fluido che simuli anche la viscosità corretta del sangue. Ciò comporterebbe la necessità di riprogettare gli elementi resistivi del simulatore di impedenza sistemica del setup sperimentale, utilizzato nel presente lavoro.

Lo svantaggio principale del modello patologico sviluppato consiste nella scarsa replicabilità del grado di stenosi. Idealmente, un modello patologico, dovrebbe consentire l'introduzione di un'alterazione funzionale alle strutture cardiache che sia controllabile e

facilmente regolabile. Nonostante la sutura commissurale introdotta nel protocollo di ottenimento di valvole stenotiche abbia permesso di aumentare la controllabilità del modello, i foglietti aortici calcifici prelevati *in vivo* non presentano mai la stessa quantità e conformazione di agglomerati di calcio, per cui, pur ricoprendo con perizia tutta la superficie del foglietto, risulta difficile identificare a priori il grado di stenosi. L'esperienza e la manualità dell'operatore nell'incollaggio dei depositi calcifici influiscono inoltre sulla corretta replicazione della patologia. Infine i lunghi tempi di incollaggio e asciugatura sono svantaggiosi per il chirurgo. Per migliorare la tecnica di replicazione della stenosi *in vitro* si potrebbe modellare la struttura tipica delle calcificazioni valvolari, ottenendo quindi dei modelli 3D delle geometrie caratteristiche dei depositi calcifici. Successivamente tali geometrie potrebbero essere riprodotte con un materiale rigido artificiale attraverso tecniche di stampa 3D. Pur rinunciando in parte a riprodurre *in vitro* la realtà fisiopatologica, si avrebbe il notevole vantaggio, con la soluzione proposta, di riuscire a controllare il grado di stenosi senza rinunciare, al tempo stesso, alla praticità del metodo di incollaggio.

# BIBLIOGRAFIA

1. Leopaldi, A.M., et al., *In vitro hemodynamics and valve imaging in passive beating hearts*. Journal of biomechanics, 2012. **45**(7): p. 1133-1139.
2. Hozumi, T., et al., *Noninvasive Assessment of Significant Left Anterior Descending Coronary Artery Stenosis by Coronary Flow Velocity Reserve With Transthoracic Color Doppler Echocardiography*. Circulation, 1998. **97**(16): p. 1557-1562.
3. Ramnarine, K.V., et al., *Validation of a New Blood-Mimicking Fluid for Use in Doppler Flow Test Objects*. Ultrasound in Medicine & Biology, 1998. **24**(3): p. 451-459.
4. Alberto M. Leopaldi, L.V., *Sviluppo di un banco prova pulsatile per l'analisi fluidodinamica e cinematica di valvole cardiache su cuore porcino isolato*, in *Facoltà di Ingegneria dei Sistemi*. 2009-2010, Politecnico di Milano: Milano.
5. Hozumi, T., et al., *Noninvasive assessment of coronary flow velocity and coronary flow velocity reserve in the left anterior descending coronary artery by Doppler echocardiography: Comparison with invasive technique*. Journal of the American College of Cardiology, 1998. **32**(5): p. 1251-1259.
6. Bahler, R.C., et al., *Factors leading to progression of valvular aortic stenosis*. The American Journal of Cardiology, 1999. **84**(9): p. 1044-1048.
7. Magagnin, V., et al., *Nearly automated analysis of coronary Doppler flow velocity from transthoracic ultrasound images: validation with manual tracings*. Medical & Biological Engineering & Computing, 2007. **45**(5): p. 483-493.
8. Lambertini, G., *Manuale di anatomia dell'uomo*, ed. P. Editore. 1968, Padova.
9. Netter, F.H., *Atlante di Anatomia Umana*, Elsevier, Editor. 2007: Milano.
10. Underwood, M.J., et al., *The aortic root: structure, function, and surgical reconstruction*. Heart, 2000. **83**(4): p. 376-80.
11. Sutton, J.P., 3rd, S.Y. Ho, and R.H. Anderson, *The forgotten interleaflet triangles: a review of the surgical anatomy of the aortic valve*. Ann Thorac Surg, 1995. **59**(2): p. 419-27.
12. Zamir, M., *The Physics of Coronary Blood Flow*, ed. Springer. 2005, New York.
13. Berne, R., *Principi di fisiologia*, ed. C.E. Ambrosiana. 2002, Milano.
14. Crepaldi, *Malattie del cuore e dei vasi*, ed. P. Editore. 2002, Padova.
15. Vahanian, A., et al., *Guidelines on the management of valvular heart disease: The Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology*. Eur Heart J, 2007. **28**(2): p. 230-68.
16. Cribier, A., et al., *Percutaneous transluminal valvuloplasty of acquired aortic stenosis in elderly patients: an alternative to valve replacement?* The Lancet, 1986. **327**(8472): p. 63-67.
17. Haberthür, D., et al., *Percutaneous aortic valve replacement: valvuloplasty studies in vitro*. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 2011. **39**(5): p. 631-634.
18. Iung, B., et al., *Valvular Heart Disease in the Community: A European Experience*. Current Problems in Cardiology, 2007. **32**(11): p. 609-661.

19. Cribier, A., et al., *Percutaneous transcatheter implantation of an aortic valve prosthesis for calcific aortic stenosis: first human case description*. *Circulation*, 2002. **106**(24): p. 3006-8.
20. Al-Lamee, R., C. Godino, and A. Colombo, *Transcatheter Aortic Valve Implantation: Current Principles of Patient and Technique Selection and Future Perspectives*. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 2011. **4**(4): p. 387-395.
21. Willson, J.R.-C., *Transcatheter Aortic Valve Replacement With the St. Jude Medical Portico Valve*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2012. **60**(7): p. 581.
22. Azadani, T., *Aortic Valve-in-Valve Implantation: Impact of Transcatheter-Bioprostheses Size Mismatch*. *Journal of Heart Valve Disease*, 2009. **18**(4): p. 7.
23. Azadani, A.N., et al., *Transcatheter aortic valves inadequately relieve stenosis in small degenerated bioprostheses*. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, 2010. **11**(1): p. 70-77.
24. Napodano, M., et al., *Performance of valve-in-valve for severe para-prosthetic leaks due to inadequate transcatheter aortic valve implantation*. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2011. **78**(7): p. 996-1003.
25. Khawaja, M.Z., et al., *Transcatheter Aortic Valve Implantation for Stenosed and Regurgitant Aortic Valve Bioprostheses*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2010. **55**(2): p. 97-101.
26. Rodés-Cabau, J., *Transcatheter aortic valve implantation: current and future approaches*. *Nature Reviews Cardiology*, 2011. **9**(1): p. 15-29.
27. Clavel, M.-A., et al., *Comparison of the Hemodynamic Performance of Percutaneous and Surgical Bioprostheses for the Treatment of Severe Aortic Stenosis*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2009. **53**(20): p. 1883-1891.
28. Smith, *Transcatheter versus Surgical Aortic-Valve Replacement in High-Risk Patients*. *N. Engl. J. Med.*, 2011. **364**: p. 11.
29. Azadani, A.N., et al., *Energy Loss Due to Paravalvular Leak With Transcatheter Aortic Valve Implantation*. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2009. **88**(6): p. 1857-1863.
30. Leon, M.B., et al., *Standardized endpoint definitions for transcatheter aortic valve implantation clinical trials: a consensus report from the Valve Academic Research Consortium*. *Eur Heart J*, 2011. **32**(2): p. 205-17.
31. Cornhill, J.F., *An aortic--left ventricular pulse duplicator used in testing prosthetic aortic heart valves*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1977. **73**(4): p. 550-8.
32. Verdonck, P.R., et al., *Mock loop testing of On-x prosthetic mitral valve with Doppler echocardiography*. *Artif Organs*, 2002. **26**(10): p. 872-8.
33. Vismara, R., et al., *A novel approach to the in vitro hydrodynamic study of the aortic valve: mock loop development and test*. *Asaio J*, 2010. **56**(4): p. 279-84.
34. Vismara, R. and G.B. Fiore, *Beat-rate dependent mitral flow patterns for in vitro hemodynamic applications*. *Int J Artif Organs*, 2010. **33**(12): p. 868-76.
35. Vismara, R., et al., *Experimental setup to evaluate the performance of percutaneous pulmonary valved stent in different outflow tract morphologies*. *Artif Organs*, 2009. **33**(1): p. 46-53.
36. Arita, M., et al., *Multiple Purpose Simulator Using a Natural Porcine Mitral Valve*. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*, 2004. **12**(4): p. 350-356.

37. Chinchoy, E., et al., *Isolated four-chamber working swine heart model*. The Annals of Thoracic Surgery, 2000. **70**(5): p. 1607-1614.
38. Araki, Y., et al., *Pressure–volume relationship in isolated working heart with crystalloid perfusate in swine and imaging the valve motion*. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 2005. **28**(3): p. 435-442.
39. Hill, A.J., et al., *In Vitro Studies of Human Hearts*. The Annals of Thoracic Surgery, 2005. **79**(1): p. 168-177.
40. Richards, A., et al., *A Dynamic Heart System to Facilitate the Development of Mitral Valve Repair Techniques*. Annals of Biomedical Engineering, 2009. **37**(4): p. 651-660.
41. Lanzarone, E., R. Vismara, and G.B. Fiore, *A New Pulsatile Volumetric Device With Biomorphic Valves for the In Vitro Study of the Cardiovascular System*. Artificial Organs, 2009. **33**(12): p. 1048-1062.
42. Swanson, W.M. and R.E. Clark, *A simple cardiovascular system simulator: design and performance*. J Bioeng, 1977. **1**(2): p. 135-45.
43. Reul, H., N. Talukder, and E.W. Müller, *Fluid mechanics of the natural mitral valve*. Journal of biomechanics, 1981. **14**(5): p. 361-372.
44. Leopaldi, A.M., et al., *Intracardiac Visualization of Transcatheter Aortic Valve and Valve-in-Valve Implantation in an In Vitro Passive Beating Heart*. JACC: Cardiovascular Interventions, 2013. **6**(1): p. 92-93.
45. Kapolos, J., et al., *Model experimental system for investigation of heart valve calcification in vitro*. J Biomed Mater Res, 1997. **38**(3): p. 183-90.
46. Pettenazzo, E., et al., *Dynamic in vitro calcification of bioprosthetic porcine valves: evidence of apatite crystallization*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001. **121**(3): p. 500-9.
47. Deiwick, M., et al., *In vitro testing of bioprostheses: influence of mechanical stresses and lipids on calcification*. Ann Thorac Surg, 1998. **66**(6 Suppl): p. S206-11.
48. Azadani, A.N., et al., *Valve-in-Valve Implantation Using a Novel Supravalvular Transcatheter Aortic Valve: Proof of Concept*. The Annals of Thoracic Surgery, 2009. **88**(6): p. 1864-1869.
49. Doucette, J.W., et al., *Validation of a Doppler guide wire for intravascular measurement of coronary artery flow velocity*. Circulation, 1992. **85**(5): p. 1899-911.
50. He, X. and D.N. Ku, *Pulsatile flow in the human left coronary artery bifurcation: average conditions*. J Biomech Eng, 1996. **118**(1): p. 74-82.
51. Briand, M., et al., *Reduced Systemic Arterial Compliance Impacts Significantly on Left Ventricular Afterload and Function in Aortic Stenosis: Implications for Diagnosis and Treatment*. Journal of the American College of Cardiology, 2005. **46**(2): p. 291-298.
52. Garcia, D., et al., *Impairment of coronary flow reserve in aortic stenosis*. Journal of Applied Physiology, 2009. **106**(1): p. 113-121.