



UNIVERSITÀ
DI PAVIA

FACOLTA' DI INGEGNERIA
DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA CIVILE E ARCHITETTURA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA

TESI DI LAUREA

**REALIZZAZIONE DI MODELLI DI AORTA TORACICA
FISIOLOGICA *PATIENT-SPECIFIC* PER LO STUDIO IN VITRO DEL
FLUSSO TRAMITE TECNICHE VELOCIMETRICHE**

Candidato: **Matteo Pibiri**
MAT 449597

Relatore: Prof. **Ferdinando Auricchio**
Relatore: Prof.ssa **Palmina Petruzzo**

A.A. 2018/2019

Abstract

L'obiettivo di questo lavoro è studiare la dinamica, tramite l'utilizzo di tecniche velocimetriche, di un fluido all'interno di un'aorta toracica fisiologica *patient specific* realizzata in laboratorio. Lo scopo è di poter comprendere quali fenomeni fluidodinamici avvengono all'interno di un'aorta toracica fisiologica durante il ciclo cardiaco e di poterli studiare grazie all'utilizzo di un sistema che modella la circolazione sistemica in vitro. Il sistema utilizzato è il Duplicatore d'Impulso presente nel laboratorio di Idraulica dell'Università di Cagliari.

Il vantaggio di utilizzare un sistema in vitro è la possibilità di riprodurre un determinato esperimento infinite volte allo stesso modo e dunque poter studiare le caratteristiche di interesse eliminando la variabilità soggettiva dello studio in vivo. Inoltre, la modellazione fisica dell'emodinamica nell'aorta di un paziente può servire come supporto all'interpretazione delle immagini diagnostiche.

Per la realizzazione delle aorte si è partiti da immagini TC acquisite dall'Azienda Ospedaliera Brotzu di Cagliari che sono state segmentate e rimodelate. Successivamente le aorte sono state stampate in 3D e i modelli stampati sono stati utilizzati come stampo per ottenere i modelli in silicone trasparente.

Sono poi stati analizzati i risultati ottenuti tramite l'interpretazione dei campi di velocità del fluido, della vorticità, dello sforzo di taglio, dell'energia cinetica turbolenta e degli esponenti di Ljapunov a tempo finito.

Abstract

The purpose of the present study is to understand fluid dynamic phenomena occurring in a healthy thoracic aorta during the cardiac cycle. In order to study the dynamics of a fluid within a patient specific thoracic aorta phantom made in laboratory, velocimetric techniques were used thanks to a Pulse Duplicator, a device that reproduces systemic circulation *in vitro*.

For the realization of aortas we started from CT images acquired by the Department of Radiology at the Brotzu Hospital of Cagliari which were segmented and remodelled. Subsequently the aortas were printed in 3D and the printed models were used as a mold to produce transparent silicon phantoms.

Finally, the results obtained by interpreting the velocity fields of the fluid, vorticity, shear stress, turbulent kinetic energy and finite-time Ljapunov exponents were analyzed.

The advantage of using an *in vitro* system is the possibility of reproducing a specific experiment in the same way over and over and studying the characteristics of interest by eliminating the subjective variability of *in vivo* studies. Furthermore, the physical hemodynamic modelling in a patient's aorta can be used as support to the interpretation of diagnostic images.

Indice

INTRODUZIONE.....	1
1. L’AORTA.....	5
1.1 ANATOMIA.....	5
1.2 AORTA ASCENDENTE.....	6
1.3 ARCO AORTICO.....	6
1.4 AORTA TORACICA.....	6
1.5 AORTA ADDOMINALE.....	8
1.6 ISTOLOGIA.....	8
1.7 DIAMETRI AORTICI.....	10
2. CENNI DI FLUIDODINAMICA.....	15
2.1 DERIVAZIONE DELLE EQUAZIONI DI NAVIER-STOKES.....	16
2.1.1 Equazione di continuità.....	16
2.1.2 Bilancio della quantità di moto.....	17
2.1.3 Equazioni di Navier-Stokes.....	19
2.1.4 Adimensionalizzazione.....	20
2.1.5 Numero di Reynolds.....	21
2.1.6 Legge di Hagen-Poiseuille.....	22
2.1.7 Numero di Womersley.....	22
3. DUPLICATORE D’IMPULSO.....	24
3.1 PROPRIETÀ DEL SANGUE.....	25
3.2 GEOMETRIA E PARETE AORTICA.....	26
3.3 DUPLICATORI ESISTENTI.....	27
3.4.1 Duplicatore di Yoganathan.....	28
3.4.2 Duplicatore di Aquisgrana.....	29
3.4.3 Duplicatore di Sheffield.....	31
3.4.4 Duplicatore Vivitro.....	32
4. TECNICHE VELOCIMETRICHE.....	35
4.1 PARTICLE IMAGE VELOCIMETRY.....	35
4.1.1 Fluido e particelle.....	37
4.1.2 Laser.....	38
4.1.3 Fotocamera.....	39
4.1.4 Analisi delle immagini.....	39

4.2 PARTICLE TRACKING VELOCIMETY	40
4.3 FEATURE TRACKING ALGORITHM	41
5. STAMPA 3D.....	43
5.1 MATERIALI.....	45
5.2 APPLICAZIONI BIOMEDICHE.....	46
5.3 PROCESSO DI REALIZZAZIONE.....	47
5.4 FILE STL.....	48
6. APPARATO SPERIMENTALE	50
6.1 DUPLICATORE D'IMPULSO	50
6.2 MOTORE.....	52
6.3 ACQUISIZIONE E ANALISI DELLE IMMAGINI	55
6.4 REALIZZAZIONE DEI MODELLI AORTICI.....	59
6.5 REALIZZAZIONE VALVOLA AORTICA	63
6.6 EVOLUZIONE DEL DUPLICATORE D'IMPULSO	64
7. RISULTATI	67
7.1 ANALISI VELOCIMETRICHE SUL MODELLO DI AORTA RETTILINEO .	67
7.1.1 Linee di Corrente.....	68
7.1.2 Vorticità.....	71
7.1.3 Energia cinetica Turbolenta.....	75
7.1.4 Shear Rate.....	77
7.1.5 Esponenti di Lyapunov a Tempo Finito (FTLE).....	80
7.2 ANALISI VELOCIMETRICHE PRELIMINARI SU MODELLO DI AORTA FISIOLOGICA INTERA	84
7.2.1 Linee di corrente.....	85
7.2.2 Vorticità.....	87
CONCLUSIONI.....	89
BIBLIOGRAFIA.....	92

INTRODUZIONE

Le patologie cardiovascolari costituiscono uno dei più importanti problemi di salute pubblica essendo tra le principali cause di morbidità, invalidità e mortalità. Le sindromi aortiche sono piuttosto comuni con l'avanzare dell'età, costituendo spesso delle urgenze chirurgiche.

Lo studio della dinamica del flusso ematico all'interno dell'aorta sana risulta necessario per la comprensione della genesi e della progressione di queste patologie.

Il flusso sanguigno all'interno dell'aorta è stato ed è tutt'ora ampiamente studiato utilizzando le tecniche di diagnostica per immagini, che permettono l'acquisizione di dati estremamente ricchi ed informativi, tuttavia difficili da interpretare (De Tullio et al., 2009; Marom et al., 2013). Inoltre, nelle analisi *in vivo*, l'identificazione di alcuni fenomeni fluidodinamici risulta complessa a causa delle variabilità individuali e della non replicabilità di tali tecniche.

Gli esperimenti *in vitro* permettono la risoluzione di alcune problematiche insite negli studi *in vivo*, al costo di un'inevitabile riproduzione schematica della realtà. Infatti, il vantaggio degli studi *in vitro* è il poter lavorare in condizioni ripetibili e di poter condurre esperimenti in modo sistematico.

Il presente lavoro si inserisce all'interno di un progetto coordinato tra il Dipartimento di Ingegneria Civile, Ambientale e Architettura (DICAAR) dell'Università di Cagliari, il reparto di radiologia dell'Azienda Ospedaliera Brotzu (AOB) e il Policlinico di Monserrato (Ca).

Gli obiettivi di questo esposto sono la realizzazione di due modelli di aorta toracica sana *patient-specific* in silicone, partendo da immagini acquisite tramite Tomografia Computerizzata con mezzo di contrasto, e l'analisi dei flussi al loro interno.

E' stato deciso di procedere incrementando la difficoltà di realizzazione partendo inizialmente da un modello che descrive la radice aortica e il tratto ascendente, e poi da un modello che riproduce un'intera aorta toracica.

Il flusso all'interno dei modelli è stato riprodotto *in vitro* grazie a un Duplicatore d'Impulso, un dispositivo che mima la circolazione sistemica, e successivamente analizzato tramite tecniche velocimetriche.

Nella prima parte si andranno a descrivere l'anatomia e la fisiologia di un'aorta toracica sana, le leggi che governano la fluidodinamica all'interno dei vasi, i duplicatori d'impulso più importanti presenti in letteratura e verrà descritto lo stato dell'arte della stampa 3D.

Nella seconda parte verrà esposto l'apparato sperimentale utilizzato per le analisi del flusso e la tecnica di realizzazione dei modelli aortici in silicone.

Verranno poi analizzati i risultati ottenuti tramite l'interpretazione dei campi di velocità del fluido, della vorticità, dello sforzo di taglio, dell'energia cinetica turbolenta e degli esponenti di Ljapunov a tempo finito.

1. L'AORTA

1.1 Anatomia

L'aorta rappresenta il principale vaso arterioso del corpo umano dal quale prendono origine tutte le arterie della circolazione generale.

Nasce dal ventricolo sinistro del cuore, si dirige dapprima in alto, poi si incurva indietro girando attorno al peduncolo del polmone sinistro, quindi discende verticalmente e percorre la cavità del torace e dell'addome. Al livello della quarta vertebra lombare dà origine alle arterie iliache comuni. Dato questo percorso si possono considerare nell'aorta diversi segmenti, che sono rispettivamente, la radice aortica, l'aorta ascendente, l'arco aortico e l'aorta discendente. Ciascuno di questi segmenti fornisce rami collaterali ed in conseguenza il calibro dell'aorta va diminuendo dall'origine alla terminazione.

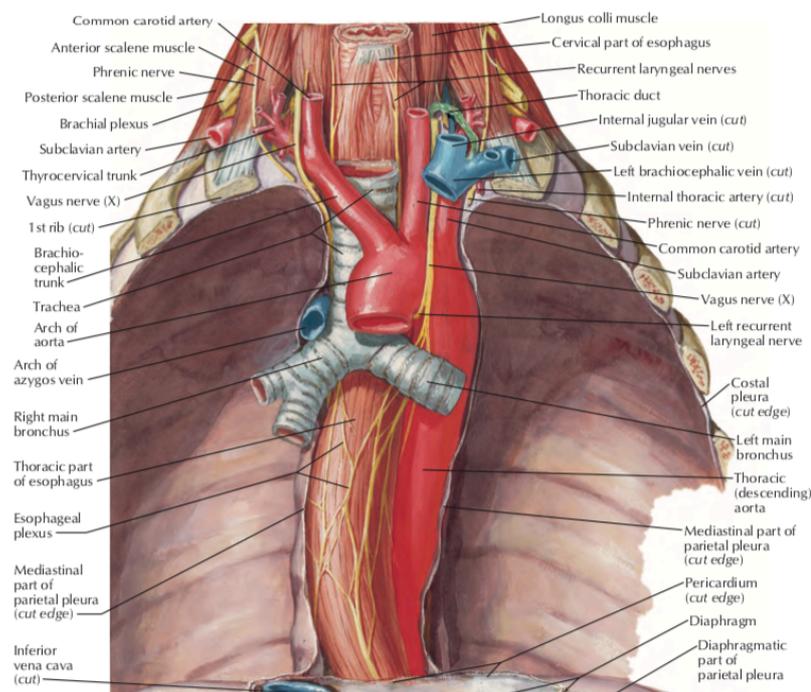


Figura 1. Vista frontale di un'aorta toracica fisiologica (Netter, 1989)

1.2 Aorta Ascendente

Nasce dall'orifizio arterioso del ventricolo sinistro e si dirige in alto, in avanti e a destra, descrivendo una leggera curva con la concavità verso l'alto. Dopo un percorso di circa 5 cm cambia direzione, portandosi indietro e a sinistra, e continua nell'arco aortico.

Il suo diametro medio è di 29 mm. Tuttavia alla sua origine presenta una dilatazione, il bulbo, determinata dalla presenza di tre insenature, i seni del Valsalva, uno posteriore e due anteriori, che all'esterno si mostrano come rigonfiamenti emisferici.

L'aorta ascendente è contenuta nel sacco pericardico ed è racchiusa in una guaina insieme all'arteria polmonare.

1.3 Arco Aortico

Fa seguito all'aorta ascendente. Descrive una curva a concavità inferiore che contorna il peduncolo del polmone sinistro. Si estende dall'attaccatura allo sterno della seconda cartilagine costale destra fino al lato sinistro del corpo della quarta vertebra toracica.

Il calibro in principio è uguale a quello dell'aorta ascendente, ma si riduce considerevolmente fino a circa 20 mm, dopo che l'arco ha dato origine ai rami collaterali.

1.4 Aorta Toracica

L'aorta toracica ha inizio sul lato sinistro del margine inferiore della quarta vertebra toracica; discende nel mediastino posteriore e termina al livello della dodicesima vertebra toracica, nell'atto che attraversa l'orifizio aortico del diaframma.

Ha una lunghezza media di 17.5-20 cm, ha un diametro medio di 22 mm e, poiché i rami collaterali che fornisce sono di piccolo calibro, d'alto in basso si riduce pochissimo di diametro.

L'aorta toracica si suddivide in: aorta ascendente, arco aortico e aorta discendente.

L'aorta toracica ascendente nasce dal ventricolo sinistro, incrocia l'arteria polmonare che le sta davanti e si dirige in alto, a destra e in avanti; poi all'altezza del margine sternale destro piega verso sinistra e indietro formando l'arco aortico che scavalca il bronco principale sinistro e quindi torna ad allontanarsi dalla parete. L'inizio dell'arco dell'aorta viene a corrispondere al secondo spazio intercostale di destra, al limite sternale.

L'aorta discendente nasce subito dopo l'origine dell'arteria succlavia sinistra (istmo dell'aorta) e termina al livello dello iatus aortico del diaframma.

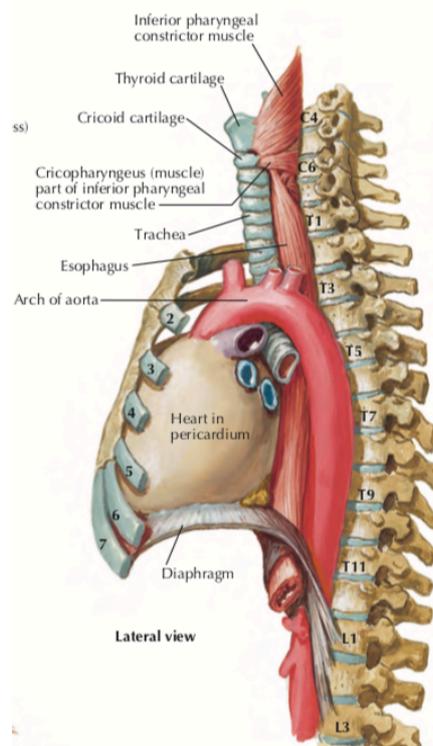


Figura 2. Vista laterale aorta toracica (Netter, 1989)

1.5 Aorta Addominale

Dopo aver attraversato l'orifizio aortico del diaframma, l'aorta prende nome di aorta addominale. Incomincia a livello della dodicesima vertebra toracica, discende sulla faccia anteriore del corpo delle vertebre lombari, un po' a sinistra del piano mediano, e termina a livello della quarta vertebra lombare dove dà origine alle arterie iliache comuni.

La sua lunghezza media è di 13 cm, ha un diametro in origine di 21 mm che va riducendosi fino a 17 mm alla sua terminazione in conseguenza della emissione di grossi rami collaterali (Chiarugi e Bucciante, 1972)

1.6 Istologia

La parete aortica è formata da tre strati che, dall'interno verso l'esterno, sono rispettivamente tonaca intima, tonaca media e tonaca avventizia.

La tonaca intima consiste in uno strato endoteliale che copre lo strato mio-intimale di matrice interstiziale e di cellule muscolari lisce. Lo strato endoteliale svolge una funzione fondamentale per la prevenzione dell'adesione ed aggregazione piastrinica con conseguente formazione di trombi.

La tonaca media, invece, garantisce la funzione elastica dell'aorta e rappresenta il 90% dello spessore del vaso. E' costituita fondamentalmente da unità lamellari, in particolare lamine elastiche, che vanno a diminuire in numero nel tratto addominale. Interposte tra le lamine sono presenti cellule muscolari lisce e matrice interstiziale con fibre collagene e sostanza fondamentale. Le fibre elastiche sembrerebbero essere costituenti perenni, a differenza delle cellule muscolari lisce e della matrice fondamentale che sarebbero soggette a ricambio; tuttavia la biologia cellulare e molecolare della tonaca media risulta ancora essere poco conosciuta.

La tonaca avventizia, ovvero lo strato più esterno, è composta da connettivo lasso con fibre collagene e fibre elastiche che racchiude nervi, vasi linfatici, piccole arterie e piccole vene, quest'ultime chiamate nel loro insieme vasa vasorum. I vasa vasorum penetrano nella tonaca media dell'aorta toracica e la irrorano; in questo modo essa risulta irrorata sia dal lume sia dai vasa vasorum dell'avventizia; mentre nell'aorta addominale ciò non succede, dunque la sua tonaca media viene irrorata esclusivamente dal lume.

Istologicamente il percorso aortico è composto da lamelle elastiche, che sono prevalentemente distribuite lungo il lume del vaso, e da tessuto connettivale, posizionato verso l'esterno della parete. Inoltre, è presente una prevalenza istologica di tessuto connettivale più rigido e resistente a livello della giunzione dell'aorta ascendente col ventricolo sinistro, ovvero la giunzione ventricolo arteriosa, in modo tale da formare la base della radice aortica. Invece, le pareti dell'aorta ascendente sono ricche di tessuto elastico, infatti sono possibili sedi di patologie che interessano il tessuto connettivo.

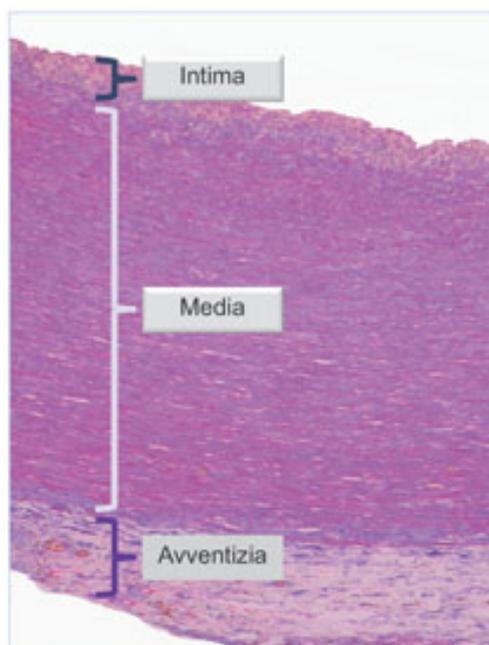


Figura 3. Istologia parete aortica (d'Amati et al., 2014)

1.7 Diametri Aortici

L'evoluzione del diametro dell'aorta toracica è stata oggetto di numerosi studi in quanto rappresenta un parametro fondamentale per l'analisi dei flussi aortici e delle sue anomalie.

Le dimensioni aortiche variano in funzione di diversi parametri e non esistono misure univocamente riconosciute. Infatti, i diametri aortici possono cambiare a seconda della razza, dell'età, del sesso e della body surface area (BSA). Inoltre, le misure ottenute dipendono fortemente dalla metodologia di imaging utilizzata per ricavarle.

Dunque non esistono dimensioni univoche come si evince dai due seguenti studi che propongono differenti misure.

Nello studio realizzato da Hager et al.(2002), effettuato su 70 pazienti di sesso, età e BSA variabili, sono stati misurati i diametri medi tramite TC elicoidale.

I dati demografici dei soggetti presi in esame sono riportati in tabella.

	Donne	Uomini	Totale
Numero	24	46	70
Età (anni) (media±SD)	49.6±19.1	50.5±15.2	50.2±16.5
Range	17-89	19-77	17-89
Peso (kg) (media±SD)	64.3±14.9	77.6±14.2	73.1±15.7
Range	41-104	46-106	41-106
Altezza (cm) (media±SD)	165.9±6.6	175.8±7.3	172.4±8.2
Range	150-179	159-199	150-199
BSA (m ²) (media± SD)	1.70±0.19	1.93±0.19	1.85±0.22
Range	1.33-2.15	1.62-2.43	1.33-2.43

Tabella 1. Dati demografici dei pazienti in esame. Tabella elaborata nello studio di Hager et al.(2002)

I diametri sono stati misurati in corrispondenza di sette livelli aortici come riportato in figura.

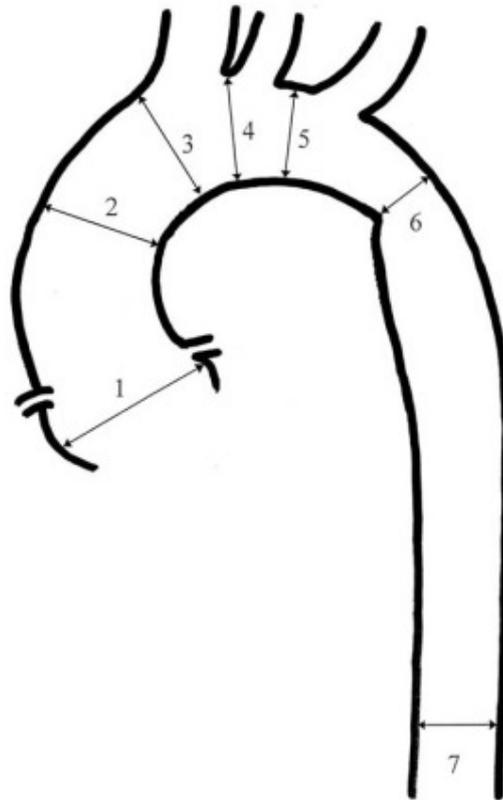


Figura 4. Diametri calcolati (Hager et al.,2002)

Le misurazioni ottenute sono state riportate come: diametro medio \pm la deviazione standard:

- 1) 2.98 ± 0.46 cm a livello del seno valvolare aortico
- 2) 3.09 ± 0.41 cm a livello dell'aorta ascendente
- 3) 2.94 ± 0.42 cm a livello dell'arteria anonima
- 4) 2.77 ± 0.37 cm a livello dell'arco trasverso prossimale
- 5) 2.61 ± 0.41 cm a livello dell'arco trasverso distale
- 6) 2.47 ± 0.40 cm a livello dell'istmo
- 7) 2.43 ± 0.35 cm a livello del diaframma

Lo studio di Redheuil et al.(2011), riporta l'analisi di 108 pazienti di nazionalità americana, in particolare di Baltimora. I criteri di selezione erano: assenza di controindicazioni alla risonanza magnetica, assenza di malattia acuta o cronica, nessuna storia personale o sintomi di malattia cardiaca, esame fisico normale e normale elettrocardiogramma.

Per quanto riguarda l'acquisizione e l'analisi delle immagini è stato utilizzata una MRI 3.0 T (Trio Tim, Siemens, Monaco, Germania) utilizzando gating elettrocardiografico (ECG).

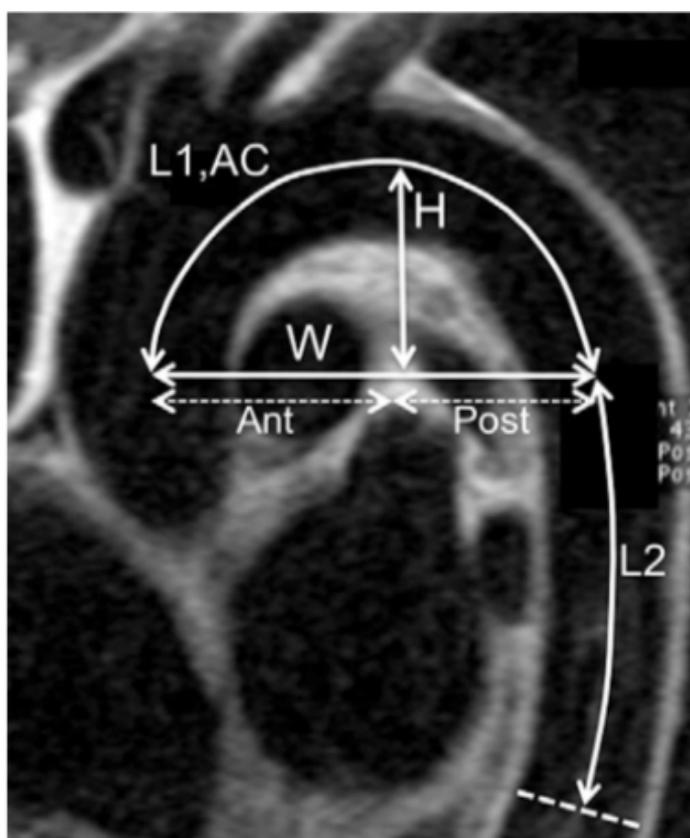


Figura 5. Vista sagittale obliqua dell'aorta toracica utilizzando un'acquisizione MRI che illustra le misurazioni aortiche (Redheuil et al.,2011).

Le grandezze riportate in figura rappresentano rispettivamente la curvatura media dell'arco (AC), l'altezza dell'arco (H), la lunghezza

dell'arco aortico (L1), la lunghezza dell'aorta discendente (L2), la larghezza dell'arco posteriore (post) e la larghezza dell'arco (W).

Dei 108 partecipanti selezionati, 6 non hanno completato una risonanza magnetica a causa di claustrofobia e 2 non hanno completato il protocollo. Dunque in totale sono stati analizzati 100 pazienti di cui: 55 donne e 45 uomini, con età media 46 ± 16 anni, con un range da 20 a 84 anni.

Di seguito si riportano le misure rilevate.

	Età<30 anni	Età>70 anni	Cambiamento medio annuale	Cambiamento relativo
Diametro aorta ascendente (mm)	27.5±2.8	33.2±4.3	+0.11	+21%
Lunghezza arco aortico (mm)	100.4±7.1	130.9±13.9	+0.60	+30%
Spessore arco aortico (mm)	58.6±4.7	78.5±8.7	+0.40	+34%
Altezza arco aortico (mm)	34.3±2.9	41.5±4.5	+0.14	+21%
Curvatura arco aortico (mm ⁻¹)	0.034±0.002	0.027±0.003	-0.14x10 ⁻³	-21%
Diametroaorta discendente prossimale (mm)	20.5±1.6	24.3±1.7	+0.08	+19%
Diametro aorta discendente distale (mm)	18.3±1.4	21.5±3.2	+0.06	+17%
Lunghezza aorta discendente (mm)	139.3±15.8	142.6±13.3	+0.07	+2%

Tabella 2. Risultati ottenuti dallo studio di Redheuil et al.(2011)

Questi due studi evidenziano come le dimensioni aortiche possono cambiare notevolmente in funzione di molti parametri. Per questo motivo risulta impossibile stilare delle dimensioni medie della popolazione mondiale. Dunque, è necessario fissare alcuni di questi parametri, come ad esempio la razza, l'altezza e il peso, e proporre il proprio studio in funzione di quest'ultimi. Questo concetto risulta fondamentale per lo

studio *in vitro* proprio per la scelta della geometria del modello aortico preso in esame.

Inoltre, è stato evidenziato come l'invecchiamento sia correlato ad una lenta ma progressiva dilatazione aortica causata probabilmente da un più alto rapporto collagene-elastina combinato ad un aumento della rigidità della parete e della pressione di pulsazione.

2. CENNI DI FLUIDODINAMICA

Il comportamento dinamico di un fluido, come il sangue, all'interno di un dominio, come un vaso, viene descritto da un sistema di equazioni chiamate Equazioni di Navier-Stokes. Queste equazioni furono inizialmente proposte nel 1822 da Claude Louis Navier, ma furono completate nel 1845 da George Gabriel Stokes perché il modello reologico proposto dall'ingegnere francese non era adatto per alcuni materiali, come i fluidi.

Il sistema di equazioni finale assume il fluido come un materiale continuo, dunque non costituito da particelle discrete. Prendendo in considerazione il sangue, questa ipotesi non vale nei piccoli vasi e nei capillari perché la dimensione del globulo rosso diventa paragonabile a quella del vaso e dunque è necessario considerare il sangue come materiale discreto. Nei grandi vasi invece è trascurabile la natura discreta del sangue.

Le equazioni di Navier-Stokes sono equazioni differenziali alle derivate parziali non lineari, difficili da risolvere analiticamente, dunque la maggior parte delle volte è disponibile solo la soluzione numerica.

Inoltre all'interno dei grandi vasi, il sangue può essere considerato:

- Newtoniano: la sua viscosità rimane costante, dunque la relazione tra shear stress e shear rate è lineare;
- Incomprimibile: non presenta riduzione di volume all'aumentare della pressione.

2.1 Derivazione delle equazioni di Navier-Stokes

2.1.1 Equazione di continuità

Per poter derivare le equazioni di Navier-Stokes è necessario introdurre il principio di conservazione della massa che può essere descritta tramite la formulazione lagrangiana come: la massa contenuta in un volume deformabile che si muove con un fluido resta invariata nel tempo:

$$\frac{D}{Dt} \int_{V(t)} \rho dV = 0 \quad (1)$$

dove ρ rappresenta la densità, V è il volume e $\frac{D}{Dt}$ la derivata lagrangiana.

Applicando il teorema del trasporto di Reynolds otteniamo:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \vec{u}) = 0, \quad (2)$$

ove u è la velocità di un fluido e ∇ rappresenta l'operatore gradiente. Questa equazione può essere scritta in termini di derivata lagrangiana come:

$$\frac{D\rho}{Dt} + \rho \nabla \vec{u} = 0. \quad (3)$$

Per un fluido incomprimibile l'equazione 3 diventa semplicemente:

$$\nabla \cdot \vec{u} = 0 \quad (4)$$

2.1.2 Bilancio della quantità di moto

Introduciamo il tensore degli sforzi σ_{ij} come l' i -esima componente dello sforzo su un elemento di superficie δS che ha normale n diretta verso la j -esima direzione.

Quindi se t è lo sforzo su un piccolo elemento di superficie δS con normale n , si può scrivere che:

$$t_i = \sigma_{ij}n_j \quad (5)$$

Considerando δS come la faccia del tetraedro mostrato in figura 6, si applica la seconda legge di Newton al fluido nel tetraedro facendo tendere a zero le dimensioni.

La componente i -esima della forza del fluido circostante sulla faccia ortogonale alla normale n del tetraedro è $t_i\delta S$. L' i -esima componente della forza sulla faccia con normale in direzione $-e_1$ è $-\sigma_{i1}$ poiché la normale è nella direzione $-e_1$. Allo stesso modo per le due facce con le normali $-e_2$ e $-e_3$. Quindi l' i -esima componente della forza totale esercitata dal fluido circostante sul tetraedro è:

$$(t_i - \sigma_{ij}n_j)\delta S = \rho\delta V \frac{Du_i}{Dt} \quad (6)$$

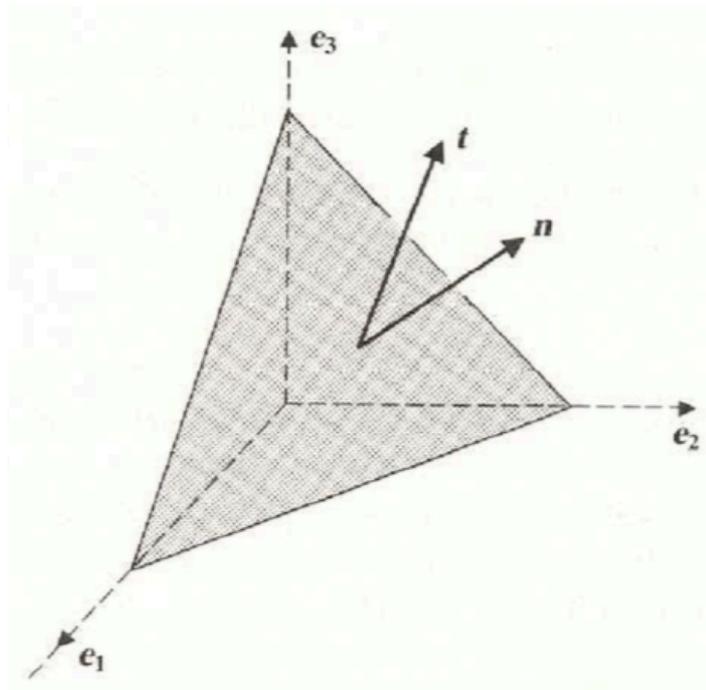


Figura 6. Tetraedro (fonte: dalle dispense del corso di meccanica dei fluidi del professor Luigi Mihic dell'Università di Pavia)

Ma al tendere delle dimensioni del tetraedro a zero δV diventa trascurabile rispetto a δS , quindi si può scrivere che:

$$t_i = \sigma_{ij}n_j \quad (7)$$

L' i -esima componente della forza esercitata dal fluido circostante su un elemento di fluido con superficie S e volume V è quindi data da:

$$\int_S t_i dS = \int_S \sigma_{ij}n_j dS = \int_V \frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} dV ; \quad (8)$$

dove è stata utilizzata la relazione (5) insieme al teorema della divergenza. Applicando la seconda legge di Newton ad un elemento di fluido arbitrario si può introdurre l'equazione del moto come:

$$\rho \frac{Du_i}{Dt} = \frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} + \rho f_i \quad (9)$$

Per poter risolvere l'equazione (9) è necessario correlare il tensore di sforzo σ_{ij} alla velocità del fluido u , considerando esclusivamente fluidi incomprimibili per i quali si assume che il tensore degli sforzi è:

$$\sigma_{ij} = -p\delta_{ij} + \mu \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right), \quad (10)$$

dove μ è la viscosità e p è la pressione. Questa relazione vale solo per fluidi newtoniani.

Si ha inoltre:

$$p = -\frac{1}{3} (\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33}), \quad (11)$$

ossia $-p$ è la media dei tre sforzi normali.

2.1.3 Equazioni di Navier-Stokes

Sostituendo l'espressione (10) per σ_{ij} nell'equazione (9) si ricava l'equazione (12), assumendo il fluido newtoniano e incomprimibile,

$$\begin{cases} \rho \frac{Du_i}{Dt} = -\nabla p + \rho f + \mu \nabla^2 u \\ \nabla \cdot u = 0 \end{cases} \quad (12)$$

che rappresenta il sistema di equazioni di Navier-Stokes. Dividendo la prima equazione per la densità, si ottiene

$$\frac{Du}{Dt} = -\frac{1}{\rho}\nabla p + f + \nu\nabla^2 u, \quad (13)$$

dove $\nu = \mu / \rho$ è la viscosità cinematica.

2.1.4 Adimensionalizzazione

Le equazioni di Navier-Stokes possono essere espresse in forma adimensionale.

Supponiamo che un flusso abbia una scala di lunghezza caratteristica L e una scala di velocità caratteristica U . Quindi possiamo introdurre variabili adimensionali (indicate con tilde) come segue:

$$u = U\tilde{u}, \quad \frac{\partial}{\partial x} = \frac{1}{L}\frac{\partial}{\partial \tilde{x}}, \quad p = \rho U^2 \tilde{p}, \quad f = \frac{U^2}{L}\tilde{f}.$$

Sostituendo in (13) otteniamo l'equazione di Navier-Stokes adimensionale:

$$\frac{D\tilde{u}}{Dt} = -\nabla\tilde{p} + \tilde{f} + \frac{1}{Re}\nabla^2\tilde{u}, \quad (14)$$

dove Re è il numero di Reynolds.

2.1.5 Numero di Reynolds

Il numero di Reynolds, dunque, è un numero adimensionale, che in un flusso di velocità u , all'interno di una geometria, come un tubo o un vaso, di dimensione caratteristica L si può scrivere come

$$Re = \frac{\rho UL}{\mu} = \frac{UL}{\nu}. \quad (15)$$

Il valore del numero di Reynolds dipende dalla scelta della lunghezza e della velocità di riferimento. Solitamente, L può essere preso come il diametro o come qualche altra lunghezza su larga scala, come la larghezza di un vaso.

Varie scelte di L e U possono essere appropriate per un dato flusso, portando a variare il valore del numero di Reynolds.

Re fornisce una misura del rapporto tra forze inerziali e forze viscosive,

$$Re = \frac{\text{forze inerziali}}{\text{forze viscosive}},$$

di conseguenza, quantifica l'importanza relativa del flusso convettivo rispetto alla diffusione per determinate condizioni di flusso. Poiché il Re è una misura delle forze inerziali rispetto alle forze viscosive, il suo valore caratterizza due diversi regimi di flusso: laminare e turbolento.

Il flusso laminare si verifica a bassi numeri di Reynolds ($Re < 2300$), dove le forze viscosive sono dominanti. Mentre il flusso turbolento si verifica ad alti numeri di Reynolds ($Re > 4000$) ed è dominato da forze inerziali, vortici e altre instabilità del flusso.

2.1.6 Legge di Hagen-Poiseuille

In precedenza è stato accennato che le equazioni di Navier-Stokes sono molto complesse da risolvere analiticamente in quanto il problema principale risiede nel termine non lineare, che rende difficile determinare la soluzione analitica. In alcuni casi è possibile determinare le soluzioni analitiche esatte. Questo approccio è riferito al caso dei flussi laminari poiché la natura casuale della velocità turbolenta rende impossibile trovare la soluzione analitica.

Un esempio di soluzione analitica è rappresentata dalla legge di Hagen-Poiseuille.

Questa legge è applicabile solo ad un flusso continuo e laminare. Un fluido che scorre con moto laminare in un condotto circolare simula lo scorrimento di lamine di fluido una sull'altra. Il sangue, infatti, scorre nei vasi organizzandosi in lamelle concentriche secondo un profilo di velocità parabolico, descritto dall'equazione di Hagen-Poiseuille:

$$v_r = \frac{\Delta P}{4\mu L} (R^2 - r^2), \quad (16)$$

dove v_r rappresenta la velocità di scorrimento di una lamina con distanza radiale r , ΔP è il gradiente pressorio tra due punti separati dalla distanza L , μ rappresenta la viscosità del liquido e R il raggio del vaso.

2.1.7 Numero di Womersley

Un altro parametro adimensionale ricavabile dalle equazioni di Navier-Stokes è il numero di Womersley (α) dato da:

$$\alpha = L \sqrt{\frac{\omega}{\nu}}, \quad \text{con } t = \frac{\tilde{t}}{\omega}$$

dove ω rappresenta la pulsazione, con $\omega = 2\pi/T$.

Il numero di Womersley si deriva adimensionando le equazioni di Navier-Stokes avendo introdotto una scala della pulsazione ω e la non stazionarietà del flusso in relazione alle forze viscosse. In particolare per bassi valori di α le forze viscosse sono importanti, per cui le onde di velocità e pressione sono in fase e il profilo di velocità è parabolico; per alti valori di α le forze d'inerzia non stazionarie dominano, per cui c'è un ritardo tra l'onda di velocità e di pressione e il profilo di velocità è sostanzialmente piatto. Nelle grandi arterie il numero di Womersley assume valori tra 10 e 20, da cui si deduce che la non stazionarietà gioca un ruolo importante.

Due flussi saranno identici, nelle variabili adimensionali, se i numeri di Reynolds e i numeri di Womersley per i due flussi sono uguali, poiché due corpi geometricamente simili aventi lo stesso Re e α saranno governati da equazioni differenziali identiche. Pertanto, si dice che i numeri di Reynolds e Womersley governino la similitudine dinamica (Fung 1997). Questo concetto è fondamentale per riprodurre un flusso come quello ematico negli esperimenti *in vitro*.

3. DUPLICATORE D'IMPULSO

Lo studio e la comprensione dei fenomeni causati dai flussi sanguigni all'interno dei vasi, in particolare dell'aorta, sta diventando sempre più importante, soprattutto per due motivi:

- sviluppo di tecniche diagnostiche sempre più sofisticate
- continua evoluzione delle protesi utilizzate in Chirurgia Cardiovascolare

Infatti, grazie alle sempre più innovative tecniche diagnostiche si è in grado di avere delle informazioni sulle caratteristiche del flusso a livello aortico che permettono diagnosi "patient specific", che a loro volta consentono, lo sviluppo di tecniche endovascolari sempre più complesse. Per supportare la comprensione degli studi *in vivo*, è stato necessario costruire degli appositi sistemi sperimentali che riproducano la circolazione sanguigna in maniera più fedele possibile alla realtà. Infatti, lo studio *in vitro* di una patologia aortica o valvolare riguardante in qualsiasi modo il flusso ematico, consente l'eliminazione dei parametri soggettivi insiti nello studio *in vivo*, permettendo l'analisi e la replicabilità solo dei parametri di interesse.

Esistono varie metodologie all'avanguardia per lo studio *in vivo* di tali patologie, come ad esempio la Tomografia Assiale Computerizzata, la Risonanza Magnetica (nelle sue varie forme), l'Eco-Color-Doppler, ma il problema principale di tali tecniche è che nessuna di esse può prescindere dai parametri soggettivi dell'individuo sottoposto all'esame.

Perciò la realizzazione di sistemi per lo studio *in vitro* diventa fondamentale, nonostante le inevitabili approssimazioni e semplificazioni che li caratterizzano, date dal complesso modello fisiologico da replicare.

La dinamica del flusso sanguigno all'interno dei vasi è notevolmente complicata a causa di una molteplicità di fattori, come ad esempio: flusso non stazionario, geometrie tridimensionali complesse e articolate, comportamento non Newtoniano del sangue, condizioni in uscita dal dominio che devono tenere conto dei suoi rami e degli organi a cui questi arrivano, regime ai limiti della turbolenza ed effetto di interazione fluido-struttura con la parete dei vasi.

3.1 Proprietà del sangue

Il flusso ematico, infatti, è un flusso pulsatile, ossia la velocità del fluido è dipendente dal tempo, e dunque la sua modellizzazione deve essere affrontata considerando le equazioni di Navier-Stokes con i termini non stazionari.

Inoltre, il sangue è una sospensione costituita da una fase fluida, il plasma, e una fase discreta composta da eritrociti, leucociti e piastrine. Il plasma è un fluido newtoniano, ossia la sua viscosità è costante, a differenza del sangue che è un fluido non newtoniano, ossia la relazione tra shear stress e shear rate non è lineare. Per shear stress si intende il rapporto tra la forza applicata ad uno strato di fluido nella direzione di scorrimento e l'area dello stesso, ossia: $\tau = F/A$, dove F è la forza e A è l'area della lamina di fluido. Lo shear rate, invece, rappresenta il rapporto tra la variazione di velocità fra due strati adiacenti, dv , e la distanza che li separa, dl , ossia: $\gamma = dv/dl$.

Infatti, la viscosità del sangue varia in funzione di vari parametri, come ad esempio temperatura, ematocrito e shear rate (Meola, 2008).

3.2 Geometria e Parete Aortica

Un altro parametro da non sottovalutare è la complessa geometria dell'aorta, in particolare di quella toracica. L'aorta ascendente, infatti, presenta varie curvature difficili da replicare *in vitro*. Tuttavia ci si è resi conto di come le curvature secondarie, i dettagli locali e le variazioni di sezione influenzino notevolmente i risultati.

Inoltre, risulta molto importante considerare la difficoltà a riprodurre le caratteristiche della parete arteriosa sottoposta a carichi emodinamici. Essa infatti si deforma modificando a sua volta il flusso al suo interno. Un modello preciso e accurato dovrebbe considerare diversi parametri come l'anisotropia, la non omogeneità e la suddivisione in più strati come risulta fisiologicamente. Per di più, dovrebbe considerare le specifiche fisiche del paziente, infatti lo spessore varia ovviamente da paziente a paziente. La sua geometria è così complessa che la variazione di spessore esistono sia in senso assiale che circonferenziale e la loro valutazione risulta difficile anche alle singole tecniche di imaging.

Un ulteriore aspetto da prendere in considerazione è il posizionamento dell'aorta e tutti i suoi rapporti con gli altri organi e con diversi tessuti che le conferiscono dei supporti e dei vincoli estremamente difficili da riprodurre.

Dunque allo stato dell'arte è sostanzialmente impossibile riprodurre in laboratorio tutti questi aspetti, ma è stato necessario effettuare delle semplificazioni che non modificassero eccessivamente le proprietà del flusso.

Una delle tecniche più affermate e consolidate per la modellizzazione della circolazione sanguigna *in vitro* è l'utilizzo di complessi sistemi chiamati duplicatori d'impulso.

I duplicatori d'impulso si basano sulla legge della similitudine, ossia cercano di ricreare modelli artificiali, sia in scala ridotta sia a grandezza

naturale, che siano in grado di mimare le caratteristiche fisiche di modelli reali.

In letteratura esistono diverse tipologie di duplicatori e per ognuno il criterio di modellizzazione è sempre l'osservanza delle leggi della similitudine fisica. Infatti, il flusso di un fluido non newtoniano può essere approssimativamente descritto da parametri adimensionali di somiglianza come ad esempio il numero di Reynolds, il numero di Womersley, il numero di Eulero e il numero di Froude, derivabili adimensionando le equazioni di Navier-Stokes. La scelta di quali parametri considerare caratterizza l'esperimento.

3.3 Duplicatori esistenti

Negli ultimi trenta anni sono stati realizzati numerosi duplicatori d'impulso e sono stati utilizzati per tantissimi studi relativi all'emodinamica, alle patologie vascolari e valvolari, come ad esempio gli studi proposti da Wieting (1969), Gabbay et al.(1978), Martin et al.(1978), Yoganathan et al.(1979), Walker et al.(1980), Swanson et al. (1982), Bruss et al.(1983), Chandran (1985) e Simenauer (1986).

A prescindere dal duplicatore, ognuno di essi è stato progettato in modo tale da trovare un compromesso tra la precisione di simulazione delle caratteristiche del flusso fisiologico *in vivo* e il requisito di un sistema replicabile utilizzabile in laboratorio.

Il principio fondamentale su cui si basa la realizzazione di un duplicatore d'impulso è la legge di similitudine.

In particolare, come riportato dallo studio di Reul (1983), per la realizzazione di uno di questi sistemi è necessario seguire queste tre leggi:

1. Similarità dei processi di flusso non stazionario
2. Similitudine geometrica
3. Similitudine delle forze

I fenomeni relativi ad un flusso non stazionario sono strettamente correlati alle impedenze di ingresso e uscita del sistema circolatorio.

Per soddisfare il requisito della somiglianza geometrica è necessaria l'introduzione di modelli opportunamente replicati che possono rappresentare il ventricolo sinistro, l'atrio sinistro, la radice aortica, l'aorta.

Infine la similitudine delle forze può essere soddisfatta tramite la simulazione di onde del flusso fisiologico attraverso valvole cardiache a diverse frequenze cardiache.

I primi Duplicatori d'impulso sono apparsi a metà degli anni '50 e avevano lo scopo di ottenere informazioni sulla funzionalità cardiaca e valvolare e di studiare gli effetti delle patologie valvolari cardiache (Davila J et al., 1956; Goodale F Jr et al., 1955; McMillan et al., 1952; Kelley RR et al., 1960). La maggior parte di questi studi si è concentrata sulla visualizzazione del movimento valvolare cercando di comprendere la dinamica dei fluidi all'interno del cuore e attorno alle valvole. Poco dopo, con gli sviluppi delle tecniche chirurgiche di sostituzione delle valvole nei primi anni '60, si iniziò ad utilizzare i duplicatori d'impulso per comprendere la dinamica del flusso sanguigno con valvole cardiache protesiche (Bjork et al., 1962; Duran et al., 1964). Divenne necessario una più profonda comprensione dei fenomeni che influenzano le prestazioni della valvola cardiaca e per la standardizzazione di normative per lo sviluppo di valvole protesiche (Yoganathan et al., 1979; Temple LJ et al., 1974; Chandran KB et al., 1984).

3.4.1 Duplicatore di Yoganathan

Il duplicatore d'impulso realizzato da Yoganathan et al.(1979), rappresenta il modello che gettò le fondamenta per la realizzazione dei duplicatori d'impulso moderni.

La sua struttura viene schematizzata nella figura 7.

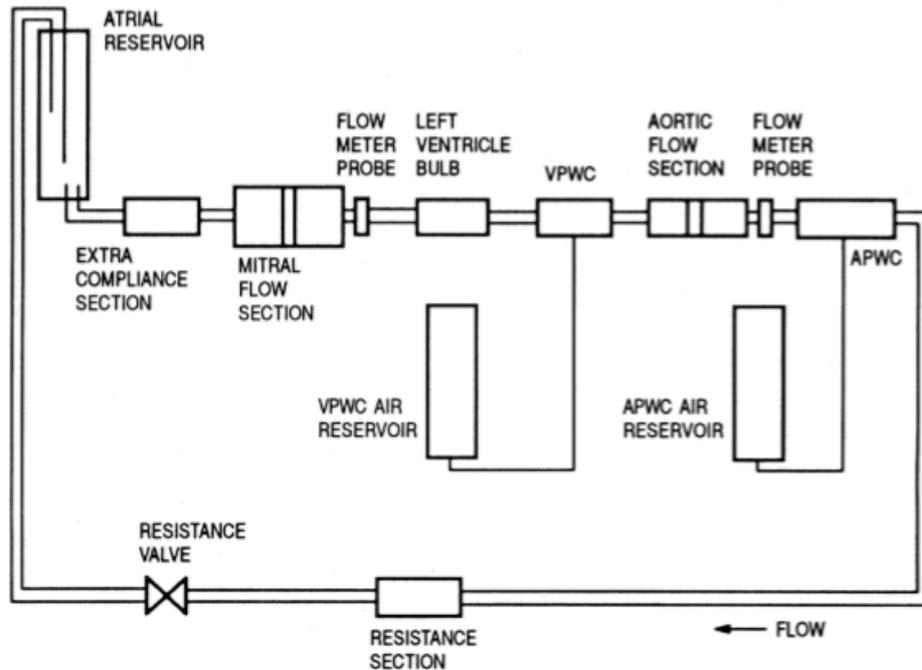


Figura 7. Duplicatore di Yoganathan et al.(1979)

Vengono riprodotte le geometrie dell'atrio e ventricolo sinistro del cuore, l'azione di pompaggio viene fornita da un bulbo, che svolge l'azione ventricolare, contenuto in un cilindro di plastica sigillato pressurizzato da aria.

3.4.2 Duplicatore di Aquisgrana

La configurazione geometrica del duplicatore utilizzato nel laboratorio di Reul ad Aquisgrana (Figura 8) si avvicina molto all'anatomia cardiaca, rispetto agli altri duplicatori esistenti.

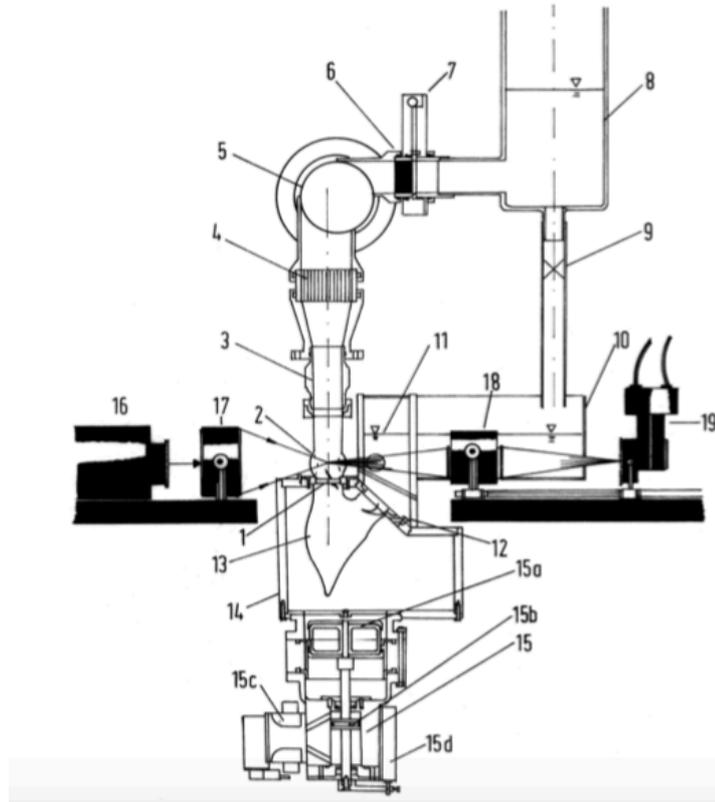


Figura 8. Duplicatore di Aquisgrana realizzato da Reul et al.(1981)

Il duplicatore è composto da: (1) valvola aortica, (2) radice aortica elastica, (3) sonda di flusso elettromagnetica, (4) resistenza caratteristica, (5) compliance regolabile, (6) resistenza periferica, (7) meccanismo di regolazione, (8) serbatoio del fluido, (9) regolazione acceleratore, (10) serbatoio atriale, (11) atrio sinistro, dove l'alloggiamento atriale ha una fessura centrale per fornire un percorso laser libero, (12) valvola mitrale a disco inclinabile, (13) sacco ventricolare, (14) alloggiamento in plexiglass rigido, (15) pompe idrauliche, (15a) pistone a bassa pressione, (15b) pistone ad alta pressione, servovalvola elettromagnetica (15c), (15d) trasduttore di spostamento, (16) laser He-Ne, (17) ottica di trasmissione, (18) ricevente ottica e (19) fotomoltiplicatore. (Reul, 1991).

In questo caso, il cuore e i tubi di collegamento sono disposti verticalmente mentre le valvole sono montate nelle loro corrette posizioni anatomiche in un ventricolo flessibile. Un pistone elettroidraulico guida il flusso che comprime il ventricolo per simulare la contrazione sistolica.

3.4.3 Duplicatore di Sheffield

La configurazione geometrica utilizzata nel laboratorio di Black a Sheffield (Black, 1991) (Figura 9), invece, si trova a metà strada tra quello proposto da Yoganathan e quello proposto da Reul. È stato progettato per testare rapidamente una vasta gamma di dimensioni delle valvole, sia in posizione mitrale che aortica, su diverse combinazioni di volume della corsa di velocità (40-140 cicli al minuto, 20-150 ml).

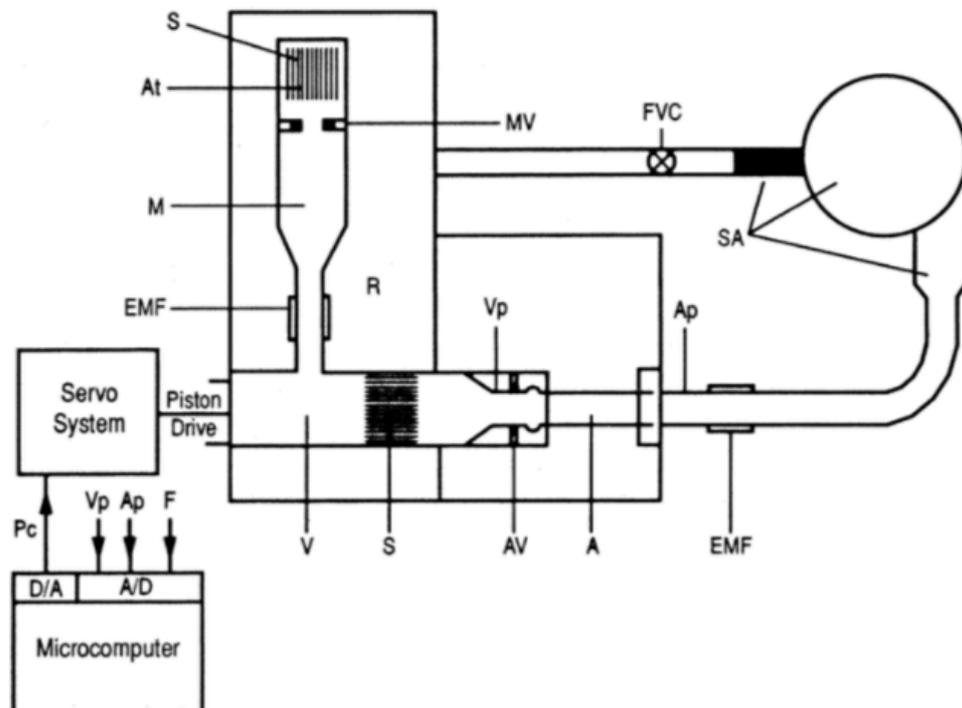


Figura 9. Duplicatore di Sheffield (Black, 1991)

In questo caso il duplicatore è composto da: (R) serbatoio del fluido, (S) piastre di flusso, (At) modello dell'atrio, (MV) sede per la valvola mitrale, (V) modello ventricolo, (EMF) misuratore elettromagnetico di portata, (In) sezione di ingresso aortico, (AV) sede per la valvola aortica, (Vp) trasduttore di pressione ventricolare, (Ap) trasduttore di pressione aortica, (A) modello aorta, (SA) modello di circolazione sistemica, (FCV) valvola di controllo del flusso, (D/A) convertitore digitale-analogico, (Pc) segnale di controllo della posizione, (A/D) convertitore analogico/digitale, (Vp) segnale di pressione ventricolare, (Ap) segnale di pressione aortica e (F) segnale di flusso. Il flusso è generato da un pistone montato su una vite a sfere. Il pistone è azionato da un motore DC e da un servoamplificatore e il sistema completo è controllato da un microcomputer. I modelli di flusso ventricolare vengono generati automaticamente dal software una volta che è stata selezionata una combinazione di velocità, volume della corsa e gittata cardiaca.

3.4.4 Duplicatore Vivitro

Il primo duplicatore d'impulso disponibile in commercio, sviluppato da ViVitro Systems Inc., è apparso nel 1984, con schematizzazione nella figura 10.

Il modello simula il funzionamento del ventricolo sinistro e il carico sistemico. La valvola mitrale è montata tra l'atrio sinistro e il ventricolo sinistro, mentre la valvola aortica è montata tra il ventricolo sinistro e l'aorta. Il flusso pulsatile è fornito da un sistema di pompaggio costituito da un pistone azionato da un motore elettrico a bassa inerzia. Un attuatore lineare converte il movimento rotatorio del motore in spostamento lineare del pistone. Il motore è azionato da un amplificatore di potenza. I flussi

oscillatori desiderati sono generati da una curva data in ingresso all'amplificatore di potenza.

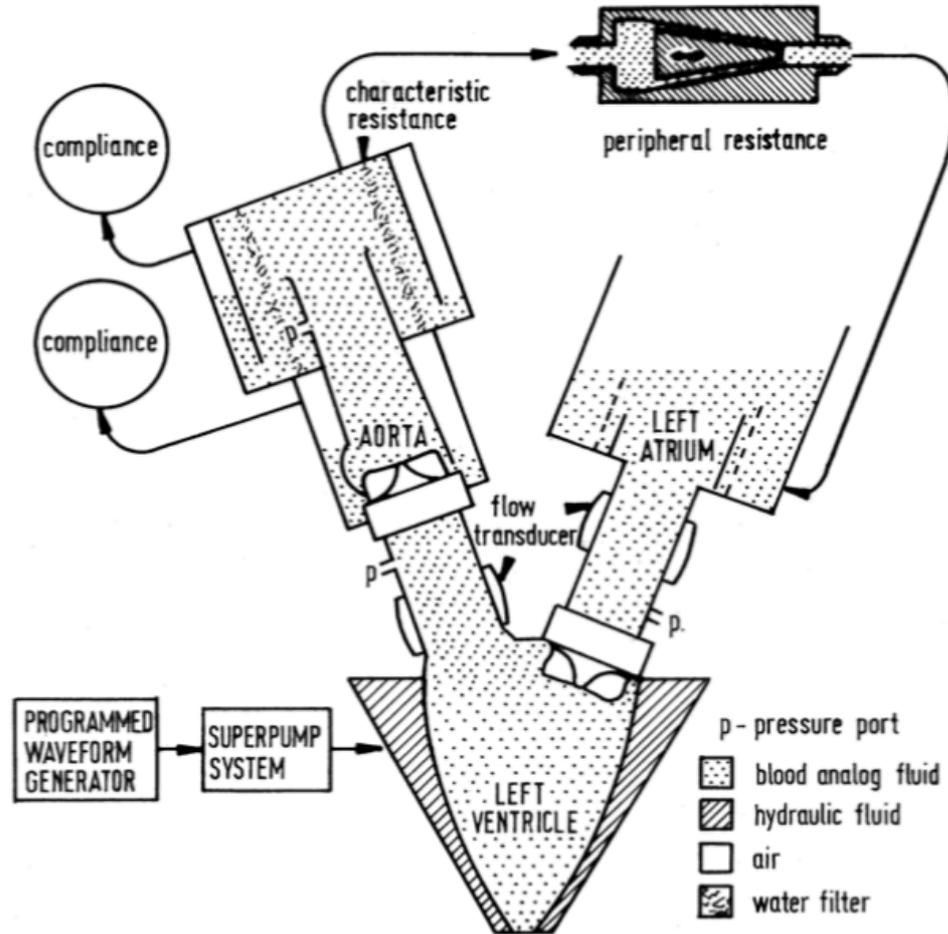


Figura 10. Duplicatore Vivitro Systems Inc. (Leondes, 2001).

Per standardizzare l'utilizzo dei duplicatori e poter validare i risultati ottenuti è stato stabilito un protocollo di confronto internazionale del laboratorio della FDA (Simenauer, 1986) per gli studi sul flusso pulsatile, con le seguenti condizioni sperimentali:

uscite cardiache: 3,0, 4,5, 6,5 e 8,0 l / min,
 frequenza fissa: 70 battiti / min,

durata sistolica: 300 ms,

pressione media aortica: 100 mm Hg,

pressione media atriale: 10 mm Hg.

Le linee guida FDA si riferiscono allo standard ISO sui requisiti per il duplicatore di impulsi e i metodi di test da utilizzare (Leondes, 2001).

4. TECNICHE VELOCIMETRICHE

Lo studio di un fluido in movimento è sempre stato oggetto di forte interesse ma alquanto complicato. Già nel 1920 fu sviluppata una delle prime tecniche velocimetriche per misurare il moto di fluidi, ossia l'anemometria a filo caldo (Prasad, 2000), che rappresentò un passo avanti importante per la tecnologia di quegli anni. Tuttavia tutte le metodologie velocimetriche messe a punto in quegli anni, compresa l'anemometria a filo caldo, richiedevano l'inserimento di una sonda fisica all'interno del fluido in esame e questo portava inevitabilmente ad errori e a rumore nella misura.

L'invenzione negli anni '60 del laser gettò le basi per le nuove tecniche di misura del moto di un fluido. Infatti, ci fu l'introduzione dell'anemometria laser doppler (LDA). Questa tecnica utilizza una sonda laser che permette misurazioni non intrusive della velocità del fluido. Nonostante sia evidente il miglioramento portato dall'introduzione del laser, il limite tecnologico era dato dal fatto che la misurazione *point wise* di queste tecniche, ossia la misura della velocità era ottenuta solo nel punto occupato dalla sonda (Mohsen Jahanmiri, 2011).

Questi limiti furono superati grazie alle tecniche ottiche velocimetriche, quali PIV (Particle Image Velocimetry) e PTV (Particle Tracking Velocimetry), capaci di effettuare misure non invasive della velocità di un fluido in moto tramite la ricostruzione delle traiettorie di particelle introdotte all'interno del fluido stesso.

4.1 Particle Image Velocimetry

Nel 1980 venne introdotta la Particle Image Velocimetry (PIV). Questa tecnica permette la misura della velocità in tutta la regione di moto di un

fluido (Adrian, 1991). Il grande vantaggio della PIV è che fornisce informazioni sui vettori di velocità del flusso di un intero piano in una singola misura (Stamhuis, 2006). Infatti, tutti gli altri metodi noti fino agli anni '80 misuravano e rendevano in uscita valori puntuali, o diagrammi vettoriali a bassa risoluzione di interi piani dopo aver ripetuto l'esperimento diverse volte.

La PIV ha permesso misure più complete, aprendo gli orizzonti degli studi fluidodinamici, in particolare dei flussi non stazionari difficili da mappare istantaneamente (Raffel et al., 1998). Inizialmente la PIV fu utilizzata per lo studio di flussi indotti sperimentalmente come flussi d'acqua in aree ristrette o flussi d'aria intorno ai profili alari e modelli aerei (Stanislas et al., 2000); successivamente, dal 1993, fu applicata a flussi biologici o di interesse biologico.

La PIV esiste in due modalità distinte: la 2D-PIV misura la velocità del fluido in due dimensioni estraendo due componenti x e y ; invece la 3D-PIV misura la velocità in tre dimensioni calcolando le tre componenti x , y e z .

La 2D-PIV può essere definita come "*Mapping* degli spostamenti medi di gruppi di particelle traccianti in un breve intervallo di tempo in un flusso di fluido correlando sotto-immagini di due immagini successive di un piano illuminato di quel flusso". In sostanza, questa tecnica richiede un flusso inseminato con particelle, una fonte luminosa che attraversa un piano del flusso in esame e l'imaging delle particelle nel piano (Stamhuis, 2006).

Per calcolare i campi di velocità del fluido vengono confrontati degli spostamenti di gruppi di particelle, in un breve intervallo di tempo, in due immagini consecutive registrate.

In figura 11 è rappresentato un tipico sistema 2D-PIV.

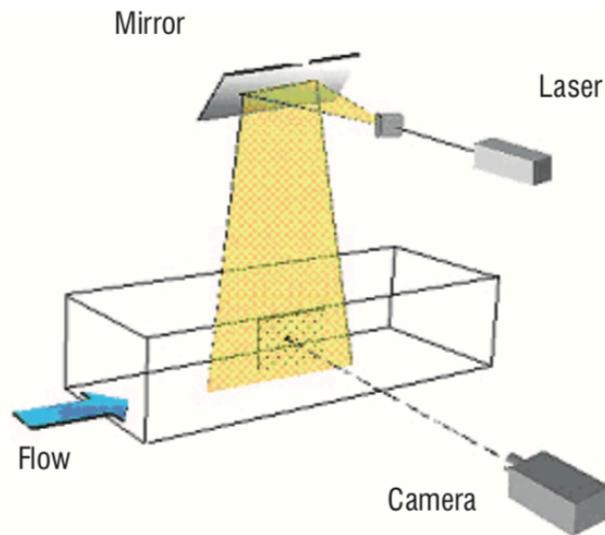


Figura 11. Schema 2D-PIV (Brossard et al., 2009)

4.1.1 *Fluido e particelle*

La PIV può essere applicata a qualsiasi tipo di fluido, sia liquido che gassoso, sia in movimento, come in un serbatoio di flusso o in una galleria del vento, che fermo.

La condizione necessaria è che il fluido sia abbastanza trasparente per consentire una distinzione netta dalle particelle.

Infatti, come detto precedentemente, il fluido deve essere inseminato con delle particelle, che devono rispettare alcuni criteri per poter essere utilizzate: devono essere neutre (cioè non devono modificare con le proprietà del fluido), a galleggiamento neutro e piccole rispetto ai fenomeni di flusso studiati (Raffel et al., 1998), devono essere in grado di seguire in modo preciso le linee di flusso e devono diffondere efficientemente la luce laser. L'ultimo requisito rappresenta un aspetto fondamentale: se le particelle diffondono debolmente la luce, risulta necessario impiegare laser più potenti o fotocamere più sensibili, aumentando sia i costi sia i problemi relativi alla sicurezza.

Quando si lavora con flussi a bassa velocità, è consigliato utilizzare particelle con densità molto simili alla densità del liquido.

L'obiettivo finale nella selezione delle particelle è ottenere la diffusione più efficiente e massimizzare l'intensità della luce sul sensore (Prasad, 2000).

4.1.2 Laser

Nella PIV l'illuminazione viene fornita da una lama di luce generata da un laser. Viene utilizzata una sorgente laser perché è in grado di generare un fascio con spessore costante, o quasi, e dunque non risulta diffusa. Grazie al suo spessore infinitesimo è possibile posizionare la lama in modo molto preciso in modo tale che la direzione principale del flusso sia allineata con essa. Ciò impedisce alle particelle che vengono illuminate e catturate nella prima immagine di scomparire dal piano illuminato e di essere sostituite da altre particelle disposte in modo diverso nella seconda immagine (Stamhuis, 2006).

In un sistema PIV possono essere utilizzati laser ad emissione continua (CW o continuous wave) o laser pulsati.

I primi producono un fascio con bassa potenza (tra 0.01 - 50 W) ma la loro installazione e manutenzione risultano relativamente semplici.

Invece, i laser pulsati producono fasci con potenza molto più elevata rispetto ai laser CW. Risultano altamente raccomandati in applicazioni in cui è necessario misurare alte velocità in cui sono obbligatori tempi di illuminazione brevi e una frequenza di impulsi elevata.

Generalmente i laser pulsati sono più costosi e molto più difficili da installare perché è necessaria un'elevata precisione nella sincronizzazione tra laser e fotocamera.

4.1.3 Fotocamera

Il piano del flusso illuminato dal fascio laser viene ripreso da una telecamera con l'asse ottico perpendicolare ad esso.

Inizialmente, prima di poter analizzare le immagini era necessario lo sviluppo della pellicola e questo richiedeva molto tempo, invece le fotocamere elettroniche impiegate oggi utilizzano sensori CCD (Charged-Coupled Device) o CMOS (Complementary Metal-Oxide Semiconductor) e salvano tutte le riprese in formato digitale in una memoria dedicata su un computer che controlla la fotocamera.

4.1.4 Analisi delle immagini

Per calcolare il movimento delle particelle, e dunque del flusso, tramite la PIV è necessario selezionare delle sotto-immagini, chiamate *interrogation areas*, in modo tale che ogni sotto-immagine contenga un numero relativamente piccolo di particelle.

In realtà la situazione ideale sarebbe selezionare delle aree contenenti ognuna una singola particella e ritrovare l'area contenente la stessa particella nell'immagine successiva. Tuttavia risulta molto complicato ritrovare l'area corretta nella seconda immagine, soprattutto all'interno di un fluido ben inseminato. Dunque, è stato verificato che i risultati migliori si ottengono quando ogni area contiene un numero compreso tra otto e dieci particelle (Adrian, 1992).

Dopo aver suddiviso l'immagine nelle aree d'interrogazione, il secondo passo è selezionare una di queste aree nel fotogramma 1 e confrontare l'area selezionata con l'area esattamente nella stessa posizione nel fotogramma successivo. In questo modo si analizzano le particelle che si sono spostate nell'intervallo di tempo tra i due fotogrammi. Siccome nell'area del secondo fotogramma non è detto che ci siano all'interno le

stesse particelle dell'area del fotogramma precedente, è necessario la cross-correlazione tra le due sotto-immagini. Questa operazione consiste nel sovrapporre le due aree e applicare una procedura di correlazione matematica.

Sono due i metodi utilizzati per l'analisi della correlazione delle aree: le trasformazioni di Fourier e la convoluzione. I risultati di entrambi i metodi sono comparabili, ma la loro applicabilità e i formati di input variano.

La procedura di cross-correlazione permette di derivare i vettori di velocità delle particelle e ottenere i relativi campi di velocità.

Infine con un'operazione di *post-processing* si vanno ad eliminare vettori errati e privi di informazione (Stamhuius, 2006).

4.2 Particle Tracking Velocimetry

Un'altra tecnica velocimetrica è la Particle Tracking Velocimetry (PTV). La PTV, al contrario della PIV, non studia gruppi di particelle ma ricostruisce le traiettorie delle singole particelle.

L'accuratezza di un sistema di PTV è fortemente legata al metodo con cui vengono individuate le singole particelle che vengono determinate tramite il calcolo delle coordinate del baricentro. La fase di identificazione è molto delicata in quanto risulta molto complessa l'eliminazione completa del rumore e di altri errori che possono falsare la posizione del baricentro.

Tendenzialmente l'identificazione avviene attraverso la binarizzazione delle immagini, individuando un valore di soglia che permette di separare lo sfondo dalle particelle; tale operazione va sotto il nome di soglia globale. Dunque i pixel dell'immagine con intensità superiore alla soglia manterranno inalterato il loro valore e i pixel con intensità inferiore verranno annullati. Successivamente pixel tra loro adiacenti lungo le due direzioni x e y verranno associati alla stessa particella, di cui verrà calcolato il baricentro.

Tipicamente, la PTV ha prestazioni migliori quando la concentrazione di particelle è bassa, cioè quando la distanza tra le particelle è grande rispetto allo spostamento della stessa particella tra le esposizioni (Prasad, 2000).

4.3 Feature tracking algorithm

La tipologia di calcolo utilizzata nella Particle Image Velocimetry, che sfrutta l'operatore della correlazione per calcolare i vettori di spostamento delle particelle, si è rivelata lunga e sensibile al rumore (Chetverikov, 2003). Dunque, sono stati applicati alla PIV degli algoritmi in grado di derivare la velocità delle particelle più efficientemente: i *feature tracking algorithms* (FTA).

Gli FTA nascono nel campo della *machine vision* (Barron et al., 1994), ma solo successivamente sono stati utilizzati nella PIV. Questo perché questi algoritmi sono nati per lo studio del moto di pochi oggetti con superfici ben definite, cosa che non avviene nella PIV. Infatti, nelle tecniche ottiche velocimetriche è richiesta una stima precisa della velocità di migliaia di piccole particelle scarsamente visibili e che spesso scompaiono, rendendo inutilizzabili la maggior parte dei classici FTA.

Nello studio di Quénot et al.(1998) è stato progettato un algoritmo personalizzato per la PIV, che trova la corrispondenza migliore che riduce al minimo la distanza tra due immagini, tramite la suddivisione di ciascuna immagine in porzioni ortogonali di strisce parallele sovrapposte.

Nello studio di J. Shi e C. Tomasi viene proposto un algoritmo chiamato *KLT Tracker*. Questo algoritmo seleziona le *features* ottimali e le segue in tutti i fotogrammi acquisiti. Una *feature* per essere selezionata deve essere caratterizzata da variazioni ad alta intensità in entrambe le direzioni dello spazio.

Il KLT Tracker considera due fotogrammi successivi $I_1(x, y)$ e $I_2(x, y)$. Si indicano con g_x e g_y le derivate parziali della funzione $g(x, y) = I_2(x, y) - I_1(x, y)$ e il vettore di spostamento $d = (dx, dy)^T$ è calcolato come soluzione del sistema lineare

$$\begin{bmatrix} g_x^2 & g_x g_y \\ g_x g_y & g_y^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} d_x \\ d_y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} g_x \\ g_y \end{bmatrix},$$

o, in notazione matriciale, $Zd = e$.

Z ed e , con $e = (g_x, g_y)^T$, sono integrati su una *interrogation window* W . Una struttura definita dalla finestra è accettata come *feature* candidata se entrambi gli autovalori di Z , λ_1 e λ_2 , superano una soglia predefinita λ : $\min(\lambda_1, \lambda_2) > \lambda$. Ciò garantisce che la matrice Z sia ben condizionata e che la soluzione sia accurata. Quando applicato a un'immagine PIV, il KLT seleziona le singole particelle come centri di caratteristiche (J. Shi and C., Tomasi 1994).

Il numero delle *features* da selezionare, N_f , è specificato dall'utente.

Le *features* candidate sono classificate in base alla loro dominanza definita da $\min(\lambda_1, \lambda_2)$, quindi vengono selezionate quelle migliori.

Poiché l'algoritmo KLT incorpora una soluzione analitica alla stima del movimento, è molto più veloce rispetto ai metodi che utilizzano la cross-correlazione (Chetverikov, 2003).

5. STAMPA 3D

Per lo studio dei campi di velocità del flusso sanguigno all'interno dell'aorta toracica è indispensabile l'utilizzo di un modello aortico artificiale su cui effettuare le misure. In questo lavoro l'utilizzo della stampa 3D è stato fondamentale per la creazione del modello di aorta fisiologica in silicone *patient specific*, a partire da una TAC acquisita dall'Azienda Ospedaliera Brotzu.

La stampa 3D è definita come processo produttivo industriale in cui un oggetto viene realizzato tramite l'aggiunta di più strati di materiale seguendo la progettazione di un modello digitale.

Il primo strumento rudimentale in grado di realizzare oggetti per strati successivi fu ideata e costruita da J.E. Blather nel 1892. Questo sistema venne creato per costruire stampi che servivano per la realizzazione di mappe topografiche.

Il metodo utilizzato era l'incisione di linee di livello del terreno su lastre di plastica, ritagliare quest'ultime lungo le linee incise e sovrapporle l'una sull'altra realizzando un modello tridimensionale. Dunque, si possono ritrovare le prime tracce di stampa 3D nella topografia.

Un'altra metodologia che ha dato spunto alla nascita della stampa 3D è la fotoscultura. Questa tecnica, inventata da François Willème, consisteva nella realizzazione di sculture attraverso delle fotografie che contenevano le caratteristiche e i contorni dell'oggetto da realizzare.

La stampa 3D nasce nel 1982 grazie a Chuck Hull con l'invenzione della stereolitografia (SLA).

Successivamente vennero proposte altre tecniche di stampa come:

- Selective Laser Sintering, che si basa sulla sinterizzazione;

- Fused Deposition Modelling, che si basa sulla fusione del materiale;
- Selective Laser Melting, che si basa sulla fusione di polveri al fine di realizzare oggetti ad altissima densità;
- Electron Beam Melting, che si basa sulla fusione a fascio di elettroni e che permette un'altissima precisione;
- Paper 3D Laminated Printing, che si basa sull'utilizzo di fogli di carta sovrapposti

Tutte le tecnologie proposte hanno in comune l'utilizzo di una testina di stampa che ha lo scopo sia di estrarre gocce di materiale sia di far solidificare il materiale liquido creando un *layer*. Le varie tecniche di stampa differiscono in base alla metodica con cui la testina crea gli strati. Nonostante lo sviluppo negli anni di tutte queste tecniche, la SLA rappresenta tuttora una delle più utilizzate.

In generale è possibile suddividere tutte le tecniche di stampa 3D in due categorie: tecniche di produzione sottrattiva e tecniche di produzione additiva.

Le metodologie sottrattive consistono nell'eliminare materiale da un oggetto per creare la forma voluta.

Al contrario le tecniche additive consistono nell'aggiungere materiale tramite la sovrapposizione di sottili strati. Esistono diverse tecniche additive e differiscono tra loro in base a come vengono depositati gli strati di materiale e in base a quale tipologia di materiale viene utilizzato.

La produzione additiva, a differenza di quella sottrattiva, permette l'utilizzo di tantissimi materiali, ha un costo inferiore grazie al minimo scarto di materiale e permette la realizzazione di forme complesse e precise senza l'utilizzo di ulteriori dispositivi, come ad esempio di stampi. Per questi motivi le tecniche additive sono le più utilizzate per quanto riguarda la stampa 3D.

5.1 Materiali

La scelta del materiale, o dei materiali, da utilizzare per la stampa rappresenta un parametro fondamentale per la realizzazione dell'oggetto. Difatti le sue caratteristiche dipenderanno dalla tipologia di materiale utilizzato.

Esistono tantissime tipologie di materiali, ma i più comuni sono:

- ABS (Acrilonitrile Butadiene Stirene), fa parte della famiglia delle plastiche. E' un materiale non biodegradabile e deformabile, infatti proprio grazie alla sua flessibilità è uno dei materiali più utilizzati. Resiste all'acqua, a soluzioni saline acquose, acidi diluiti, soluzioni alcaline, idrocarburi saturi, benzina, oli minerali, grassi animali e vegetali, e presenta una sufficiente resistenza all'invecchiamento, mentre non resiste ad acidi minerali concentrati, idrocarburi aromatici e clorurati, eteri e chetoni. Tuttavia, durante la stampa, può subire delle deformazioni e dunque necessita di rifiniture post-stampa;
- TPU (Termo Plastic Urethane), fa parte della famiglia dei materiali con caratteristiche simili alla gomma. Infatti, ha notevoli proprietà elastiche, di trasparenza e di resistenza alle abrasioni;
- PET (Polietilene Teraftalato), fa parte della famiglia dei poliesteri ed è una resina termoplastica. E' un materiale rigido e resistente agli impatti, che lo rende appropriato per gli oggetti leggeri. Viene utilizzato soprattutto nelle industrie alimentari;
- PLA (polilattato), un polimero di origine vegetale dunque biodegradabile. Il polilattato conferisce all'oggetto alta rigidità e fragilità. Dunque, le parti in PLA possono essere considerate quasi cristalline con una conseguente facilità alla rottura rispetto

all'ABS. Tuttavia il PLA è meno soggetto a deformazione in fase di stampaggio;

- PVA (Alcool Polivinilico), materiale idrosolubile comunemente utilizzato per creare strutture di supporto con geometrie complesse;
- Nylon, poliammide sintetica che ha come caratteristiche principali elasticità, resistenza all'usura, resistenza ai solventi. E' utilizzato soprattutto come fibra tessile per produrre piccoli oggetti. Una sua particolarità è che, se utilizzato in forma di polvere, può essere combinato con polveri di alluminio per produrre un altro materiale molto comune nella stampa 3D, ovvero l'Alumide;
- PC (Policarbonato), resina termoplastica con elevata resistenza a trazione e flessione. E' comunemente utilizzato come isolante elettrico, impiegato in varie applicazioni mediche per le parti meccaniche. Possiede un'alta durata, stabilità e precisione nella stampa;
- HIPS (High Impact PolyStyrene), o polistirene antiurto, è un materiale termoplastico costituito da polistirene e gomma stirene-butadiene.

La scelta dei materiali non influisce solo nelle caratteristiche fisiche dell'oggetto stampato ma rappresenta un criterio sia per l'acquisto della stampante corretta sia per l'impatto economico da affrontare (Maietta, 2014).

5.2 Applicazioni Biomediche

La stampa 3D non è stata una rivelazione solo nel campo industriale per la produzione di oggetti di uso comune, ma è stata un'innovazione tecnologica tale da poter essere sfruttata in innumerevoli ambiti.

Infatti, l'ampiezza applicativa di questa tecnologia è talmente grande che la stampa 3D può essere utilizzata dall'aeronautica alla medicina. Difatti, la fabbricazione additiva rappresenta una realtà sia per prodotti comuni, ad esempio per la grande distribuzione, sia per prodotti fortemente specifici.

Questa tecnologia viene utilizzato nel campo medico per svariate applicazioni come: impianti ossei, ingegneria dei tessuti (strutture di sostegno ove depositare cellule per la creazione di un tessuto), medicina rigenerativa, ausilio chirurgico, dispositivi medici, sistemi di *drug delivery* e, addirittura, stampa di interi organi.

5.3 Processo di realizzazione

Il primo step di ogni processo di stampa 3D è la progettazione di un modello digitale che può essere realizzato tramite tantissimi programmi CAD (Computer-Aided Design). Successivamente, dopo aver creato il modello digitale, avviene una suddivisione in *layers* tramite specifici programmi chiamati programmi di *slicing*. Infine il modello deve essere convertito in un file leggibile dalla stampante, come ad esempio un file STL.

Il modello digitale può essere creato utilizzando dei formati digitali ottenuti da tecniche diagnostiche, come ad esempio la Tomografia Computerizzata (TC).

Gli esami TC vengono salvati in un formato chiamato DICOM (Digital Imaging and COmunication in Medicine), un formato utilizzato in ambito medico, soprattutto in radiologia, che definisce modalità di archiviazione e visualizzazione.

Il vero vantaggio è che il formato DICOM è di tipo pubblico, dunque può essere visualizzato da diversi software. Questo rende la sua definizione

accessibile a tutti e, ancora più importante, consente lo scambio di informazioni tra differenti apparecchiature.

I file in formato DICOM non contengono al loro interno esclusivamente l'immagine acquisita dalla tecnica diagnostica, ma include una lista di informazioni, contenute nell'intestazione, utili per chi vuole visualizzare e analizzare il file, come ad esempio il tipo di scansione, la posizione, la dimensione dell'immagine e le specifiche del paziente esaminato.

Dunque, il primo passo per la realizzazione è l'acquisizione dell'immagine in formato DICOM. La scelta della risoluzione con la quale viene acquisita l'immagine è un parametro che dipende dal grado di precisione con cui si vuole lavorare che inevitabilmente si ripercuoterà sul grado di precisione dell'oggetto stampato.

Il secondo step è la segmentazione dell'immagine per l'isolamento della regione di interesse (ROI) con la quale si vuole lavorare. Per la segmentazione si possono utilizzare diversi software come ad esempio 3D Slicer e InVesalius 3. Tramite l'utilizzo di questi software viene selezionata la ROI, e la superficie estratta viene convertita in un file di grafica vettoriale (Pilia et al. 2017).

5.4 File STL

Tendenzialmente viene utilizzato il formato STL perché, tra i file di grafica vettoriali, è quello più utilizzato nel mondo. Questo formato nasce proprio per i software di stereolitografia, come si può comprendere dal nome, infatti STL è l'acronimo per *Stereo Lithography interface format*.

Un file STL rappresenta un solido la cui superficie è discretizzata in triangoli, ossia la superficie è composta da punti, individuati nelle tre coordinate, ripetuti per i tre vertici di ciascun triangolo, con in aggiunta un vettore che descrive l'orientazione della normale alla superficie del

triangolo. Un'elevata densità dei triangoli corrisponderà ad un'elevata risoluzione e una maggiore dimensione del file.

Nel passaggio da DICOM a STL l'immagine perderà inevitabilmente risoluzione, a prescindere dalla scelta della densità di triangoli.

Il passo successivo è la fase di isolamento della zona di interesse. Questo perché tramite la segmentazione non si è in grado di selezionare esattamente la regione voluta.

Dunque è necessario l'ausilio di un software, come ad esempio Meshmixer, non solo per selezionare la ROI ma anche per rifinirla prima della stampa.

Finita la rifinitura è possibile stampare direttamente il modello dal formato STL (Pirozzi et al.,2016).

6. APPARATO SPERIMENTALE

6.1 Duplicatore d'impulso

L'apparato sperimentale utilizzato per questo lavoro è un duplicatore d'impulso realizzato nel Dipartimento di Idraulica dell'Università degli studi di Cagliari.

Il duplicatore è un circuito idraulico composto da camere e serbatoi realizzati in plexiglass. Il circuito inizia con una camera ventricolare (Cv) il cui volume varia grazie al moto di un pistone, messo in movimento da un motore lineare (ML), che mima la contrazione sistolica e la dilatazione diastolica. Poiché la camera ventricolare è riempita con un fluido non comprimibile, acqua depressurizzata, i cambiamenti di volume del ventricolo sono direttamente corrispondenti al volume del pistone. Essa presenta un condotto di ingresso e uno di uscita che si collega alla camera aortica (Ca). Nel condotto di ingresso è posta una valvola idraulica di non ritorno (Vm) che svolge la funzione di valvola mitrale, mentre nel condotto di uscita della camera ventricolare è presente una valvola aortica (Va) realizzata in laboratorio. Grazie alla presenza delle due valvole, variando il volume della camera aortica viene mimato il funzionamento cardiaco.

La camera aortica, collocata dopo la camera ventricolare, è una camera riempita d'acqua composta da pareti in plexiglass, con spessore di 10 mm, predisposta per contenere al suo interno un modello aortico rettilineo e una valvola aortica. La distensibilità del modello aortico può essere variata modificando la quantità di acqua presente nella camera aortica, tramite un apposito rubinetto (R_1). Inoltre, sono collocate due sonde di pressione piezometriche, una subito prima della valvola (Pv), che calcola la

pressione ventricolare, e una poco prima dell'uscita della camera (Pa), che calcola la pressione aortica, per il monitoraggio delle pressioni all'ingresso e all'uscita del modello esaminato.

All'uscita della camera aortica è presente il sensore del flussimetro ad ultrasuoni (F) che misura la velocità attraverso il tempo di andata e ritorno di un'onda acustica. Il tempo di propagazione dell'onda a fluido fermo è dato dal doppio diametro del condotto, mentre invece se il fluido è in movimento l'onda percorre i due lati di un triangolo isoscele e dunque il tempo di andata e ritorno del segnale sarà più lungo: maggiore è la velocità, più lungo sarà il tempo di ritorno. Il flussimetro, dunque, permette di analizzare la velocità e la quantità di flusso che attraversa la valvola aortica e il modello e anche il rigurgito della valvola stessa.

Subito dopo il sensore del flussimetro è montata una biforcazione che da una parte è collegata ad una camera parzialmente piena d'aria (Cc) in cui la comprimibilità dell'aria simula la *compliance* di tutta la circolazione sistemica; dall'altra parte della biforcazione vi è un rubinetto che svolge la funzione della resistenza sistemica (Rs). Quindi, l'insieme di *compliance*, resistenza della *compliance* e resistenza sistemica simula l'impedenza totale della circolazione stessa.

Subito dopo il rubinetto della resistenza sistemica, il flusso arriva ad un serbatoio a carico (T_1) costante in modo da avere una pressione controllata a valle della resistenza sistemica. Esso è collegato a sua volta ad un serbatoio di carico (T_2) che rappresenta l'atrio destro del cuore, posto sopra la camera ventricolare, con la quale è in comunicazione tramite la valvola mitrale.

Il fluido che circola nel sistema è acqua inseminata con polline di pino che ha la proprietà di rimanere in sospensione in acqua e di riflettere bene la luce e svolge la funzione di tracciante per la misura della velocità del fluido.

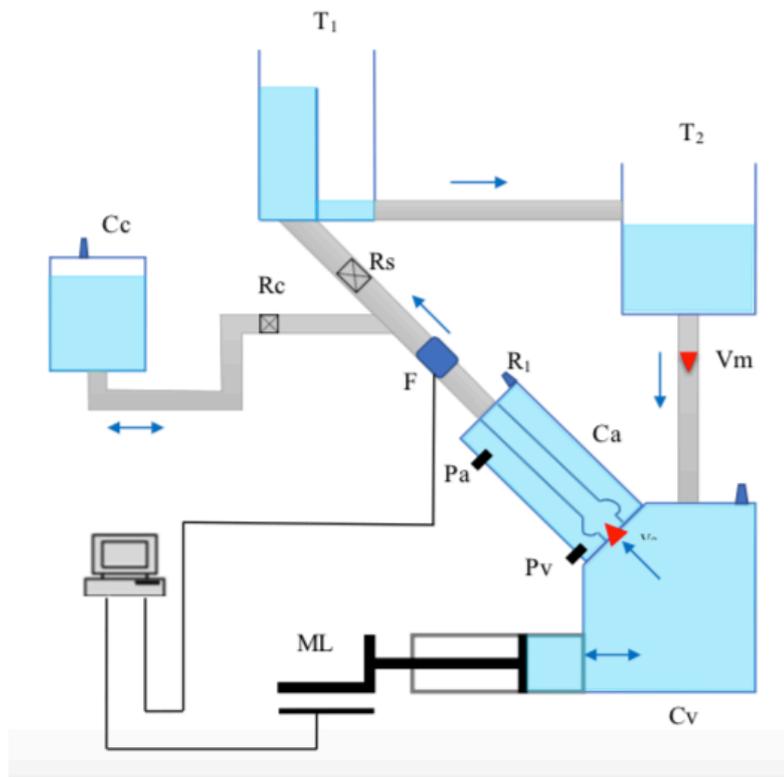


Figura 12. Rappresentazione schematica del duplicatore d'impulso composto da: motore lineare (ML), camera ventricolare (Cv), camera aortica (Ca), camera compliance (Cc), serbatoio di carico (T_1), atrio destro (T_2), valvola di non ritorno (Vm), valvola aortica (Va), resistenza sistemica (Rs), resistenza della compliance (Rc), flussimetro (F), sonda piezometrica posta prima dell'aorta (Pv), sonda piezometrica posta dopo l'aorta (Pa)

6.2 Motore

Le variazioni di posizione del pistone controllano in modo preciso le variazioni di volume del ventricolo, ovvero lo *stroke volume* e la frequenza cardiaca.

Il pistone è messo in movimento da un motore sincrono lineare controllato dal *flex drive* che rappresenta un sistema di controllo in velocità.

Il *flex drive* accetta in ingresso una tensione e genera il moto del pistone con una velocità proporzionale alla tensione che riceve e tramite un sistema di controreazione fa sì che il pistone non solo si muova alla velocità richiesta correggendo eventuali errori.

La tensione viene generata da una scheda di conversione digitale/analogico - analogico/digitale (National Instruments) che svolge due funzioni: applica la conversione digitale/analogica, ovvero viene dato in ingresso un vettore di numeri che rappresenta la curva di tensione, ossia la curva di velocità che vogliamo generare e in risposta la scheda genera una curva analogica che manda al *flex drive* e che permette il moto del motore. Contemporaneamente però svolge la funzione di conversione analogico/digitale che permette di acquisire i segnali che provengono da un flussimetro e da due sonde di pressione e li converte in vettori di numeri.

Il sistema è controllato da un programma sviluppato in laboratorio che esegue una controreazione, ovvero un controllo sulla posizione del pistone. Questo controllo è necessario perché, essendo un sistema controllato in velocità, tende ad accumulare l'errore in posizione e dunque alla fine di ogni ciclo il programma controlla il punto finale in cui si è fermato il pistone e se esso non risulta quello desiderato viene corretta la curva di velocità in modo da far tornare il pistone al punto corretto nel ciclo successivo.

Il software che gestisce il movimento del pistone prende in ingresso sia parametri di gestione del motore sia parametri per la gestione del flusso.

I parametri dedicati alla gestione del motore sono:

- Enable/Disable: abilita/disabilita il motore;
- Homing: trasla il pistone ad una posizione definita come punto di partenza per il ciclo;

- Clr Err : cancella eventuali errori rilevati durante il funzionamento
- Hold : blocca il motore

I parametri per la gestione dei dati del flusso sono:

- Stroke Volume (SV): rappresenta la gittata sistolica;
- T: rappresenta il periodo, ossia esprime in quanto tempo deve essere eseguito un ciclo;
- Coefficiente di controreazione, Kp: serve a gestire la controreazione che riporta alla posizione iniziale il pistone all'inizio di ogni ciclo;
- Delta P: ovvero rappresenta la differenza di pressione idrostatica tra le due sonde di pressione;
- Xc: serve a correggere manualmente l'errore di posizione del pistone;

Per il calcolo dello Stroke Volume e del periodo T è stato necessario tenere in considerazione che per le misure è stata utilizzata acqua depressurizzata con viscosità pari a 1/3 di quella del sangue e l'esperimento è in scala 1:1. Il periodo è stato moltiplicato per un fattore 3, dunque è pari a 2.4 s, con uno SV pari a 64 ml.

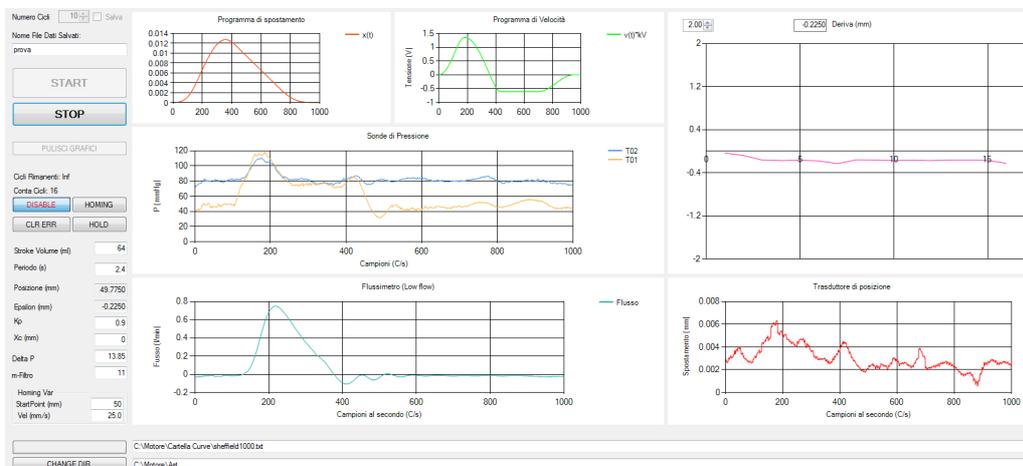


Figura 13. Pannello di controllo del programma utilizzato

Nel pannello di controllo del software sono presenti inoltre un grafico che rappresenta la pressione misurata dalle sonde di pressione a valle e a monte dell'aorta, un grafico che descrive l'andamento del flusso misurato dal flussimetro, la deriva del motore e la curva di moto del pistone utilizzata.



Figura 14. Fotografia del duplicatore utilizzato

6.3 Acquisizione e analisi delle immagini

Il modello in silicone dell'aorta viene illuminato da un laser a diodi nel vicino infrarosso (800 nanometri) posto parallelamente alla direzione del fluido in modo da generare una lama di luce che seziona virtualmente il modello. Con una telecamera veloce posta perpendicolare al modello, vengono registrati un certo numero di fotogrammi al secondo che vengono scelti dall'operatore tramite un computer connesso alla telecamera.

Le immagini registrate vengono successivamente analizzate per riconoscere gli spostamenti delle particelle e da quelli le velocità del fluido.

L'analisi delle immagini viene eseguita attraverso codici eseguiti in Matlab e Python e si compone di diverse fasi:

1. Sincronizzazione: consiste nell'individuare un istante preciso che rappresenta l'inizio del ciclo per tutte le prove acquisite. In questo caso si è scelto come istante l'apertura completa della valvola e si sono sottratti n istanti precedenti per trovare l'inizio del ciclo cardiaco. Per tutte le immagini viene scelta un'opportuna ROI in cui viene analizzato il cambiamento della luminosità, infatti quando la valvola si trova nella configurazione aperta i suoi lembi riflettono la luce generata dal laser.

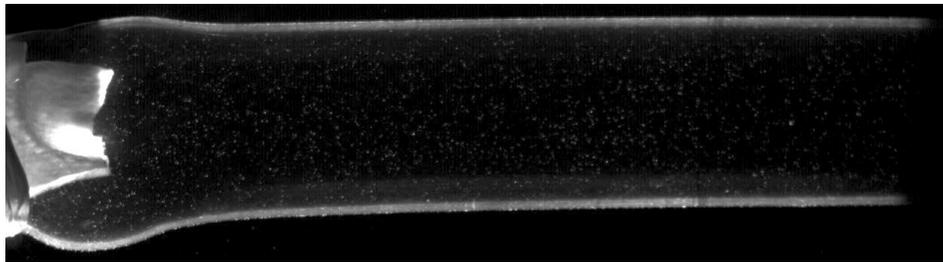


Figura 15. Acquisizione di un fotogramma

Per trovare l'inizio del ciclo viene selezionata una ROI rettangolare per ogni istante di tutte le prove, come in figura 16. L'algoritmo calcola per ogni prova lo scarto quadratico medio confrontando pixel per pixel la ROI di ogni istante (corrispondente a un fotogramma) con una ROI di riferimento (viene presa come riferimento la ROI di un fotogramma in cui la valvola è completamente chiusa). Nell'istante in cui la valvola si apre rifletterà la luce del laser in modo

differenti e lo scarto quadratico medio tra la ROI in quell'istante e quella di riferimento aumenterà.

Quando lo scarto quadratico medio supera una certa soglia impostata dall'operatore, l'istante di apertura della valvola, ovvero l'istante di inizio del ciclo, sarà quello riferito alla ROI confrontata.

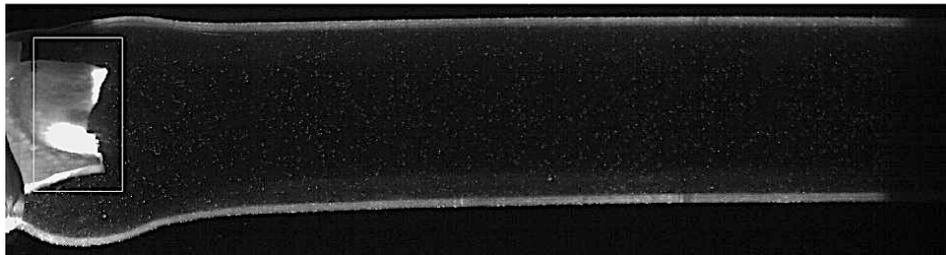


Figura 16. ROI selezionata per la sincronizzazione

2. Elaborazione dello sfondo: vengono riconosciute tutte le parti immobili nelle immagini. In particolare viene identificato il minimo valore di luminosità pixel per pixel nello stesso punto del ciclo di tutte le immagini;

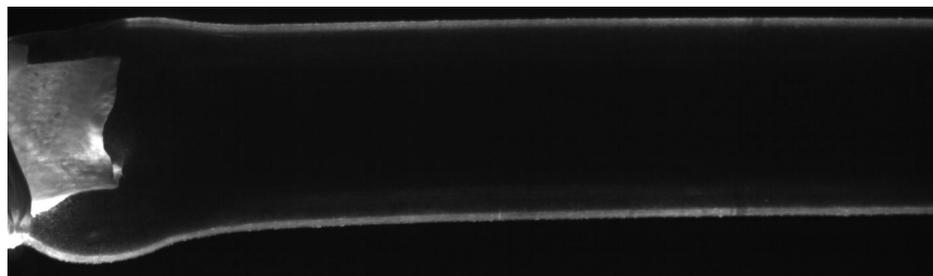


Figura 17. Sfondo calcolato

3. Algoritmo di feature tracking: per calcolare lo spostamento delle particelle è stato utilizzato un algoritmo sviluppato nel laboratorio di Idraulica all'Università di Cagliari che si basa sull'algoritmo KLT tracker esposto in precedenza, con la differenza che lo spostamento viene calcolato tra coppie di fotogrammi. L'algoritmo identifica le

features individuando aree con elevati gradienti di luminosità. La dimensione delle aree (*interrogation windows*) viene selezionata dall'operatore e in ogni area vengono identificate le posizioni delle *features* che vengono confrontate nel fotogramma successivo. L'area del primo fotogramma viene traslata in modo tale da renderla il più simile possibile alla stessa area nel fotogramma seguente. Viene poi calcolata la distanza euclidea tra le due aree, ossia tra due matrici. In questo modo si conosce sia lo spostamento sia il tempo tra i due fotogrammi e dunque si può procedere al calcolo dei campi di velocità. In figura 18 si evidenziano in rosso le particelle inquisite dall'algoritmo e in verde il vettore di velocità.

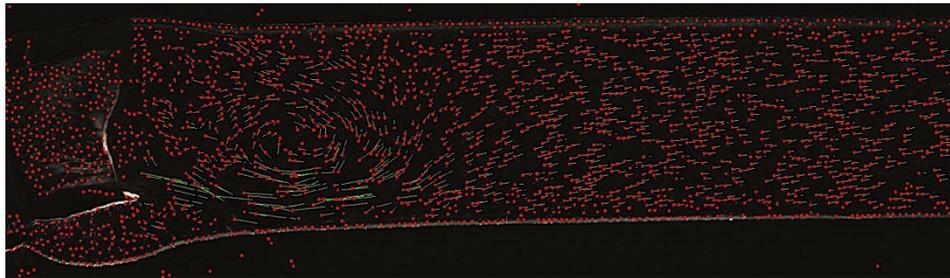


Figura 18. Vettori di velocità calcolati

4. Statistiche in fase: dai vettori di velocità vengono calcolate le grandezze di interesse, come ad esempio i campi velocità, energia cinetica turbolenta e vorticità, discusse nel capitolo dei risultati.

6.4 Realizzazione dei modelli aortici

In questo studio sono stati realizzati due modelli aortici differenti:

- Un modello ideale di aorta toracica fisiologica
- Un modello con dimensione e geometria reale di aorta toracica fisiologica

La geometria del primo modello è stata semplificata linearizzando l'aorta. L'aorta realizzata è composta dalla radice aortica, dai seni di Valsalva e da un condotto lineare che approssima le geometrie aortiche.

Il secondo modello, invece, rispecchia fedelmente la geometria fisiologica di un'aorta toracica.

Per ambedue i modelli si è partito da immagini AngioTAC con mezzo di contrasto fornite dall'Azienda Ospedaliera Brotzu di Cagliari, segmentati con i software Materialise InPrint e Mimics.



Figura 19. AngioTAC con mezzo di contrasto presa in esame

La segmentazione delle immagini è stata effettuata selezionando manualmente una ROI e su di essa viene utilizzato un operatore soglia definito da un intervallo di valori di HU (Hounsfield Unit) per isolare l'aorta. L'operatore soglia non riesce ad isolare in modo preciso, dunque sono stati eliminati manualmente gli elementi di non interesse.

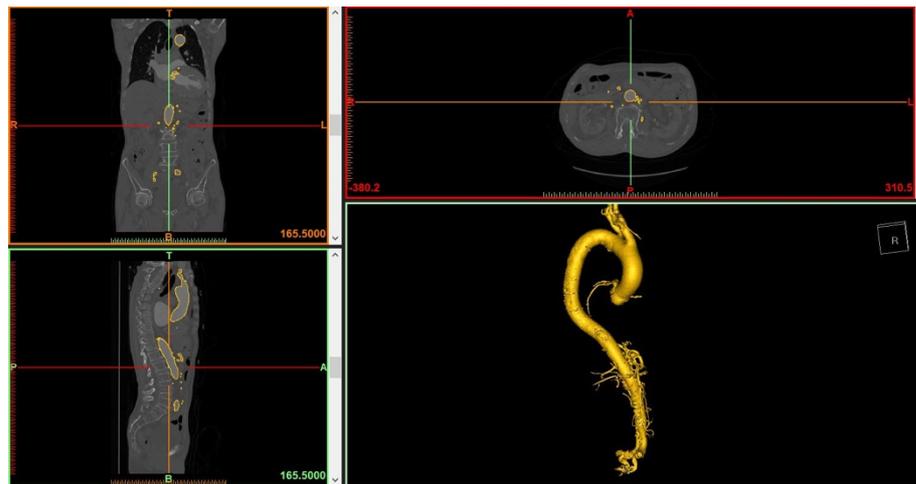


Figura 20. Risultato finale della segmentazione

Successivamente i modelli in formato STL sono stati rifiniti con il software Meshmixer, tramite il procedimento esposto in precedenza nel capitolo 4.

Il file STL viene importato sul software Ultimaker Cura, programma CAM (Computer Aided Manufacturing) che si interfaccia con la stampante 3D. Il software permette di inserire tutti i parametri di stampa, quali densità e configurazione di riempimento, velocità di deposizione del materiale, spessore di un singolo strato, ed infine converte il file STL in formato G-code.

I G-code sono una sequenza di comandi che descrivono i movimenti che l'estrusore della stampante deve compiere per creare "fisicamente" l'oggetto.

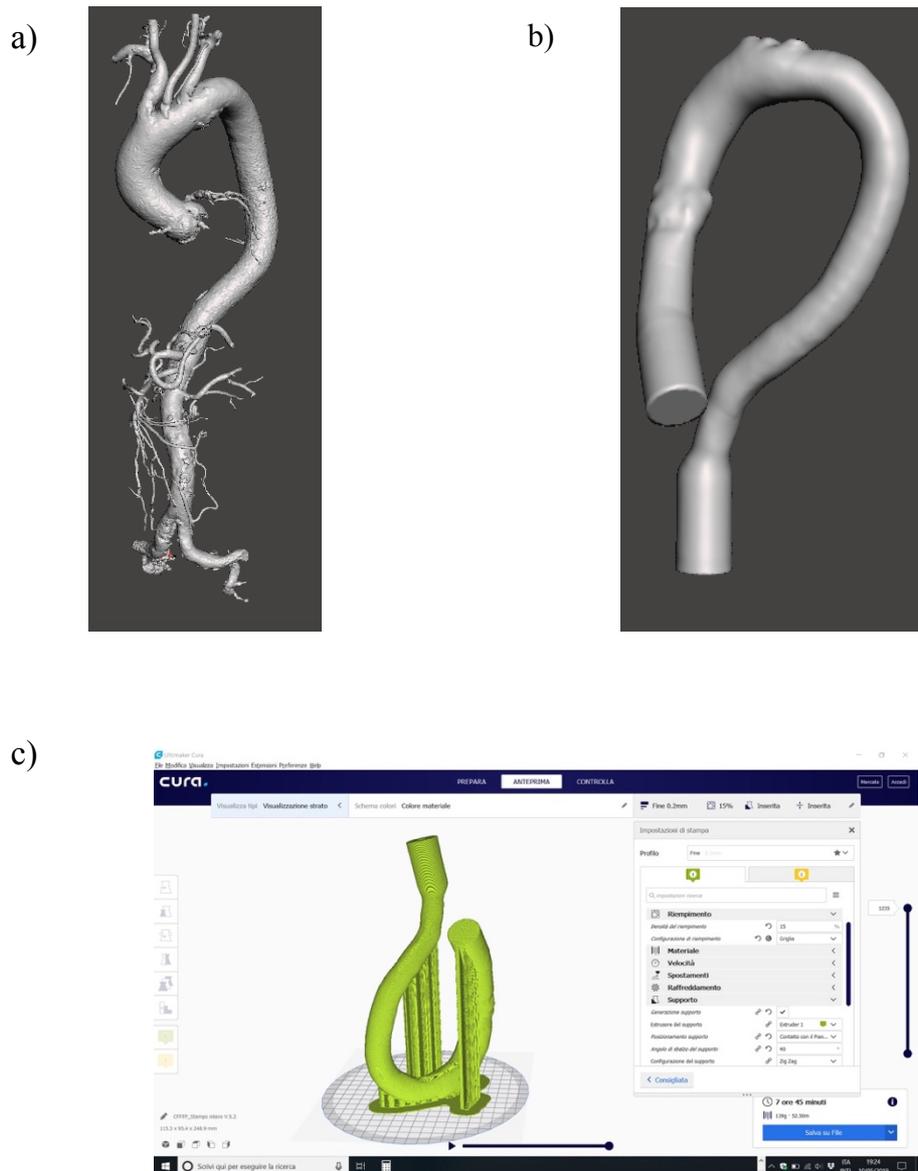


Figura 21. a) Aorta segmentata; b) Aorta rifinita; c) Modello importato sul programma CAM

I due stampi sono stati realizzati con una stampante 3D FDM, utilizzando come materiale l'ABS.

Successivamente sono stati rifiniti in modo da rendere la superficie liscia il più possibile per correggere le asperità create dalla stampante.

E' stato colato del silicone trasparente per ciascun modello e dopo l'asciugatura è stato possibile sfilare il silicone ottenendo l'aorta finale da esaminare.

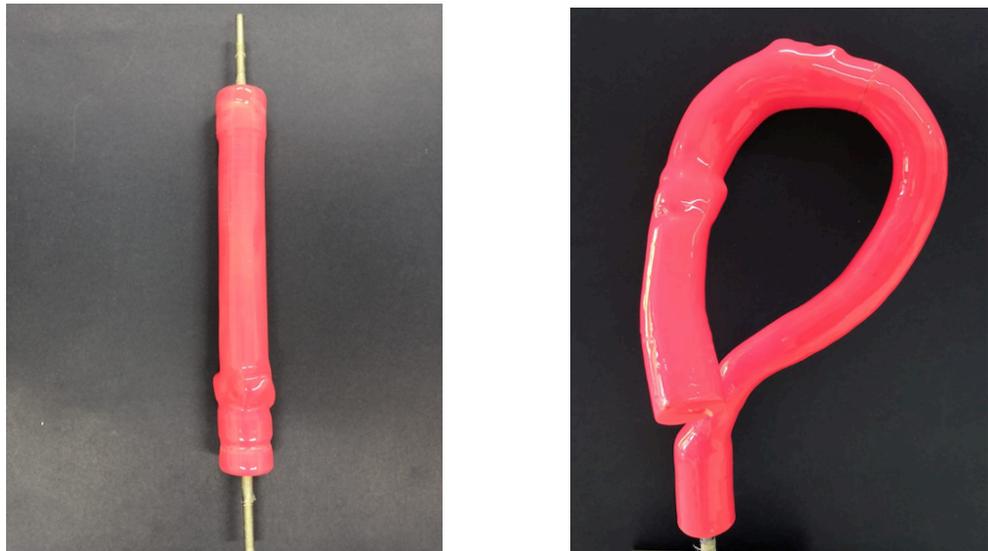


Figura 22. A sinistra lo stampo del modello di aorta rettilinea, a destra lo stampo del modello di aorta intera

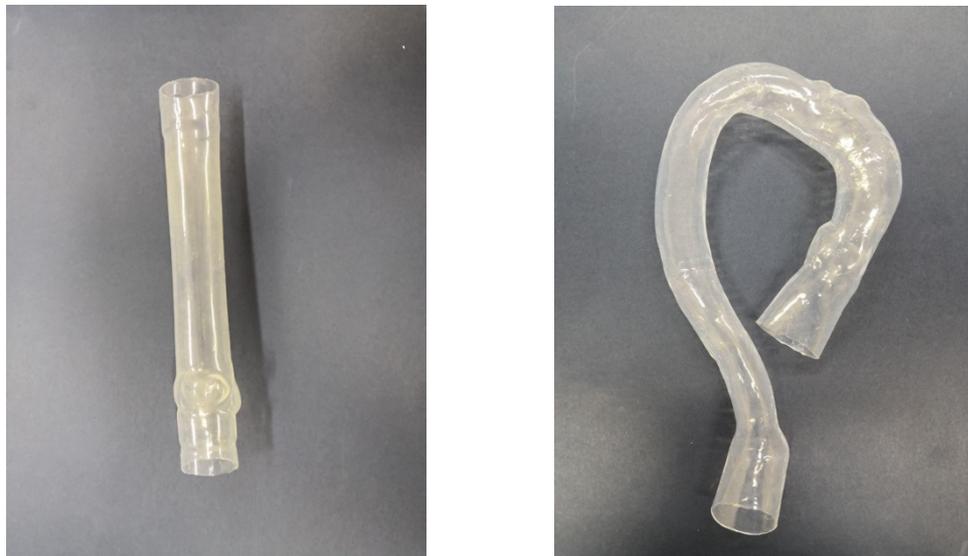


Figura 23. A sinistra il modello in silicone di aorta rettilinea, a destra il modello in silicone di aorta intera

6.5 Realizzazione valvola aortica

Per entrambi i modelli è stata realizzata in laboratorio una valvola aortica in lattice. Partendo da un file in formato STL rifinito col software Meshmixer, sono stati progettati e stampati in 3D lo stampo per realizzare la valvola e il telaio di sostegno da collocare nell'annulus. Sia lo stampo sia il telaio sono stati realizzati in resina fotosensibile tramite l'utilizzo di una stampante stereolitografica.

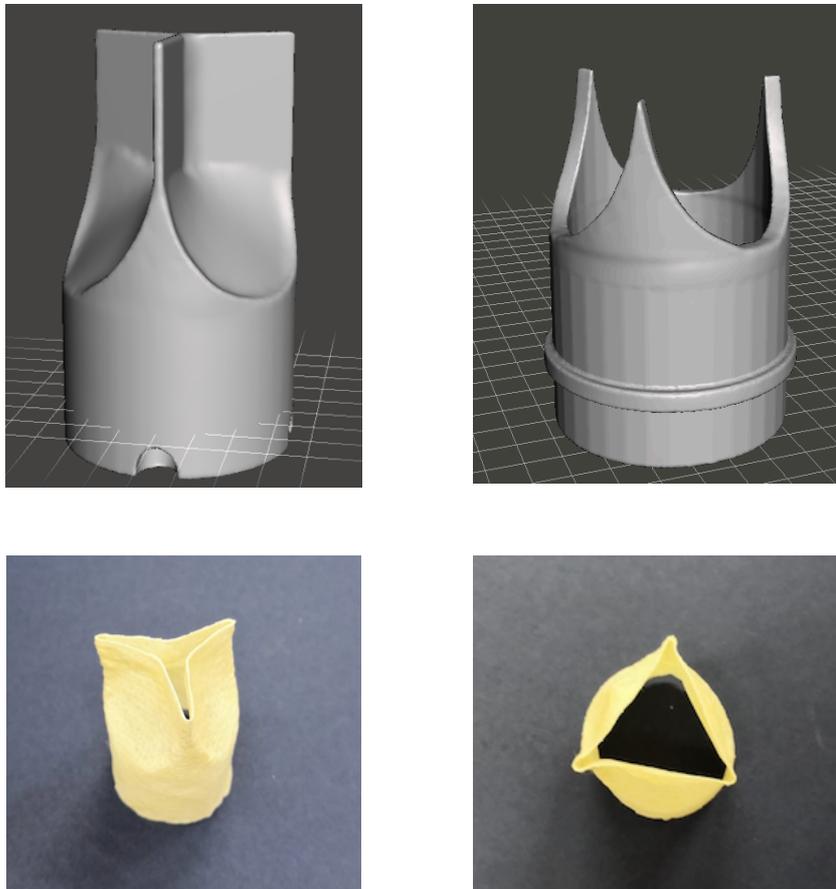


Figura 24. In alto rispettivamente il file STL dello stampo e il file STL del telaio. In basso due fotografie della valvola realizzata

Per la creazione della valvola è stato utilizzato lattice con immersa una garza con un tessuto fitto in modo da conferire alla valvola stessa proprietà ortotrope.

6.6 Evoluzione del duplicatore d'impulso

Per lo studio del secondo modello aortico è stato necessario modificare la configurazione del duplicatore d'impulso in quanto la camera aortica non era predisposta ad accogliere un'aorta con geometria fisiologica.

Tramite l'utilizzo del software Solidworks è stata progettata una nuova camera aortica e una nuova camera ventricolare in modo tale da non modificare l'ordine delle varie componenti del duplicatore iniziale.

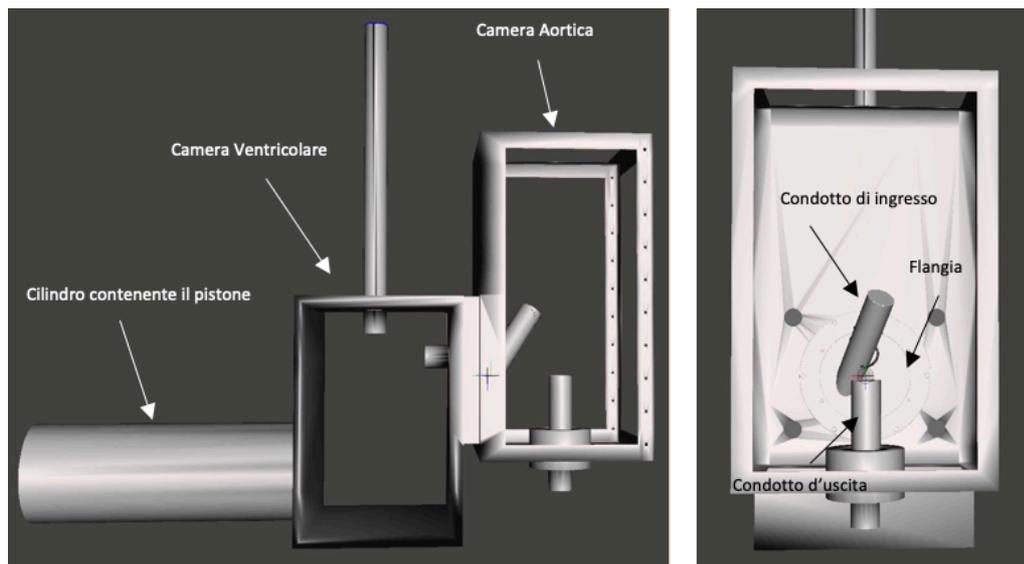


Figura 25. A sinistra vista laterale del progetto dell'evoluzione del duplicatore. A destra vista frontale della camera aortica progettata

La camera aortica è composta da un telaio in alluminio con profilo a battuta dove sono state posizionate le viti di fissaggio per le pareti in plexiglass di 15 mm di spessore in modo tale da poterle rimuovere. Inoltre,

sono state aumentate le sue dimensioni per avere uno spazio più grande dove poter lavorare per il fissaggio dell'aorta.

La camera ventricolare è composta da pareti in plexiglass di 20 mm di spessore incollate tra di loro, con una sola parete amovibile.

Tra la camera ventricolare e la camera aortica è stato collocato uno spessore in plexiglass di 15 mm incollato alla parete della camera ventricolare. Questo spessore permette il sostegno per la camera aortica e la comunicazione tra le due camere attraverso un foro di 12 cm di diametro.

Davanti al foro, dalla parte della camera aortica, viene collocata una flangia in resina fotosensibile stampata in 3D ad hoc per ogni aorta per poter collocare aorte con geometrie molto differenti.

Lo schema del duplicatore utilizzato è rappresentato in figura.

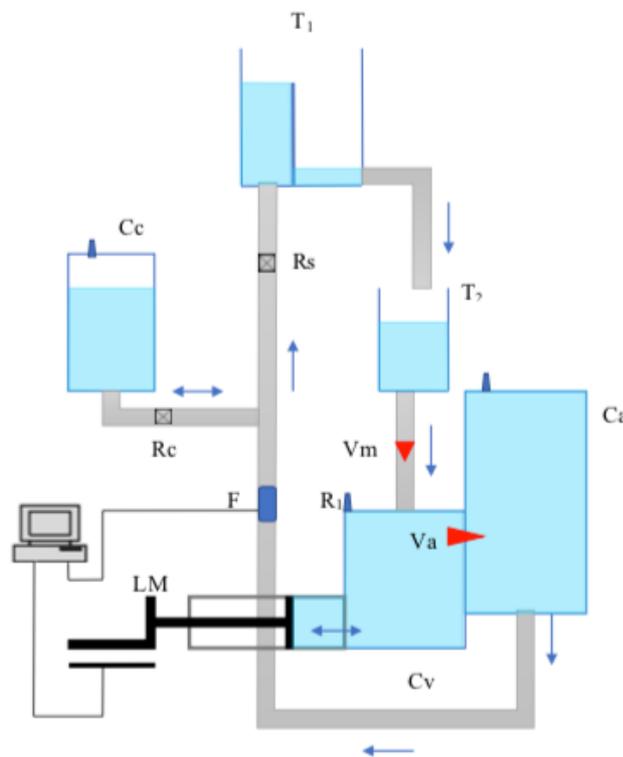


Figura 26. Rappresentazione schematica del duplicatore d'impulso composto da: motore lineare (ML), camera ventricolare (Cv), camera aortica (Ca), camera compliance (Cc), serbatoio di carico (T₁), atrio destro (T₂), valvola di non ritorno (Vm), valvola aortica (Va), resistenza sistemica (Rs), resistenza della compliance (Rc), flussimetro (F), sonda piezometrica posta prima dell'aorta (Pv), sonda piezometrica posta dopo l'aorta (Pa)

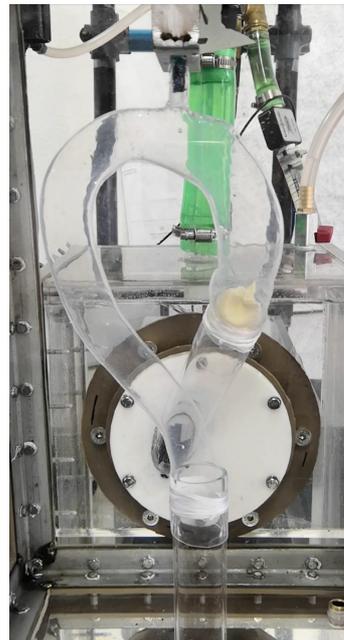
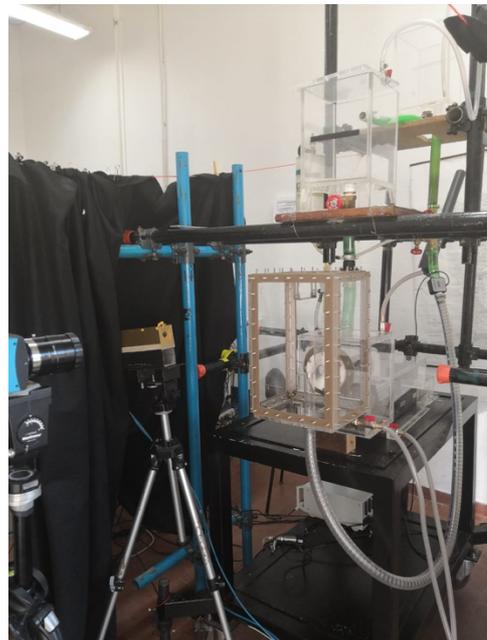


Figura 27. Fotografia del duplicatore utilizzato per lo studio del modello aortico intero (in alto a destra e in basso a sinistra), e la fotografia del modello aortico montato (in basso a destra)

7. RISULTATI

Gli esperimenti sono stati effettuati impostando nel pannello di controllo del motore lo stroke volume a 64ml e periodo a 2.4s, rispettando i parametri adimensionali ricavati dall'equazione di Navier Stokes.

I parametri adimensionali quali numero di Reynolds e numero di Womersley sono stati calcolati tenendo in considerazione un fattore moltiplicativo pari a 3 dato dal rapporto delle viscosità tra sangue e acqua:

$$Re = \frac{U_{peak} D}{\nu_{acqua}} = 5971 \quad , \quad Wo = \sqrt{\frac{D^2}{\nu_{acqua} T}} = 19 \quad ,$$

dove $U_{peak} = 0.206$ m/s rappresenta la velocità massima trasversale del fluido che viene raggiunta durante il picco sistolico, $D = 0.029$ m è il diametro dell'orifizio di ingresso, $\nu_{acqua} = 1 \times 10^{-6}$ m²/s è la viscosità cinematica dell'acqua e $T = 2.4$ s il periodo.

I parametri così impostati corrispondono ad una gittata cardiaca di 4.8 litri al minuto, una frequenza cardiaca di 75 battiti al minuto, una gittata sistolica di 64 ml, con viscosità cinematica del sangue pari a 3×10^{-6} m²/s

7.1 Analisi velocimetriche sul modello di aorta rettilineo

Sono stati acquisiti novanta cicli consecutivi, considerando come ciclo la durata completa della sistole e della diastole successiva.

Per l'acquisizione delle immagini è stata utilizzata una fotocamera Mikrotron ad alta velocità con una lama di luce generata da un laser a diodi nel vicino infrarosso (800 nm).

Dunque, utilizzando le tecniche ottiche velocimetriche e gli algoritmi di *feature tracking* sono stati calcolati i campi di velocità mediati in fase delle particelle.

Partendo dai campi di velocità sono poi state ottenute le seguenti grandezze:

- Linee di corrente
- Vorticità
- Shear Rate
- Energia cinetica turbolenta
- Finite Time Lyapunov Exponent (FTLE)

Dal momento che sono state acquisite misurazioni della velocità su un piano, tutte le grandezze sono state calcolate valutando solo le due componenti di velocità misurate.

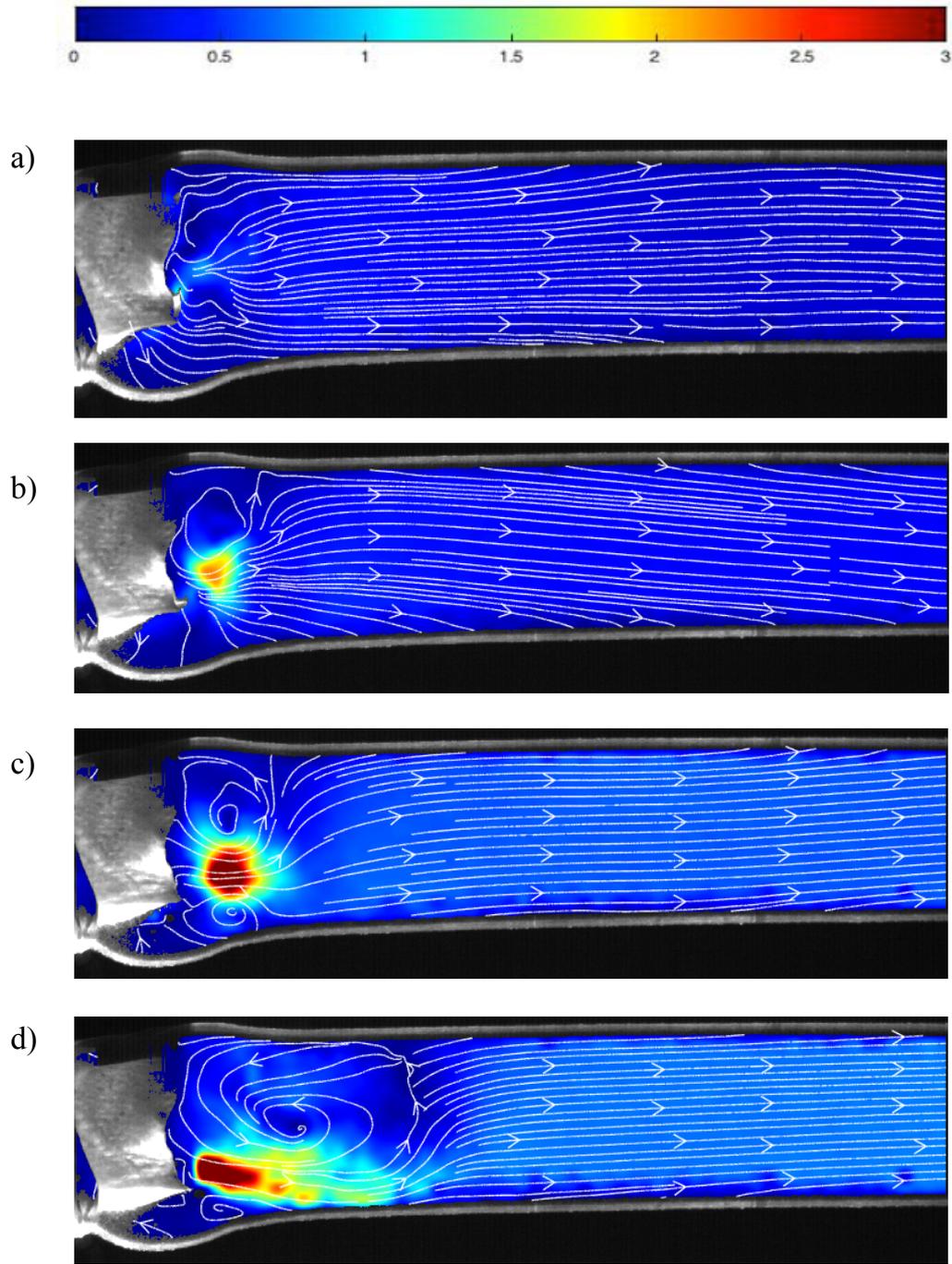
7.1.1 Linee di Corrente

Le linee di corrente sono linee di campo tangenti in ogni punto alla velocità che descrivono la direzione del flusso all'interno dell'aorta.

Le linee di corrente in un campo di moto stazionario corrispondono alle traiettorie delle particelle. Le traiettorie vengono calcolate integrando il campo di velocità e disegnate dalla funzione Matlab *streamslice*.

È stata utilizzata come tecnica di visualizzazione la tecnica Color-doppler, che sfrutta una mappa di colori per rappresentare il modulo della velocità. Il colore rosso rappresenta moduli di velocità elevati, il colore blu rappresenta, invece, moduli di velocità bassi.

In figura 1 sono rappresentate le linee di corrente calcolate in diversi istanti del ciclo nel modello aortico rettilineo.



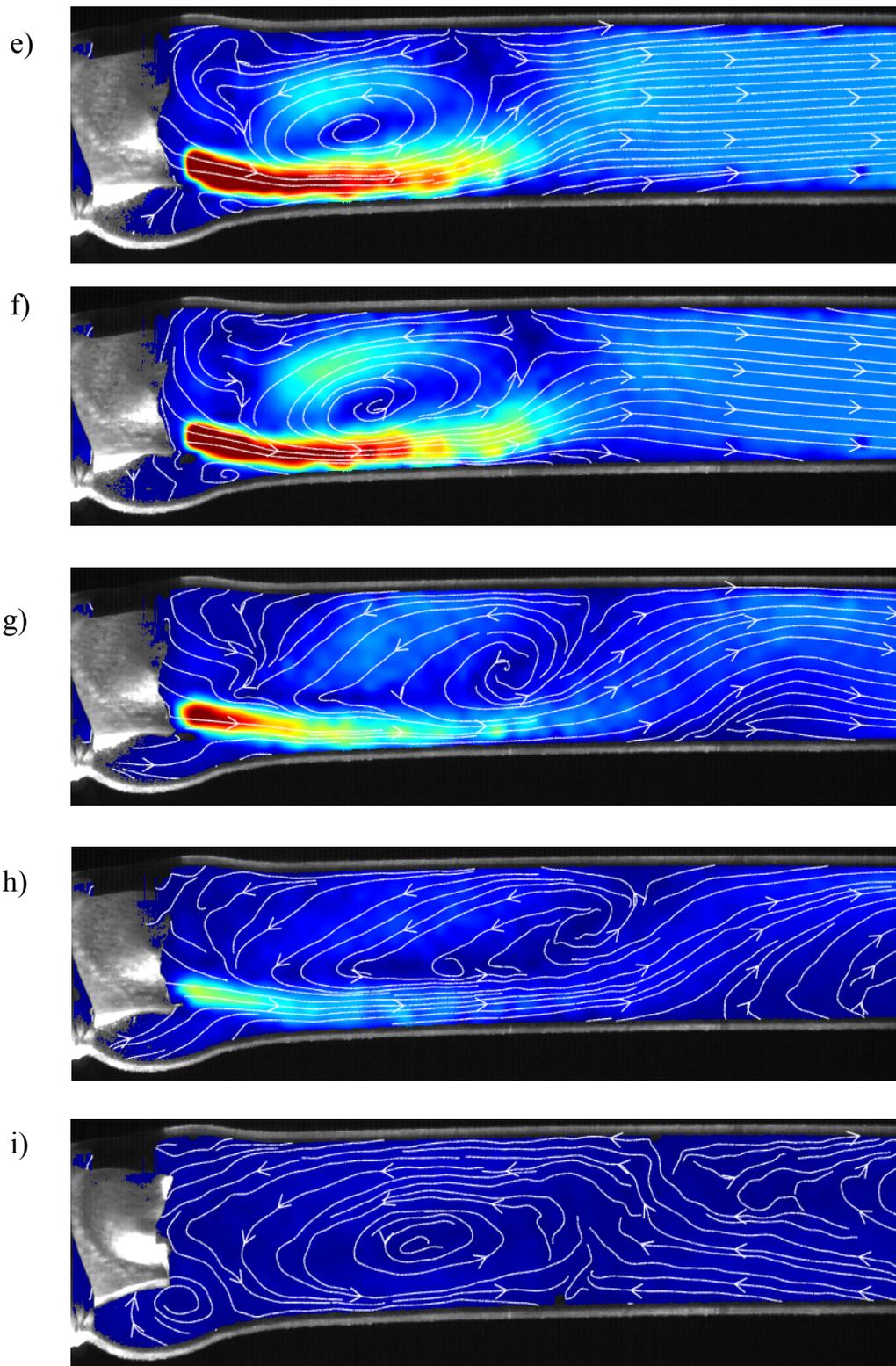


Figura 28. Linee di corrente calcolate a: a) $t = 0.025T$ del ciclo cardiaco; b) $t = 0.0308T$ del ciclo cardiaco; c) $t = 0.0356T$ del ciclo cardiaco; d) $t = 0.0559T$ del ciclo cardiaco; e) $t = 0.081T$ del ciclo cardiaco; f) $t = 0.0912T$ del ciclo cardiaco; g) $t = 0.1467T$ del ciclo cardiaco; h) $t = 0.2023T$ del ciclo cardiaco; i) $t = 0.31T$ del ciclo cardiaco.

La figura 28a è stata registrata un istante prima dell'inizio della sistole ($t=0.025T$). In quest'istante le particelle stanno iniziando a muoversi in direzione del flusso.

In figura 28e è presente il picco sistolico, ovvero nell'istante in cui il getto ha velocità massima ($t=0.081T$). Si nota che quando il getto si propaga attraverso il fluido fermo, viene generato un vortice che si propaga esattamente sopra il fluido in movimento. Questo fenomeno è dovuto alla forma dell'orifizio della valvola che risulta triangolare equilatero con la base nella parte inferiore dell'immagine (figura 29). Inoltre la valvola realizzata in laboratorio risulta leggermente stenotica, infatti il flusso è direzionato verso il basso colpendo la parete inferiore e generando il flusso vorticoso.

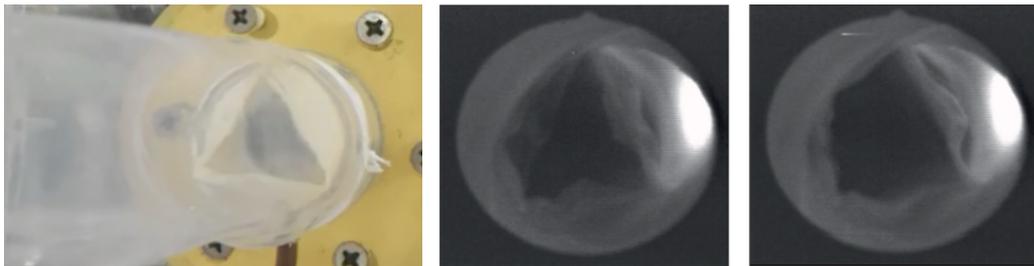


Figura 29. A sinistra l'orifizio di apertura della valvola realizzata in laboratorio utilizzata per le misure. A destra due fotografie in vivo di una valvola fisiologica l'istante prima dell'apertura e l'istante di apertura completa (Valveguru, Wikimedia Commons CC BY-SA 3.0 299 (1989)).

Nell'istante di completa chiusura della valvola, figura 28i, il vortice continua a propagarsi e si genera un flusso retrogrado che crea un piccolo vortice nel seno coronarico che permette l'irrorazione delle coronarie e favorisce la chiusura della valvola.

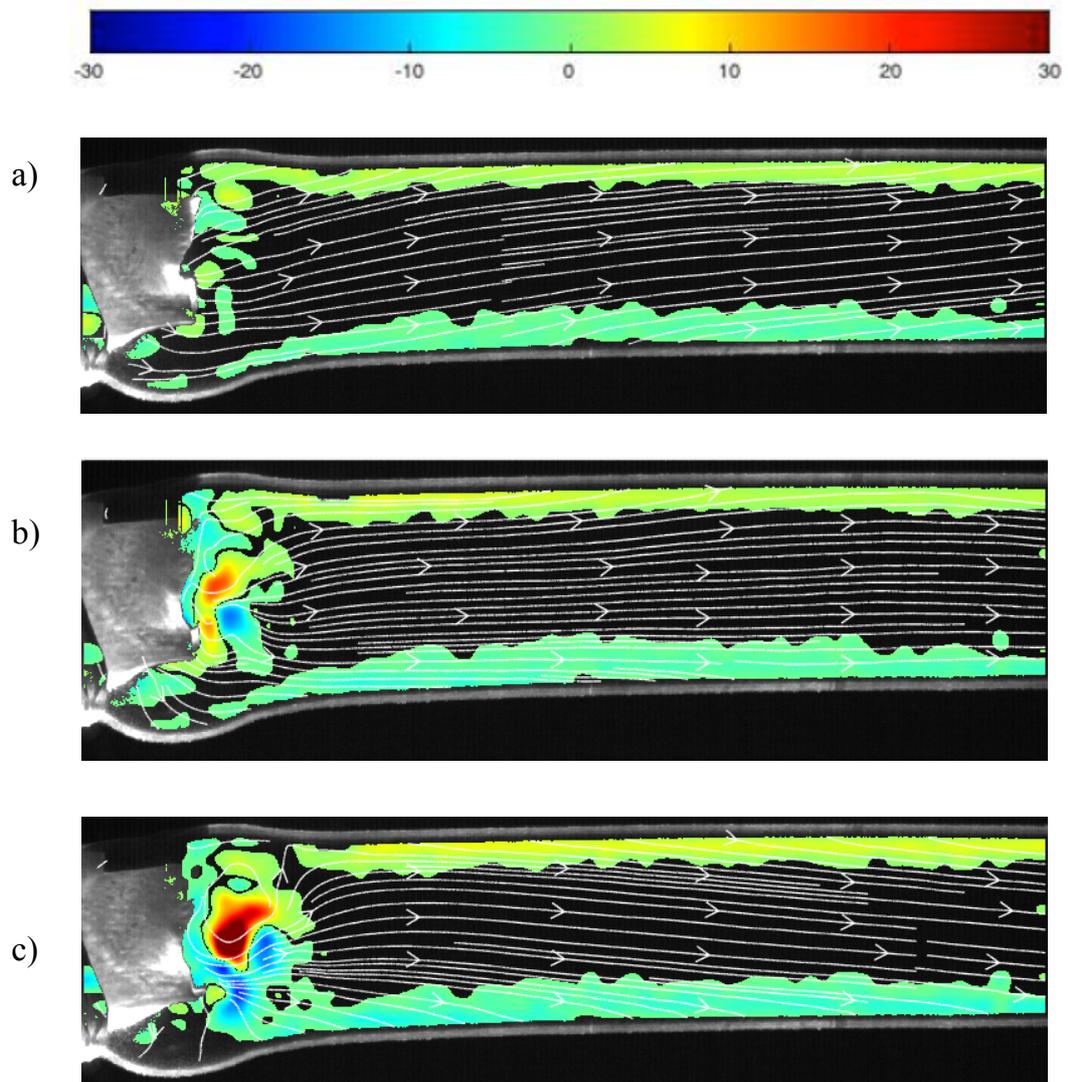
7.1.2 Vorticità

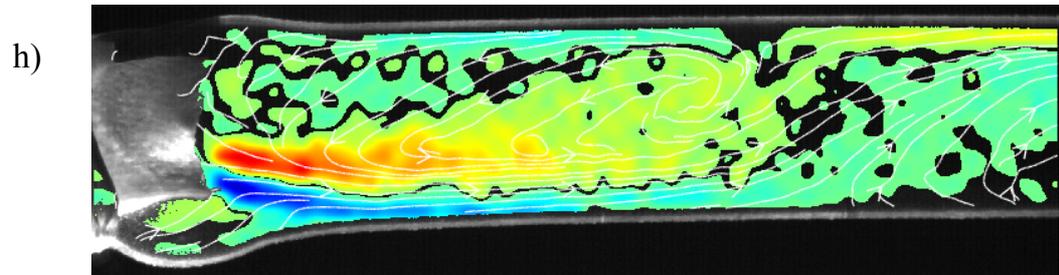
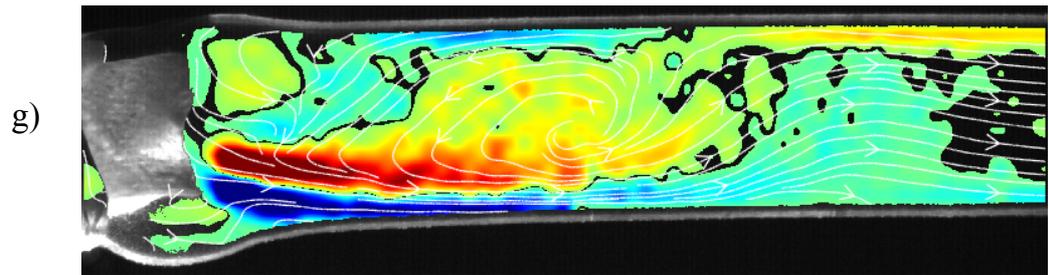
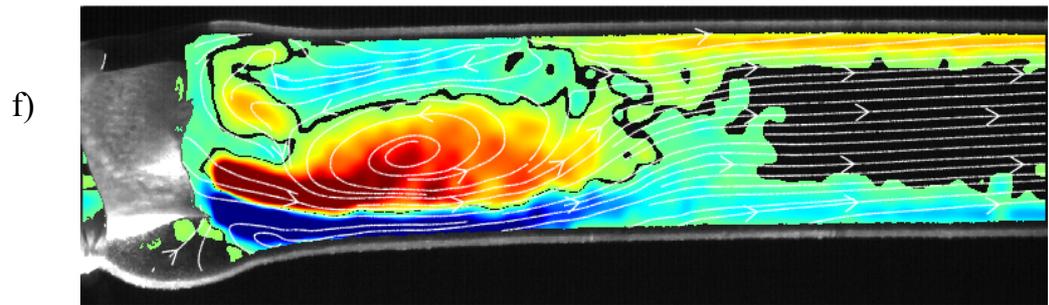
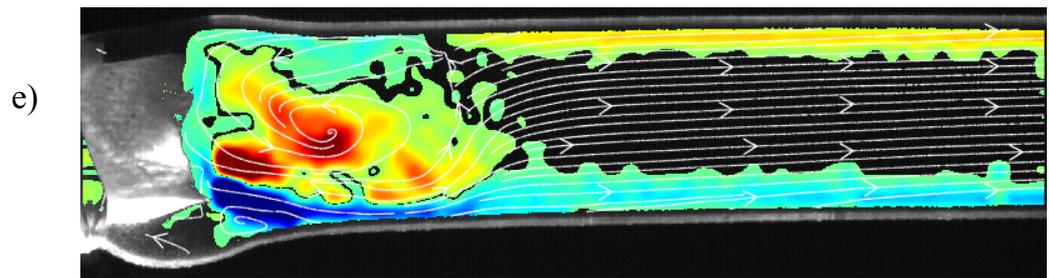
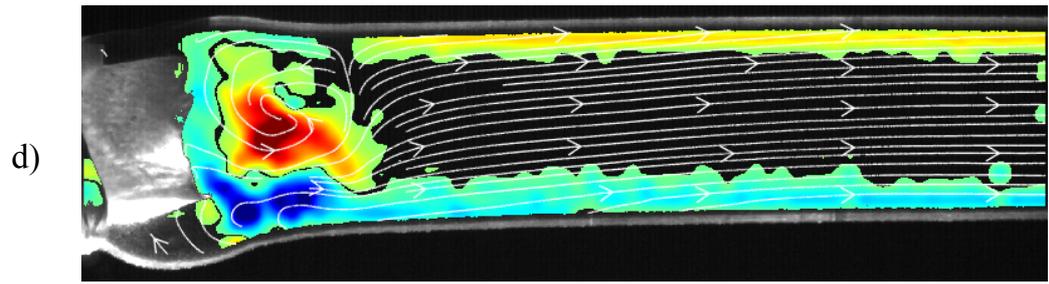
In fluidodinamica la vorticità rappresenta il rotore del campo di velocità che descrive la rotazione dell'elemento fluido.

In uno spazio bidimensionale viene espressa come:

$$\omega = \nabla \times \vec{u} = \left(\frac{\partial u_y}{\partial x} - \frac{\partial u_x}{\partial y} \right) \vec{i}_z,$$

adimensionalizzata rispetto al periodo, dove ∇ è l'operatore gradiente, \vec{u} è il vettore e u_x e u_y sono le sue componenti in x e y mediate in fase su tutte le prove e \vec{i}_z è il versore dell'asse z.





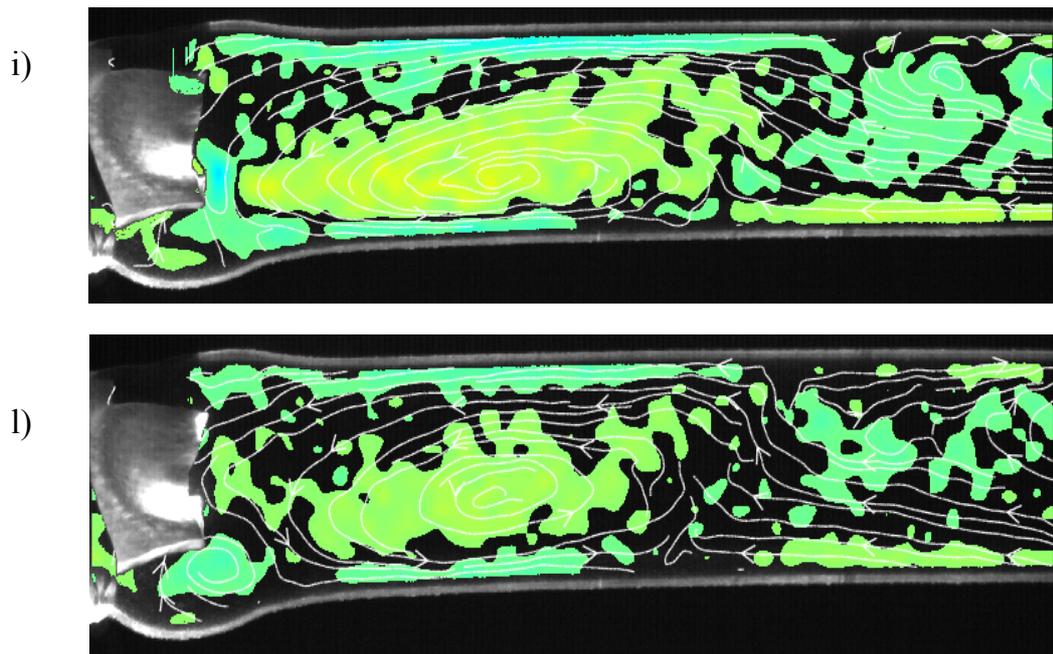


Figura 30. Vorticità calcolata a: a) $t=0.0206T$ del ciclo cardiaco; b) $t=0.025T$ del ciclo cardiaco; c) $t=0.0308T$ del ciclo cardiaco; d) $t=0.0409T$ del ciclo cardiaco; e) $t=0.0559T$ del ciclo cardiaco f) $t=0.081T$ del ciclo cardiaco; g) $t=0.1317T$ del ciclo cardiaco; h) $t=0.2023T$ del ciclo cardiaco; i) $t=0.25T$ del ciclo cardiaco. l) $t=0.310T$ del ciclo cardiaco.

Nei grafici di vorticità si evidenziano bene i vortici descritti dalle linee di corrente. In figura 30b si nota il vortice che si sta creando un attimo prima dell'apertura della valvola ($t=0.025T$). Durante il picco sistolico ($t=0.081T$) si vede come il vortice abbia direzione oraria dove è presente il getto (il colore blu scuro indica una vorticità negativa molto alta) e direzione antioraria sopra il getto con intensità molto elevata; inoltre è presente uno strato limite sulla superficie della parete superiore e inferiore generato da alti gradienti di velocità sulle pareti stesse che si traducono in altri sforzi viscosi (figura 30f).

Il vortice continua a rimanere intatto anche dopo la fine della sistole, figura 30i ($t=0.025T$), e in figura 30l ($t=0.310T$) si può apprezzare il vortice che

si crea nel seno coronarico che risulta avere un'intensità decisamente più bassa rispetto al vortice del picco sistolico.

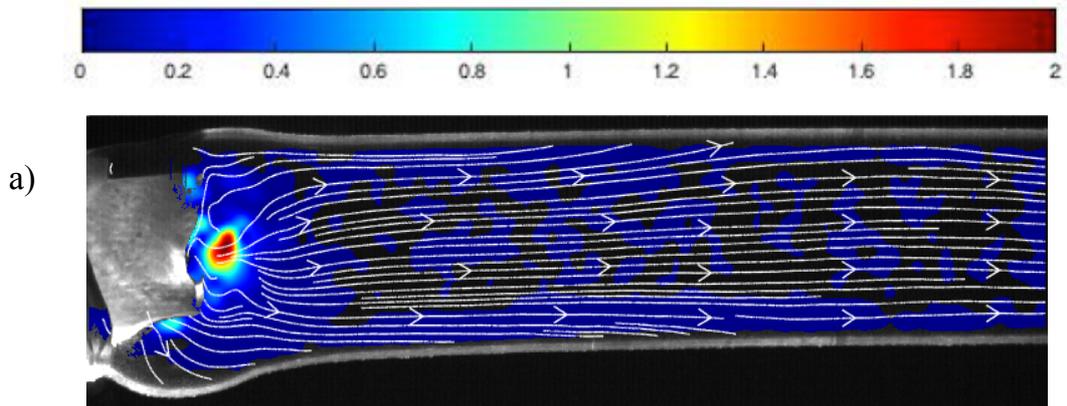
7.1.3 Energia cinetica Turbolenta

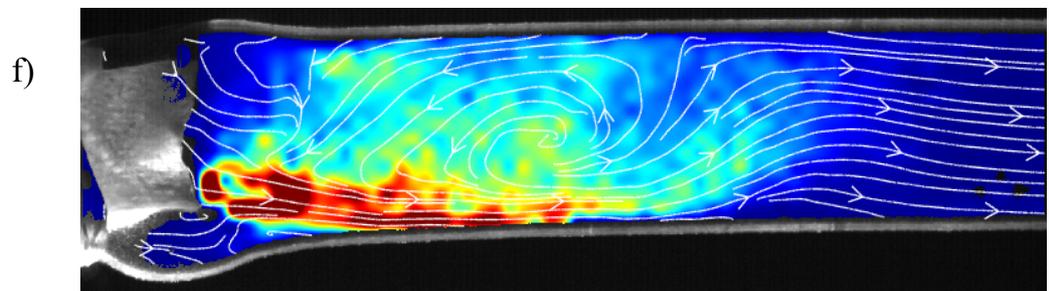
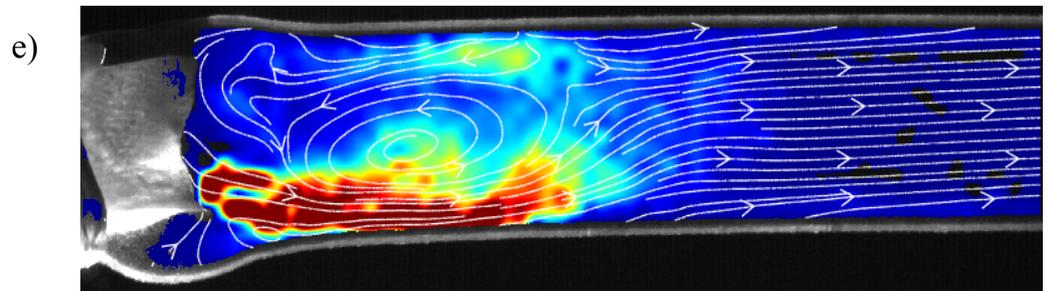
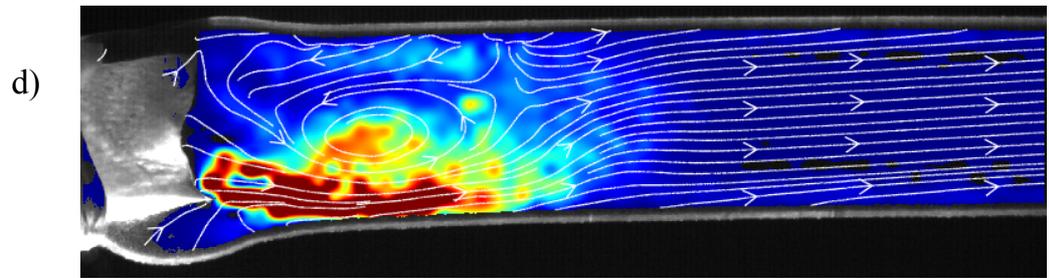
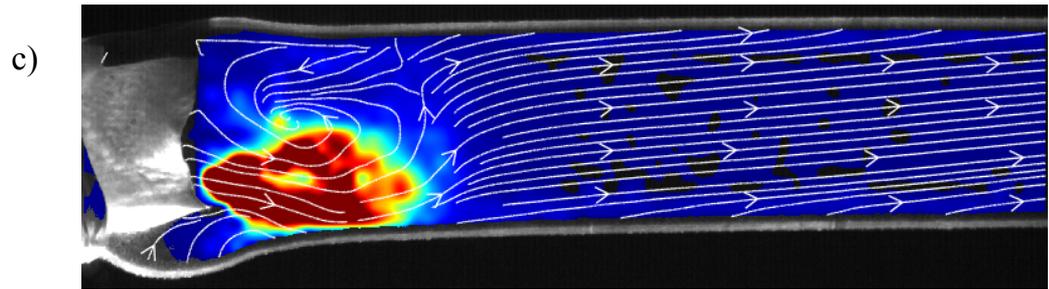
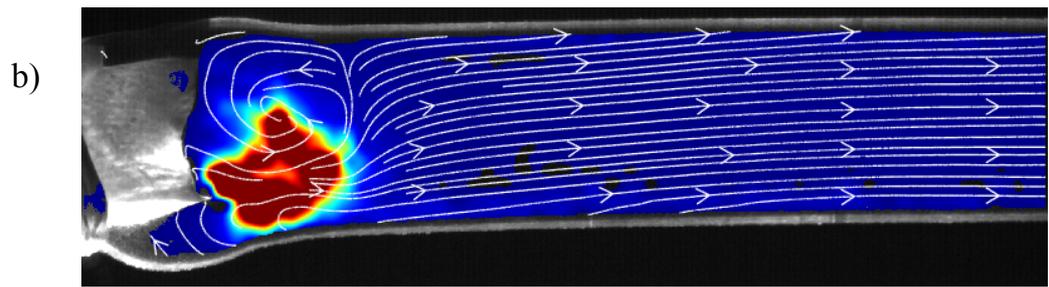
L'energia cinetica turbolenta (TKE) rappresenta l'energia associata alle fluttuazioni della velocità rispetto alla velocità media.

Per ogni istante di tutte le prove viene calcolato lo scarto quadratico medio tra la velocità e la velocità media in quell'istante e viene espressa come:

$$TKE = \frac{\bar{u}'_x{}^2 + \bar{u}'_y{}^2}{2} = \frac{(\overline{u_x^2} - \bar{u}_x^2) + (\overline{u_y^2} - \bar{u}_y^2)}{2} = \frac{var(u_x) + var(u_y)}{2},$$

adimensionalizzata rispetto alla velocità di picco sistolico, dove u'_x e u'_y sono le componenti fluttuanti della velocità in x e y.





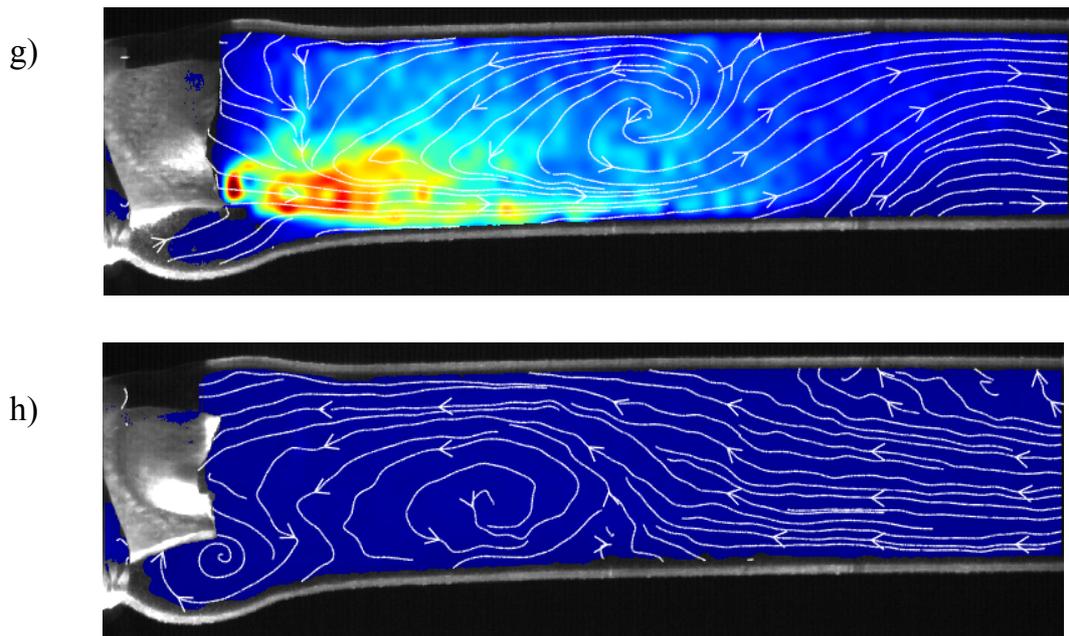


Figura 51. TKE calcolata a: a) $t = 0.025T$ del ciclo cardiaco; b) $t = 0.0409T$ del ciclo cardiaco; c) $t = 0.051T$ del ciclo cardiaco; d) $t = 0.0709T$ del ciclo cardiaco e) $t = 0.081T$ del ciclo cardiaco; f) $t = 0.1216T$ del ciclo cardiaco; g) $t = 0.1621T$ del ciclo cardiaco h) $t = 0.31T$ del ciclo cardiaco.

In figura 31 sono rappresentati gli istanti caratteristici della sistole cardiaca. Si nota che la TKE è elevata al picco sistolico (figura 31e) e ai bordi del getto.

Inoltre, il getto sistolico genera più strutture vorticosi che riempiono il lume del vaso (figura 31f). Finita la sistole si crea un flusso retrogrado che forma un vortice nel seno coronarico (figura 31h).

7.1.4 Shear Rate

Lo shear rate rappresenta la velocità di scorrimento tra due strati adiacenti di fluido ed è descritto dalla parte simmetrica dal tensore gradiente di velocità.

$$\tau_{ij} = -p\delta_{ij} + 2\nu e_{ij},$$

dove τ_{ij} è il tensore degli sforzi, p è la pressione esercitata dal fluido sulla superficie, ν è la viscosità cinematica del fluido ed e_{ij} è la parte simmetrica del tensore gradienti di velocità delle deformazioni.

Siccome stiamo considerando un fluido incomprimibile e $i \neq j$ perché si prende in considerazione la parte simmetrica, allora τ_{ij} diventa:

$$\tau_{xy} = 2\nu e_{xy} = \nu (u_{x,y} + u_{y,x}).$$

Infatti, lo shear rate è proporzionale allo sforzo viscoso a meno della costante di viscosità del fluido. La componente dello sforzo viscoso valutata è la componente tangenziale, ovvero lo sforzo di taglio.

In ogni punto del mezzo continuo, se si identifica una superficie, il fluido esercita una certa forza per unità di area, con una sua direzione, sulla superficie stessa. Cambiando la superficie cambia anche la forza.

Un globulo rosso ha una superficie con tutte le giaciture possibili, dunque è possibile identificare la superficie dove è presente il massimo sforzo di taglio che è quello critico per l'eventuale danneggiamento dei globuli rossi (emolisi).

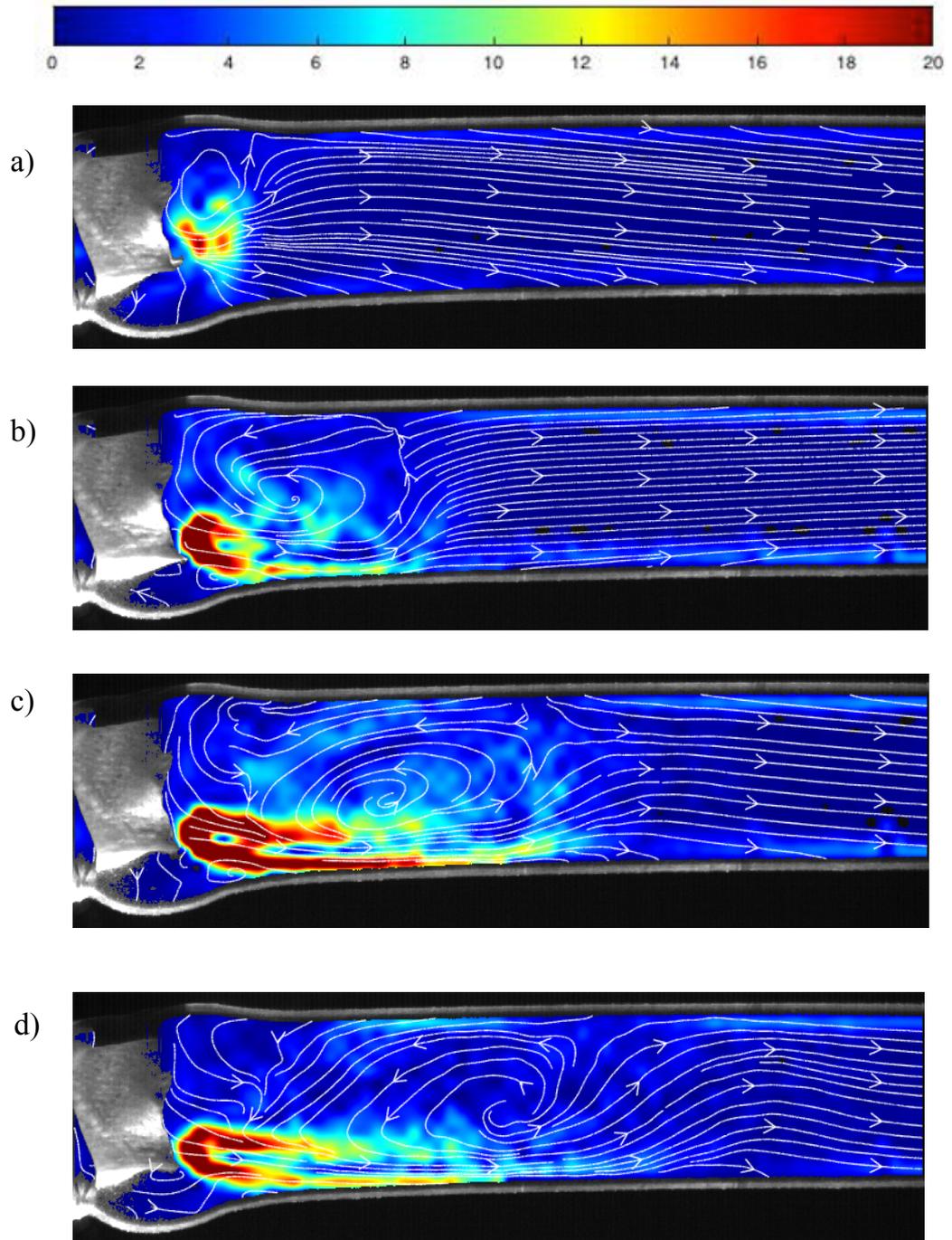
Il ruolo degli sforzi di taglio è cruciale per quanto riguarda la funzione endoteliale vascolare e in varie condizioni patologiche (Papaioannou et al., 2005). Infatti, sono particolarmente importanti per la funzione delle cellule dell'endotelio, della loro espressione genica e della loro struttura.

Vi è una crescente evidenza che i geni sono espressi in modo diverso a seconda del livello e del tipo di sforzo di taglio a cui sono esposti (Reneman et al., 2005).

Tuttavia sforzi di taglio anomali possono generare emolisi intravascolare patologica, ovvero la distruzione incontrollata degli eritrociti (Blackshear, 1972).

Lo shear rate massimo calcolato è espresso come:

$$SR_{max} = \left(\frac{\partial u_x}{\partial x} - \frac{\partial u_y}{\partial y}\right)^2 + \left(\frac{\partial u_x}{\partial y} + \frac{\partial u_y}{\partial x}\right)^2.$$



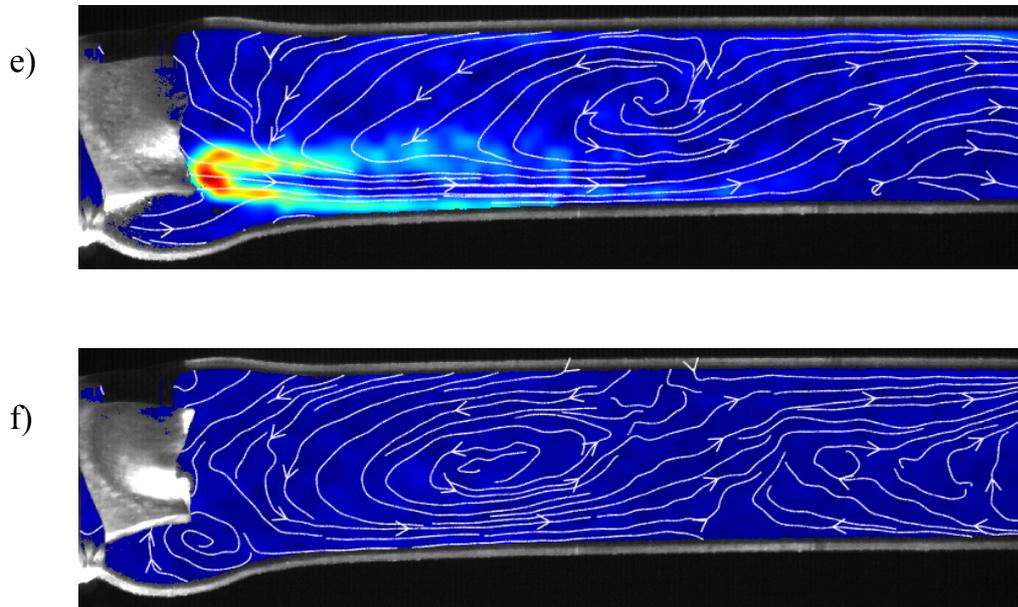


Figura 32. Shear Rate calcolato a: a) $t=0.0308T$ del ciclo cardiaco; b) $t=0.0559T$ del ciclo cardiaco; c) $t=0.0811T$ del ciclo cardiaco; d) $t=0.1371T$ del ciclo cardiaco; e) $t=0.1829T$ del ciclo cardiaco; f) $t=0.3084T$ del ciclo cardiaco

In figura 32c si nota bene che lo sforzo di taglio è elevato ai bordi del getto e in presenza di alti gradienti di velocità, con possibile genesi di emolisi intravascolare patologica. Inoltre, anche a causa del flusso direzionato verso il basso, vicino alla parete inferiore del modello lo sforzo di taglio è elevato, con un potenziale danno della parete stessa.

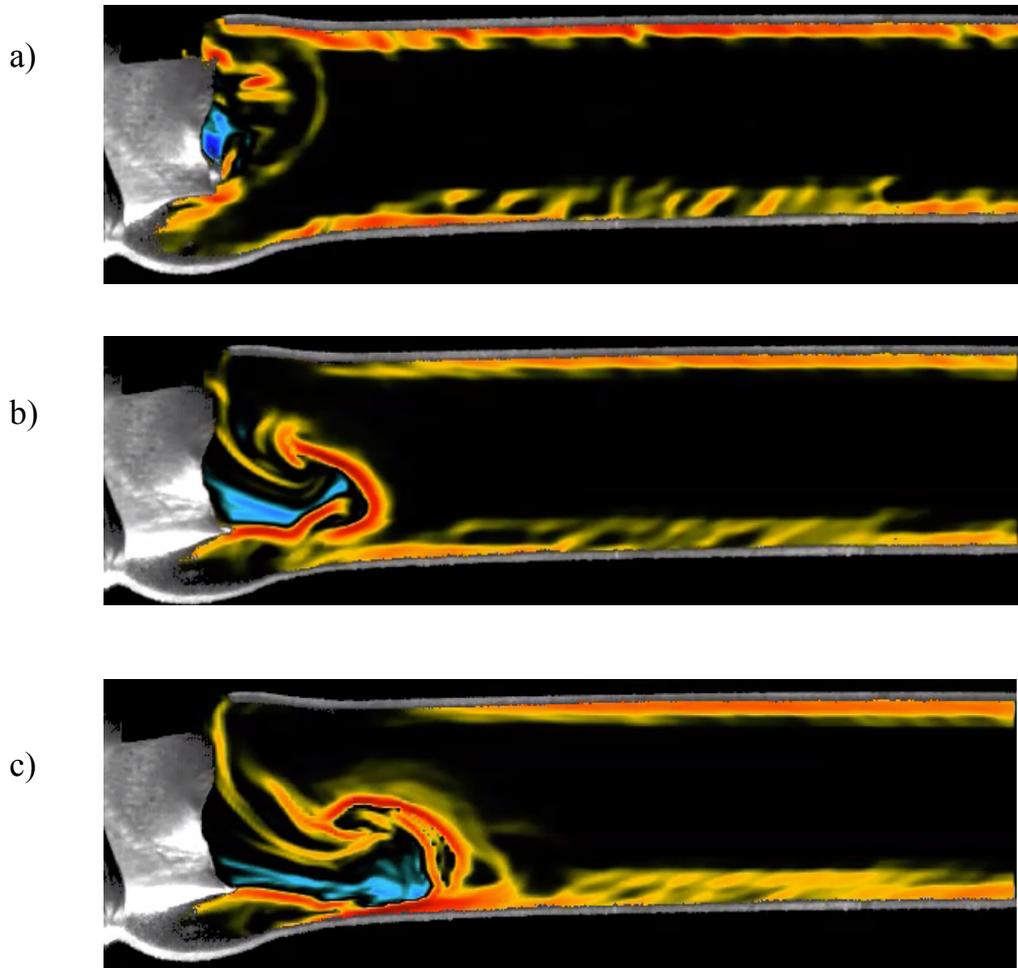
7.1.5 Esponenti di Lyapunov a Tempo Finito (FTLE)

Gli esponenti di Lyapunov a tempo finito (FTLE), introdotti da *Haller* (2001), descrivono il tasso di allungamento delle particelle fluide e, di

conseguenza, aiutano ad identificare le strutture lagrangiane coerenti le quali sono ben identificate da superfici con alto grado di separazione.

Gli FTLE possono essere calcolati integrando i campi di velocità sia in avanti sia indietro nel tempo permettendo di tracciare, rispettivamente, le strutture di repulsione o di attrazione tra particelle (Badas et al., 2016).

Queste strutture hanno la proprietà di separare in modo netto le porzioni di flusso con caratteristiche diverse e quindi risultano molto utili per visualizzare in modo immediato la struttura del flusso.



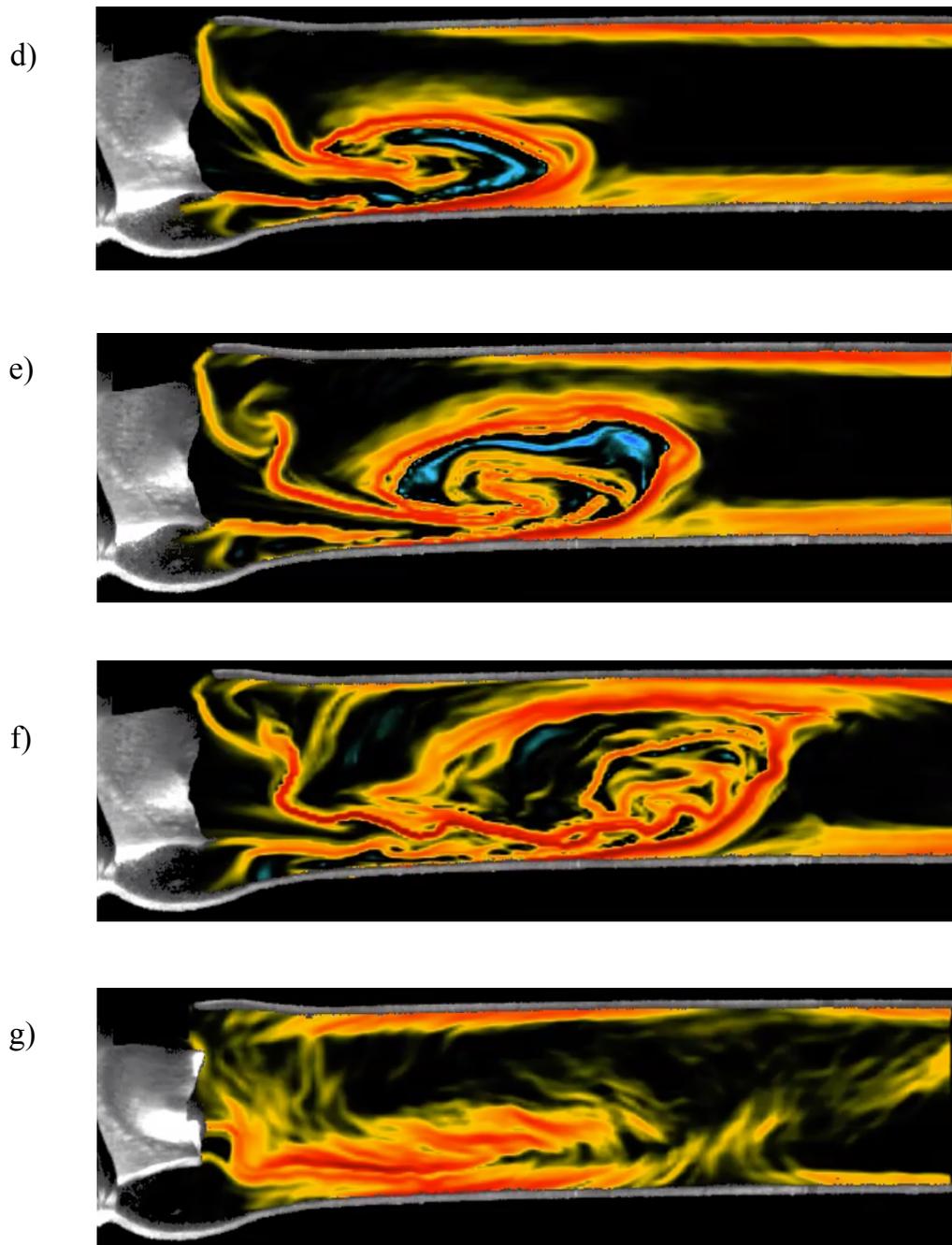


Figura 33. FTLE calcolati all'indietro durante tutto il ciclo. a) inizio del ciclo; c) istante subito dopo la sistole; e) picco sistolico; g) chiusura completa della valvola

Per il calcolo degli FTLE è stato integrato il campo di velocità partendo da un determinato punto in un istante ed è stata calcolata la velocità di separazione delle particelle, ovvero l'esponente di Lyapunov.

All'inizio della sistole si sviluppa un vortice ad anello che si propaga esattamente come già mostrato in figura 28, utilizzando gli FTLE all'indietro nel tempo si possono apprezzare i contorni del vortice che si genera e si propaga.

Le zone rosse rappresentano le zone di convergenza tra le particelle fluide, ovvero le particelle tendono a convergere nelle zone di colore rosso e una volta raggiunta la zona tendono a rimanere lì. Viceversa le zone blu rappresentano le zone di divergenza tra le particelle, ovvero le particelle che partono dalle zone blu tendono ad allontanarsi tra loro.

Questa visualizzazione ci permette di identificare l'interazione del getto con il fluido fermo.

Infatti le particelle del getto non attraversano le linee colorate di rosso poiché convergono in quelle zone.

In figura viene visualizzata bene l'interfaccia tra il getto e il fluido fermo circostante e il modo in cui evolve.

7.2 Analisi velocimetriche preliminari su modello di aorta fisiologica intera

Gli esperimenti sono stati effettuati impostando nel pannello di controllo del motore lo stroke volume a 64ml e periodo a 3.42s.

Dunque, i parametri adimensionali quali numero di Reynolds e numero di Womersley sono stati calcolati tenendo in considerazione un fattore moltiplicativo pari a 4 dato dal rapporto delle viscosità tra sangue e acqua:

$$Re = \frac{U_{peak} D}{\nu_{acqua}} = 4190 \quad , \quad Wo = \sqrt{\frac{D^2}{\nu_{acqua} T}} = 16 \quad ,$$

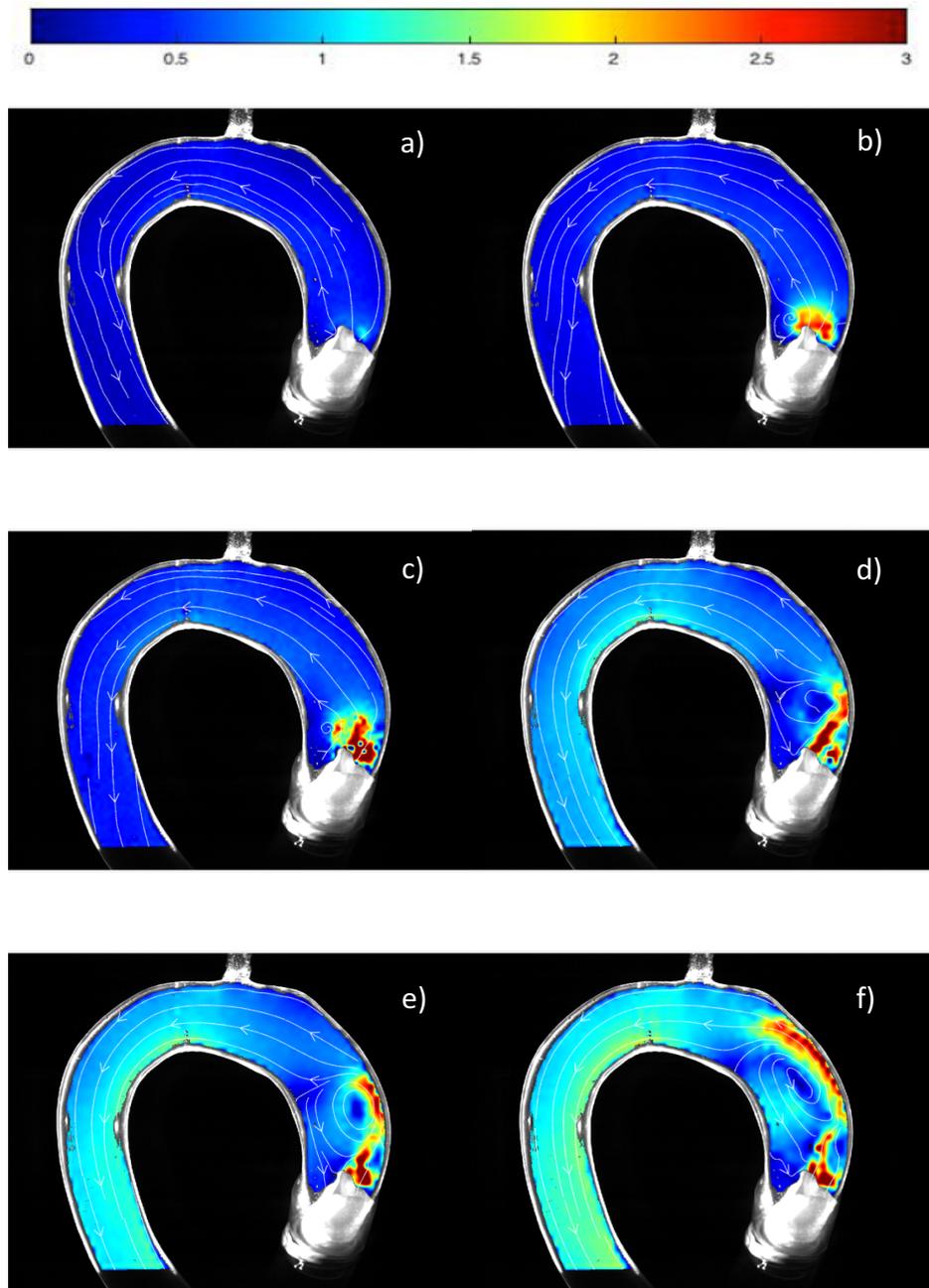
con $U_{peak} = 0.144$ m/s rappresenta la velocità massima transvalvolare del fluido che viene raggiunta durante il picco sistolico, $D = 0.029$ m è il diametro dell'orifizio di ingresso, $\nu_{acqua} = 1 \times 10^{-6}$ m²/s è la viscosità cinematica dell'acqua e $T = 3.42$ s il periodo.

I parametri così impostati corrispondono ad una gittata cardiaca di 4.49 litri al minuto, una frequenza cardiaca di 70 battiti al minuto, una gittata sistolica di 64 ml, con viscosità cinematica del sangue pari a 4×10^{-6} m²/s. Sono stati acquisiti venti cicli consecutivi, considerando come ciclo la durata completa della sistole e della diastole successiva.

Per l'acquisizione delle immagini è stata utilizzata una fotocamera Mikrotron ad alta velocità con una lama di luce generata da un laser a diodi nel vicino infrarosso (800 nm), come per le misure sul modello rettilineo. Sono stati calcolati di campi di velocità mediati in fase delle particelle, ottenendo le linee di corrente del flusso e la vorticità.

7.2.1 Linee di corrente

Di seguito sono riportate le immagini caratteristiche dei cicli acquisiti.



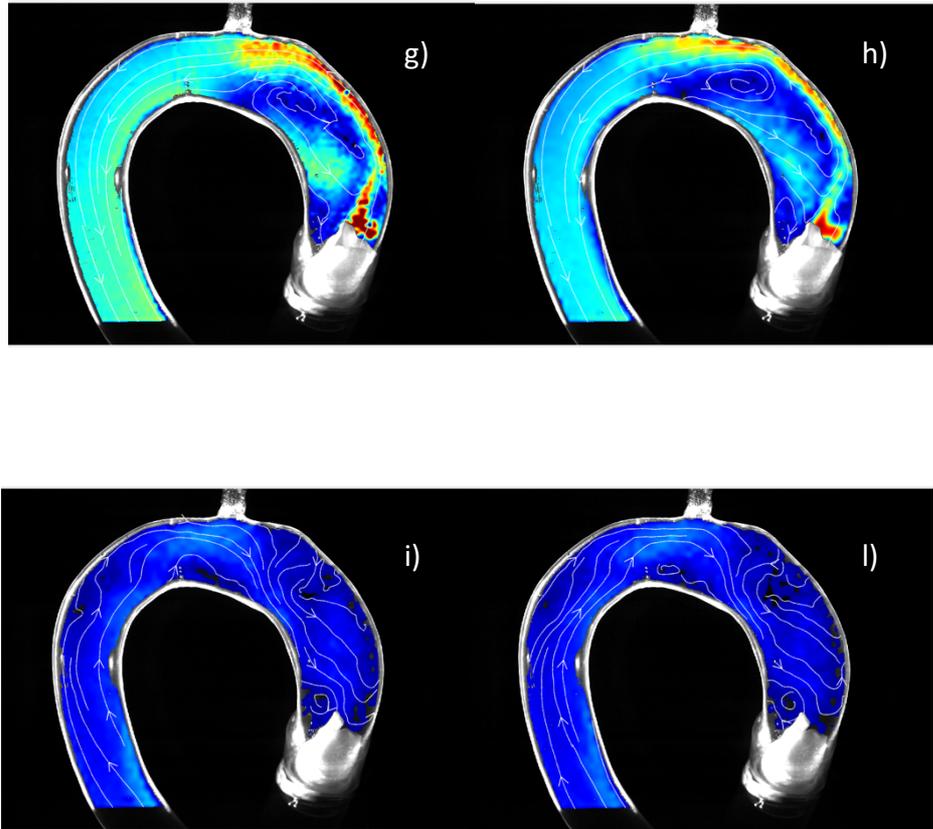


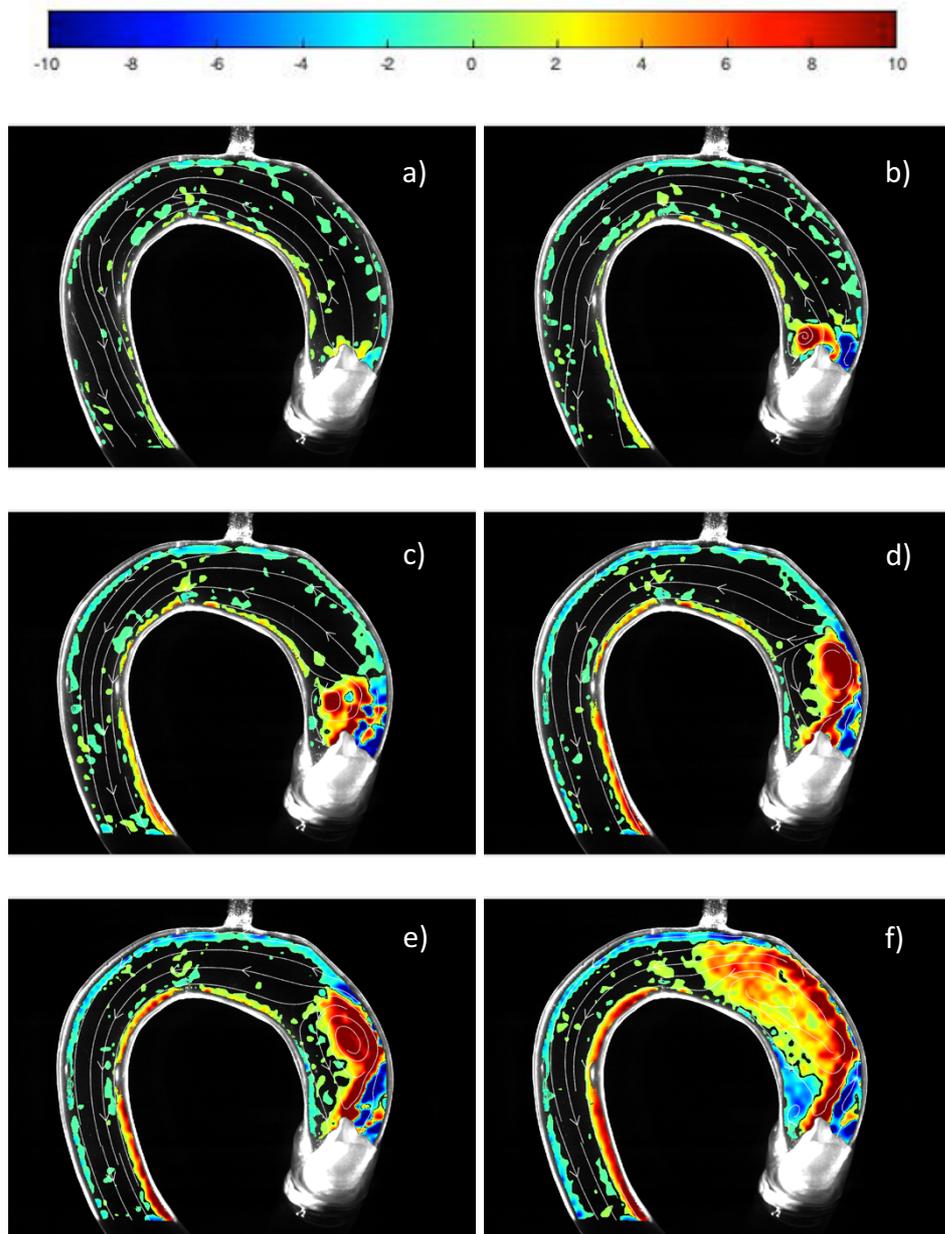
Figura 33. Linee di corrente calcolate a: a) $t=0.053T$; b) $t=0.069T$; c) $t=0.079T$; d) $t=0.104T$; e) $t=0.121T$; f) $t=0.155T$; g) $t=0.184T$; h) $t=0.224T$; i) $t=0.379T$; l) $t=0.396T$. La mappa dei colori rappresenta il modulo della velocità adimensionale $\frac{|U|}{U_{peak}}$.

In figura 33b avviene l'inizio della sistole che si sviluppa fino a $t=0.31T$. Durante la sistole si evidenzia un vortice nell'aorta ascendente (figura 33e) che viene generato dall'alto gradiente di velocità del fluido. Negli istanti successivi del ciclo il vortice si propaga fino all'arco aortico (figura 33h) e si dissipa con l'arrivo della diastole.

Inoltre, durante la diastole si genera un flusso retrogrado (figura 33i) che dalla discendente sale verso l'arco aortico e permane per quasi tutta la diastole (figura 33l). Questo flusso retrogrado è stato osservato anche *in vivo* (Harloff et al., 2019) ed ha la funzione di favorire l'irrorazione delle diramazioni aortiche, ovvero l'arteria anonima, l'arteria carotide comune e l'arteria succlavia.

7.2.2 Vorticità

Le caratteristiche vorticoshe discusse nel paragrafo precedente si evidenziano bene nella figura sottostante, nella quale sono rappresentate le mappe di vorticità adimensionalizzate rispetto al periodo.



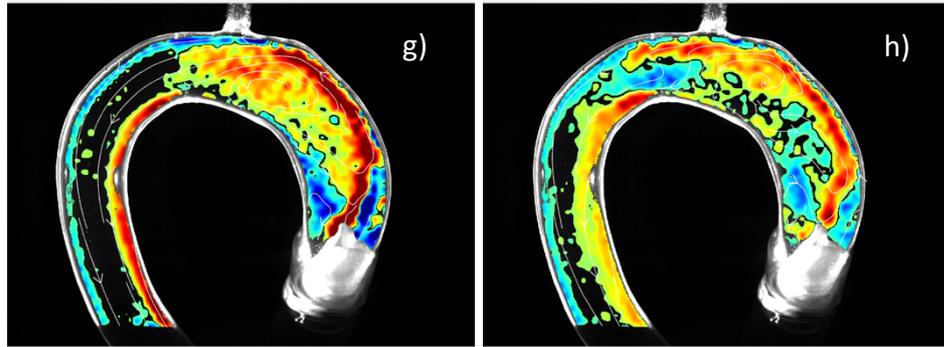


Figura 34. Vorticità calcolate a: a) $t=0.053T$; b) $t=0.069T$; c) $t=0.087T$; d) $t=0.121T$; e) $t=0.138T$; f) $t=0.190T$; g) $t=0.207T$; h) $t=0.276T$. La scala dei colori rappresenta la mappa di vorticità adimensionalizzata rispetto a $\omega \cdot T$

La sistole ha inizio a $t=0.053T$. Il getto transvalvolare genera un vortice di intensità elevata con direzione antioraria (figura 34b) che, come osservato con le linee di corrente, si propaga per tutta la durata della sistole verso l'arco aortico. A livello dell'arco il vortice si dissipa perdendo di intensità (figura 33h). Inoltre, è interessante notare che lungo tutta la parete aortica è presente un'alta vorticità data dall'alto gradiente di velocità.

Il getto transvalvolare lambisce la parete esterna dell'arco aortico generando, nello strato limite, elevati valori di vorticità ai quali corrispondono elevati valori di sforzi di taglio alla parete, che alla fine della sistole raggiungono l'altezza delle arterie epiaortiche.

CONCLUSIONI

Questo lavoro di tesi è stato svolto nel dipartimento di Ingegneria Idraulica, Civile, Ambientale ed Architettura dell'Università di Cagliari, e si è inserito all'interno di un progetto coordinato tra l'Università di Cagliari, l'Azienda Ospedaliera Brotzu e il Policlinico di Monserrato.

Nella prima fase è stato realizzato un segmento rettilineo di aorta toracica. Per la realizzazione si è partiti da immagini TAC con mezzo di contrasto acquisite dall'Azienda Ospedaliera Brotzu al fine di ottenere il file STL dell'aorta. Il file è stato poi modificato in modo da ottenere una geometria ad asse rettilinea. Successivamente è stato realizzato uno stampo in ABS mediante manifattura additiva FDM. Sullo stampo è stata depositata della gomma siliconica per ottenere il modello finale trasparente.

Il modello è stato montato all'interno del duplicatore d'impulso e sono state acquisite le serie di immagini ad alta velocità che sono state processate con algoritmi di *feature tracking* ottenendo campi di velocità del fluido, vorticità, energia cinetica turbolenta, *shear rate* ed esponenti di Ljapunov a tempo finito.

Nella seconda fase è stata messa a punto la tecnica per poter ottenere un modello di un'intera aorta toracica in silicone.

Inoltre, è stato riprogettato il duplicatore d'impulso per poter ospitare al suo interno il modello realizzato. Il modello finale è stato montato all'interno del duplicatore d'impulso riprogettato e, tramite l'utilizzo di

tecniche ottiche velocimetriche, sono stati ottenuti i campi di velocità del fluido.

Parallelamente alla realizzazione dei due modelli di aorta è stata realizzata una valvola aortica tricuspide in lattice. E' stato progettato lo stampo della valvola, su cui depositare il lattice, e il telaio per poterla posizionare all'interno del duplicatore d'impulso. Sia lo stampo che il telaio sono stati realizzati in resina fotosensibile con una stampante stereolitografica.

Nella parte finale della tesi sono stati studiati i risultati ottenuti dalle tecniche velocimetriche evidenziando caratteristiche vorticose che si generano durante il picco sistolico e flussi retrogradi che si creano durante la diastole in tutti e due i modelli.

Il duplicatore d'impulso è un sistema artificiale per la sperimentazione *in vitro* che comporta inevitabilmente delle semplificazioni rispetto al caso reale. Ad esempio l'impedenza di tutta la circolazione sistemica del corpo umano è modellizzato da una camera parzialmente riempita d'aria e da un rubinetto a saracinesca.

Un'ulteriore semplificazione riguarda le pareti del modello siliconico e la camera aortica: le caratteristiche meccaniche delle pareti del vaso aortico non possono essere riprodotte dalla gomma siliconica immersa all'interno di una camera riempita d'acqua, considerando soprattutto i rapporti dell'aorta con gli altri organi e le condizioni ambientali circostanti.

Infine, i lembi valvolari sono stati considerati come delle membrane, e dunque, le proprietà meccaniche sono state ipotizzate influenti per la caratterizzazione del flusso, ma sarebbe necessario effettuare ulteriori prove per verificare l'accuratezza di questa ipotesi.

Il duplicatore d'impulso è pronto per eseguire delle prove sistematiche che potrebbero definire se esistono dei fenomeni fluidodinamici che in particolari condizioni possono potenzialmente spiegare l'insorgere di patologie vascolari.

Inoltre, sarebbe necessario effettuare uno studio sulla valvola per poter comprendere le caratteristiche meccaniche dei lembi e la loro influenza sul flusso.

BIBLIOGRAFIA

- Adrian, R. J. “Twenty Years of Particle Image Velocimetry.” *Experiments in Fluids* 39, no. 2 159–69. (2005).
- Adrian, R.J. “Particle-Imaging Techniques for Experimental Fluid Mechanics”. *Fluid Mech*; 23:261-304 (1992).
- Badas, MG, Domenichini, Querzoli. “Esponenti Di Lyapunov A Tempo Finito Come Indicatori Di Emostasi Nel Ventricolo Sinistro” *XXXV Convegno Nazionale di Idraulica e Costruzioni Idrauliche*, Bologna; IT (2016).
- Barron, J L, D J Fleet, and S S Beauchemin. “Performance of Optical Flow Techniques,” *International Journal of Computer Vision*; pp43-77; (1994).
- Bjork VO, Intonti F, Meissl A. “A mechanical pulse duplicator for testing prosthetic mitral and aortic valves.” *Thorax* 17:280-3. (1962).
- Black, M. M., T. Cochrane, P. V. Lawford, H. Reul, and A. Yoganathan. “Design and flow characteristics. *Replacement Cardiac Valves*” Bodnar, E. and Frater, R. W. M., Eds. *Pergamon Press*, New York, pp. 1–20 (1991).
- Blackshear, P.L. “Mechanical haemolysis in flowing blood.” In *Biomechanics: Its Foundation and Objectives*, Y.C. Fung, ed., Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. (1972).
- Bruss, K. H., H. Reul, J. Van Gilse, and E. Knott. “Pressure drops and velocity fields at four mechanical heart valve prostheses: Bjork–

- Shiley Standard, Bjork–Shiley Convexo-Concave, Hall–Kaster and St. Jude Medical.” *Life Supp. Syst.*, 1:3–22 (1983).
- Chandran K.B., Cabell G.N., Khalighi B., Chen CJ. “Pulsatile flow past aortic valve bioprotheses in a model human aorta.” *J Biomechanics*; 177(8):609-19 (1984).
- Chandran, K. B. “Oulatile flow past St. Jude Medical bi-leaflet valve: An in vitro study.” *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 89:743–749 (1985).
- Chetverikov, D. “Applying Feature Tracking To Particle Image Velocimetry.” *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence* 17, no. 04, 487–504 (2003).
- Chiarugi, G., Bucciante, L. “Istituzioni di Anatomia dell’uomo” (1972).
- d’Amati, G., Leone, O., Nistri, S., Roghi, A., Angelini, A., Basso, C., Biagini, E., Colombo, E., Mele, D., Pepe, G., Rapezzi, C., Thiene, C. “Cambi di paradigma in tema di aorta: implicazioni cliniche e terapeutiche. La biopatologia dell’aorta.” (2014).
- Davila J., Trout R., Sunner J., Glover R. “A simple mechanical pulse duplicator for cinematography of cardiac valves in action”. *Ann Surg*; 143(4): 544–51 (1956).
- De Tullio, M.D., Cristallo, A., Balaras, E., Verzicco, R. “Direct numerical simulation of the pulsatile flow through an aortic bileaflet mechanical heart valve.” *J. Fluid Mech.* 622, 259–290 (2009).
- Duran CG, Gunning AJ, McMillan T. “A simple versatile pulse duplicator.” *Thorax*; 19:503-6 (1964)
- Fung, Y. C. “Biomechanics: Circulation.” Department of Bioengineering University of California, San Diego La Jolla, CA. (1997).
- Gabbay, S., D. H. McQueen, E. L. Yellin, and R. W. M. Frater. “In vitro hydrodynamic comparison of mitral valve prostheses at high flow rates”. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 76:771–787 (1978).
- Goodale F. Jr, Shaw R. “Functional examination of the heart at autopsy.”

N Engl J Med; 253:719-21 (1955),

- Hager, A., Kaemmerer, H., Rapp-Bernhardt, U., Blücher, S., Rapp, K., Bernhardt, T. M., Galanski, M., Hess, J. “Diameters of the Thoracic Aorta throughout Life as Measured with Helical Computed Tomography.” *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 123, no. 6, 1060–66 (2002).
- Haller G. “Distinguished material surfaces and coherent structures in three-dimensional fluid flows.” *Physica D: Nonlinear Phenomena* 149:248–277 (2001).
- Harloff, A., Hagenlocher, P., Lodemann, T., Hennemuth, A., Weiller, C., Hennig, J., and Vach, W. “Retrograde Aortic Blood Flow as a Mechanism of Stroke: MR Evaluation of the Prevalence in a Population-Based Study.” *European Radiology*, (2019).
- Jahanmiri, M. “Particle Image Velocimetry: Fundamentals and Its Applications,” n.d., 58. (2011)
- Kelley R.R., Goodale F. Jr, Castleman B. “The dynamics of rheumatic and calcific aortic valve disease.” *Circulation*; 22:365-75 (1960).
- Maietta, A. “Stampa 3D. Guida completa”. Edizioni LSWR (2014).
- Marom, G., Halevi, R., Haj-Ali, R., Rosenfeld, M., Schäfers, H.-J., Raanani, E. “Numerical model of the aortic root and valve: optimization of graft size and sinotubular junction to annulus ratio.” *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 146, 1227–1231 (2013).
- Martin, T. R. P., J. A. Palmer, and M. M. Black. “A new apparatus for the in vitro study of aortic valve mechanics.” *Eng. Med.*, 7:229–230 (1978).
- McMillan IKR, Daley R, Matthews MB. “The movement of aortic and pulmonary valves studied post mortem by colour cinematography.” *Br Heart J*; 14(1):42–6 (1952)

- Meola, M., “Ecografia Clinica E Color Doppler In Nefrologia.” *Principi Di Emodinamica*, capitolo 5 (2008).
- Mihic, L. “Dispense del corso di meccanica dei fluidi”. Università di Pavia (2018).
- Netter F. “Atlas of Human Anatomy”. (1989).
- Pilia, T., Querzoli, G. “Studio In Vitro Del Flusso In Un Modello Patient-Specific Di Aorta Aneurismatica”. Tesi di Laurea in Ingegneria Biomedica, (2017).
- Pirozzi, M. G., Cesarelli, M., Alfano, B. “Realizzazione Di Un Fantoccio Cerebrale Antropomorfo Mediante Tecnologie Di Additive Manufacturing”. Tesi di Laurea in Ingegneria Biomedica (2016).
- Prasad, A. K., “Particle image velocimetry”. Department of Mechanical Engineering, University of Delaware, Newark, DE 19716-3140, Usa. *Current Science*, Vol. 79, No. 1, (2000).
- Quénot, G. M., J. Pakleza, and T. A. Kowalewski. “Particle Image Velocimetry with Optical Flow.” *Experiments in Fluids* 25, no. 3: 177–89 (1998)
- Raffel, M., Willert, C.E., Werely, S.T., Kompenhans, J. “Particle Image Velocimetry”, eds. *Springer*, 48-52 (2007).
- Redheuil, A., Yu, W.C, Mousseaux, E., Harouni, A. A., Kachenoura, N., Wu, C. O., Bluemke, D., and Lima, J. A. C. “Age-Related Changes in Aortic Arch Geometry.” *Journal of the American College of Cardiology* 58, no. 12 (2011).
- Reul, H., “Design and flow characteristics, *Replacement Cardiac Valves*”, McGraw-Hill, chap. 1 (1991).
- Shi, J. and Tomasi, C. “Good Features to Track.” In *Proceedings of IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition CVPR-94*, 593–600. Seattle, WA, USA: IEEE Comput. Soc. Press, (1994).
- Stamhuis, E. J. “Basics and Principles of Particle Image Velocimetry (PIV) for Mapping Biogenic and Biologically Relevant Flows.”

Aquatic Ecology 40, no. 4, 463–79 (2006).

Stanislas, M., “Particle Image Velocimetry: Progress towards Industrial Application.” (2000).

Swanson, W. M. and Clark, R. E. “A simple cardiovascular system simulator: Design and performance.” *J. Bioeng.*, 1:135–145 (1982).

Temple, L.J., Serafin, R., Calvert, N.G., Drable, J.M. “Principles of fluid mechanics applied to some situations in the human circulation and particularly to the testing of valves in a pulse duplicator.” *Thorax*; 19(3):261–7 (1964).

Walker, D. K., Scotten, L. N., Modi, V. J., and Brownlee, R. T. “In vitro assessment of mitral valve prostheses”. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 79:680–688 (1980).

Wieting, D. W. “Dynamic flow characteristics of heart valves.” *Doctoral dissertation*. University of Texas, Austin (1969).

Yoganathan, A. P., Corcoran, W. H., and Harrison, E. C. “Pressure drops across prosthetic heart valves under steady and pulsatile flow — in vitro measurements”. *J. Biomechanics*, 12:153–164 (1979).

Ringraziamenti

La realizzazione di questa tesi è stata un'esperienza che mi ha permesso di crescere professionalmente ma anche umanamente. Per questo motivo desidero ringraziare tutti coloro che ne hanno fatto parte.

Vorrei pertanto ringraziare prima di tutto il mio relatore, il Professore Ferdinando Auricchio, per avermi dato la possibilità di partecipare a questo progetto e per la sua disponibilità.

Ringrazio di cuore la Professoressa Palmina Petruzzo per il supporto, il sostegno e l'incoraggiamento datomi durante questa bellissima esperienza.

Un immenso ringraziamento va al Professor Giorgio Querzoli per avermi accolto nel suo laboratorio, per le giornate trascorse a trasmettermi la sua conoscenza, per la passione e per la dedizione che ha avuto nella realizzazione di questa tesi, facendomi appassionare al suo campo di studi e per aver reso questa esperienza indimenticabile.

Un sentito ringraziamento all'Ingegnere Vittorio Satta per la preziosa collaborazione, per la disponibilità, per la sua gentilezza e per avermi fatto appassionare alla progettazione e alla stampa 3D.

Ringrazio di cuore il Sig. Antonio Mascia, tecnico di laboratorio, per la sua professionalità, esperienza e disponibilità. La sua presenza ha reso questi mesi ancora più speciali.

Vorrei ringraziare, inoltre, gli Ingegneri Simone Ferrari, Maria Grazia Badas e Michela Garau per avermi fatto sentire parte integrante di questo progetto.

Ringrazio il Dottor Genadi Genadiev e il Dottor Gildo Matta per avermi fornito le immagini TAC e per avermi dedicato il loro tempo.

Desidero infine ringraziare Elena, compagna inseparabile di questa esperienza.

