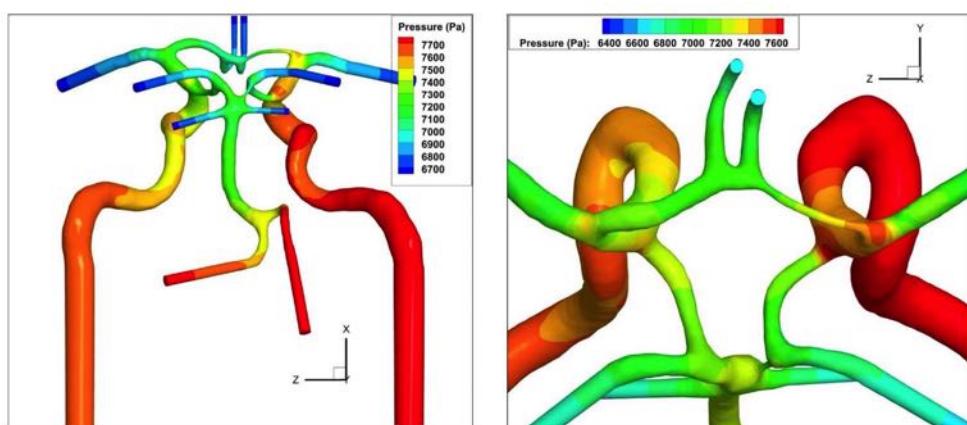


FLUIDODINAMICA E TRASPORTO DI MASSA NEL POLIGONO DI WILLIS



Riassunto

L'ictus, sia di tipo ischemico sia di tipo emorragico, annovera tra le sue cause principali due delle principali patologie cerebrovascolari: l'aterosclerosi intracranica e la rottura dell'aneurisma cerebrale. Questo quadro clinico è spesso aggravato da ulteriori condizioni, quali l'iperglicemia dovuta al diabete mellito, che favorisce l'insorgenza delle lesioni atrosclerotiche. Le forze pressoriose e gli sforzi di taglio, esercitati sulla parete dei vasi sanguigni, sono ritenuti le cause principali nello sviluppo delle due malattie vascolari. Ad essere particolarmente interessate sono le arterie che costituiscono il cosiddetto circolo di Willis, un circuito anastomotico alla base del cranio, che presenta differenti configurazioni anatomiche. Queste diverse variazioni anatomiche sono ritenute attualmente come probabili fattori di rischio di insorgenza di ictus, e quindi di lesioni atrosclerotiche e di aneurismi cerebrali. Ad oggi sono stati elaborati diverse classi di modelli computazionali per studiare i problemi correlati all'emodinamica all'interno dei vasi sanguigni e il calcolo dei fattori significativi. In particolare, la fluidodinamica computazionale (CFD) consente di studiare questi problemi analizzando modelli tridimensionali paziente-specifici. La tesi presente mostra lo stato dell'arte della letteratura, relativamente all'approccio modellistico e alle sue classi, le condizioni al contorno, i metodi numerici e gli algoritmi di calcolo adottati. La revisione della letteratura include le diverse classi di modellazione matematica, per quanto riguarda sia l'emodinamica sia il trasporto di massa all'interno di alcuni vasi sanguigni del circolo. I modelli monodimensionali hanno evidenziato la presenza di flussi collaterali in presenza di determinate configurazioni anatomiche e di altre patologie come la stenosi carotide. Il trasporto di massa monodimensionale dell'ossigeno mostra una ripartizione secondo precisi rapporti della concentrazione iniziale presente in ingresso all'arteria carotide. Altri studi si sono concentrati sulla realizzazione di modelli tridimensionali. In un primo studio, è stato studiato il flusso sanguigno in un modello di circolo idealizzato. I risultati mostrano la dipendenza delle forze di taglio dalle caratteristiche geometriche dei vasi. Un secondo studio, che ha condotto simulazioni fluidodinamiche su un modello paziente-specifico, ha confermato la dipendenza delle forze di taglio e delle altre grandezze fluidodinamiche dalla geometria dell'intero circolo cerebrale. Ricerche hanno confermato la presenza di alti WSS nelle regioni in cui tendono a formarsi gli aneurismi sacculari, e alti WSS, unitamente ad alti valori del suo gradiente, sono considerati tra le cause determinanti nella formazione degli aneurismi cerebrali. Il basso WSS è generalmente ritenuto la causa principale nello sviluppo dell'aterosclerosi. Anche il trasporto di massa svolge un ruolo importante nello sviluppo dell'aterosclerosi. Studi sono stati condotti su modelli ideali di carotide e di alcune porzioni della carotide interna, per indagare gli effetti della tridimensionalità sulla distribuzione di WSS e sul trasporto di LDL verso la parete. I risultati hanno mostrato una correlazione tra valori bassi del WSS e valori di concentrazione di LDL in corrispondenza delle curve arteriose e a valle delle stenosi. La presente tesi, nella prima parte, ha analizzato, tramite l'elaborazione di modelli matematici monodimensionali, la redistribuzione del flusso cerebrale e i rapporti reciproci tra le pressioni all'interno del circolo. I dati ottenuti confermano i risultati evidenziati dalla letteratura. La presente tesi descrive poi la metodica usata nella ricostruzione di un circolo cerebrale da immagini diagnostiche (MRA) e la successiva realizzazione della griglia di calcolo. Vengono descritti il software Fluent, usato per le simulazioni fluidodinamiche, i solutori e le condizioni al contorno adottate.

Wall Shear Stress →

* LDL (colesterolo)

Eseguite sia
simulazioni in regime
stazionario che non

La parete dei vasi è assunta rigida, mentre il sangue è considerato un fluido non-Newtoniano secondo il modello di Casson. Le simulazioni numeriche in regime transitorio sono state eseguite imponendo, come condizioni al contorno di ingresso, un flusso pulsatile secondo la teoria di Womersley. Le simulazioni sono eseguite con tre griglie computazionali con un numero crescente di celle, rispettivamente con 10^6 , $2 \cdot 10^6$ e $4 \cdot 10^6$ elementi. La griglia con $2 \cdot 10^6$ elementi viene scelta per le simulazioni, poiché rappresenta il compromesso ottimale tra accuratezza dei risultati e costo computazionale. Sono riportati e discussi gli andamenti delle pressioni, del wall shear stress e delle variabili fluidodinamiche calcolate alla parete. Le caratteristiche geometriche dei vasi e la loro disposizione spaziale influenzano fortemente, in accordo con la letteratura, la localizzazione delle zone parietali più esposte al rischio di condizioni pericolose quali l'aterosclerosi, l'ipossia endoteliale, e la formazione di aneurismi cerebrali. Tra le varianti anatomiche, le regioni endoteliali a rischio si differenziano in base alla posizione nel circolo e alla gravità dei valori assunti dalle grandezze fluidodinamiche. I risultati del trasporto di massa mostrano una correlazione tra la concentrazione superficiale delle specie chimiche e gli schemi del flusso sanguigno, insieme all'andamento del WSS; inoltre, evidenziano la connessione tra il numero di Sherwood e la disposizione spaziale del WSS. Infine, il confronto dei risultati della simulazione CFD con quelli forniti dai modelli monodimensionali - in cui sono stati inseriti i parametri geometrici del modello paziente-specifico - ha mostrato la validità dei dati ottenuti. La presente tesi si può considerare un primo passo verso lo sviluppo di un modello emodinamico comprensivo del circolo di Willis, con lo scopo di fornire informazioni sui rapporti tra la geometria vasale e i cambiamenti nella fluidodinamica e nel trasferimento di massa. I risultati ottenuti sono legati alle limitazioni del modello e necessitano di ulteriori approfondimento per la loro conferma.

Questa tesi è stata
pensata dal prof
pochè paper
aveva mai
analizzato l'intero
poligono di Willis in
modo paziente
specifico.

Introduzione

Questa parte medica è a nostra discrezione (probabilmente ne sappiamo più del prof e anche il riassunto sarà a nostra discrezione) fino a 1.6

Le malattie cardiovascolari più frequenti, come l'aterosclerosi e l'aneurisma, sono tra le cause principali dell'ictus cerebrale. Questa è una malattia neurologica importante che porta danni irreparabili alle cellule cerebrali, ed è la prima causa di disabilità, con una morbilità in costante aumento; rappresenta, inoltre, la terza causa di morte nel mondo, dopo le malattie a carico di cuore e vasi sanguigni, e le neoplasie. Tra i fattori di rischio più importanti vi è il diabete mellito, la cui incidenza, in parallelo con l'obesità, è aumentata notevolmente negli ultimi decenni. Tra le arterie cerebrali colpite dalle patologie vascolari, le più importanti sono quelle del circolo anastomotico alla base del cranico, noto come poligono o circolo di Willis, la cui disposizione crea ridondanza per la circolazione collaterale nel flusso cerebrale.

Negli anni è stata dimostrata l'esistenza di una stretta correlazione tra l'insorgenza di ictus e le caratteristiche geometriche ed emodinamiche del circolo di Willis. In tal senso, sono stati condotti diversi studi, di natura sperimentale e numerica, per stabilire un legame tra la dipendenza dell'emodinamica dalla configurazione geometrica del circolo, e lo sviluppo delle diverse tipologie di ictus. Il complesso ambiente emodinamico, originato dalle variazioni anatomiche delle arterie, sembrerebbe determinare dei valori patologici delle principali grandezze fluidodinamiche, come lo sforzo di taglio alla parete (*Wall Shear Stress, WSS*), in grado di favorire lo sviluppo delle patologie cerebrovascolari. Si ritiene, inoltre, che la distribuzione delle grandezze emodinamiche (WSS) vada ad alterare il trasporto di massa di importanti specie chimiche, tra cui l'*LDL*, implicato nella formazione delle placche aterosclerotiche, unitamente all'iperglicemia, e l' O_2 .

1.1 Defizione di ictus

Il termine *Ictus* si riferisce alla comparsa improvvisa e rapida di un "*deficit, globale o focale, della funzione neurologica persistente oltre le 24 ore, o che porta al decesso entro le 24 ore, di apparente causa vascolare acuta*" [1] a livello cerebrale, come l'infarto cerebrale, l'emorragia intracerebrale (ICH), o l'emorragia subaracnoidea (SAH). I sintomi, quali la debolezza o la paralisi di un arto, o l'improvvisa incapacità di parlare, sono dovuti alla perdita transitoria o permanente di determinate funzioni cerebrali e dipendono dalla localizzazione del danneggiamento strutturale all'interno del sistema nervoso centrale. Le funzioni cerebrali, infatti, dipendono sensibilmente da un continuo rifornimento di ossigeno, come evidenziato dall'insorgenza di uno stato di incoscienza entro 10 secondi di blocco della sua irrorazione sanguigna (per esempio, per arresto cardiaco). All'inizio, il danno ai neuroni è reversibile, e può diventare permanente, se l'irrorazione sanguigna non è prontamente ripristinata, a sua volta funzione di molti fattori. L'ictus è la terza causa di morte nei paesi occidentali, dopo la malattia coronarica e le neoplasie e rappresenta la principale causa di invalidità a lungo termine. La mortalità ad un mese è pari a circa

il 20-25%, mentre quella ad un anno è del 30-40%; ad un anno un terzo circa dei sopravvissuti presenta un grado di disabilità elevato, che li rende totalmente dipendenti dalle cure sanitarie. La disabilità conseguente all'ictus è causa di costi elevati per le famiglie, il sistema sanitario e la società intera. Ogni anno si verificano in Italia circa 200.000 ictus, di cui il 20% è costituito da recidive, mentre l'incidenza aumenta progressivamente con l'età, raggiungendo il valore massimo negli ultraottantacinquenni [2].

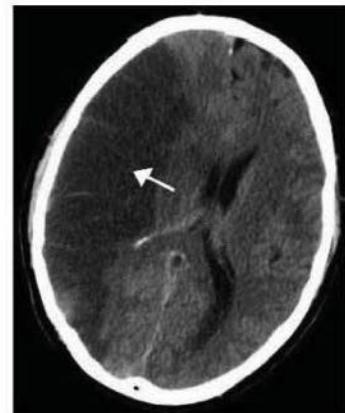
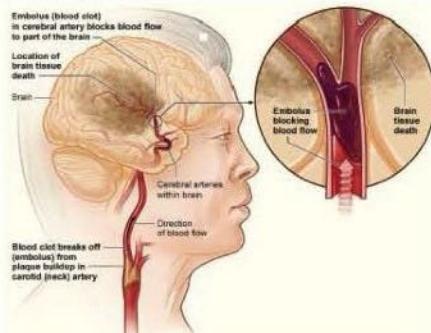
L'ictus di tipo *ischemico* rappresenta la forma più frequente di ictus (80%), causato da diversi meccanismi fisiopatogenetici - come la patologia aterosclerotica dei grossi vasi cerebrali, la cardioembolia, e la malattia dei piccoli vasi cerebrali -, mentre l'ictus di tipo *emorragico* costituisce il 15% dei casi, dovuti alla rottura di un vaso sanguigno parenchimale (*emorragia intraparenchimale*) oppure alla rottura di un vaso di calibro più grande, spesso a causa di aneurisma (*emorragia subaracnoidea*). Data la particolare natura del tessuto cerebrale, i due fenomeni, a volte associati, causano una distruzione di tessuto cerebrale e una conseguente sintomatologia clinica non sempre facilmente distinguibile. Una serie complessa e concatenata ("cascata ischemica") di processi molecolari quali eccitotossicità, stress ossidativo, danno endoteliale ed alterazione della barriera ematoencefalica, seguono l'ischemia cerebrale focale temporanea o permanente. Molteplici fattori aumentano il rischio di ictus; alcuni non possono essere modificati, come l'età, i *fattori genetici* e quelli *etnici*, ma costituiscono importanti indicatori per definire le classi di rischio. L'effetto di altri, quali *ipertensione arteriosa*, *diabete mellito*, *dislipidemia*, *fumo di sigaretta*, *obesità*, alcune cardiopatie, tra cui, in particolare, la *fibrillazione atriale*, può essere favorevolmente modificato utilizzando appropriate ed efficaci strategie farmacologiche o non farmacologiche. Il loro riconoscimento precoce è di fondamentale importanza e costituisce la base della prevenzione sia primaria che secondaria.

L'ictus rimane, quindi, un serio pericolo per la salute, dal quale non si ha mai un recupero completo. L'incapacità del cervello adulto di sostituire grosse popolazioni di neuroni danneggiati o morti, o di riparare i fasci nervosi una volta che sono stati compromessi, impedisce invariabilmente il completo recupero delle funzioni perdute. Nonostante questi limiti apparentemente insuperabili, nuove strategie di riabilitazione neurologica continuano a essere studiate e introdotte nella pratica clinica, offrendo alcuni livelli di speranza ai soggetti affetti da ictus e alle menomazioni che accompagnano il danno cerebrospinale.

1.1.1 Classificazione e cause

Un evento ischemico si può presentare a volte come sindrome da ischemia transitoria. Il termine *attacco ischemico transitorio* (*Transient Ischemic Attack*, TIA) viene attribuito solitamente a ogni difetto neurologico focale a comparsa improvvisa seguito da recupero completo in meno di 24 ore. L'ictus può essere distinto in due tipi principali: *ischemico*, ed *emorragico* (Figura 1.1). In genere con il termine ischemico ci si riferisce agli ictus di tipo embolico - provocato da un embolo cardiogenico - e di tipo trombotico, in cui avviene una locale riduzione del flusso sanguigno derivante da una ostruzione aterosclerotica in uno dei vasi sanguigni cerebrali, che alla fine si chiude. L'aterosclerosi può causare ischemia con un duplice meccanismo: trombosi stenotica di arterie intracraniche o formazione di emboli occludenti che provengono da placche formatesi a livello dei vasi extracranici, ossia arterie del collo. Una riduzione del flusso sanguigno si può verificare quando un *embolo* (un corpo liberato nel circolo sanguigno) si stacca dal cuore, o dal punto di origine delle carotidi interne, o ancora da altre zone dove si verificano biforcazioni, e viaggia verso l'arteria cerebrale (o l'arteriola) dove forma un tappo causando un *ictus embolico*. Un *ictus emorragico* si forma, infine, quando viene a rompersi un vaso sanguigno cerebrale, sia arterioso che venoso, provocando un sanguinamento all'interno del cranio, ovvero emorragia cerebrale. Molti possano essere le cause che sono alla base delle diverse tipologie di ictus.

Ischemic Stroke



Hemorrhagic Stroke

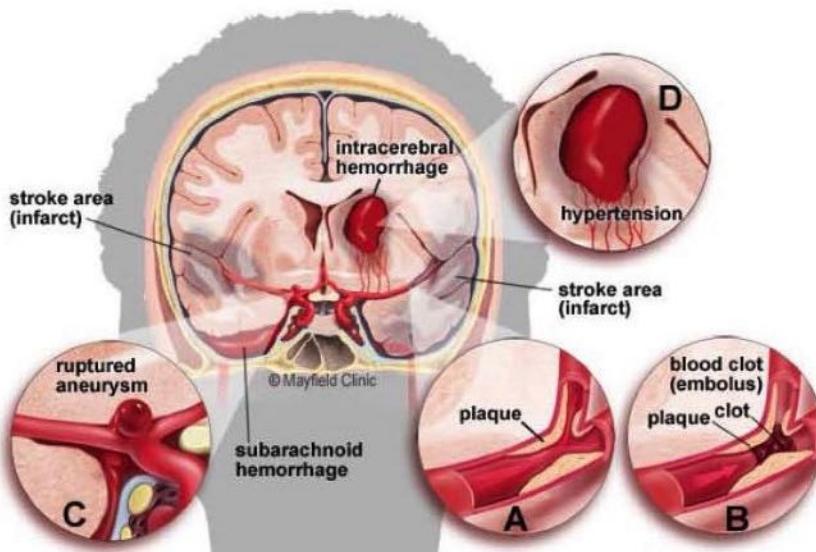
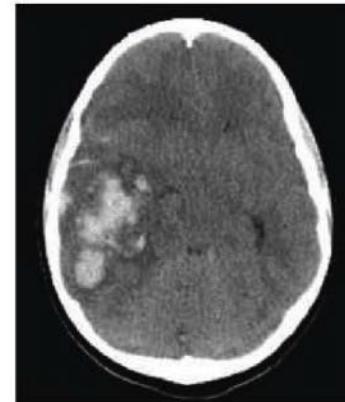
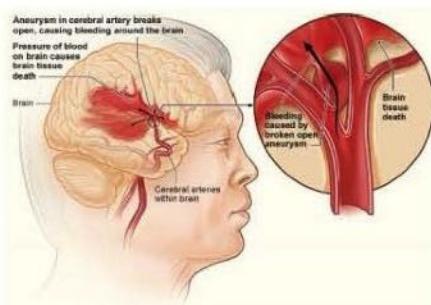


Figura 1.1: Ictus ischemico e ictus emorragico: In alto, a sinistra, sono elencate le cause; a destra, le relative immagini di risonanza magnetica (MR). In particolare si notano sia la zona ischemica indicata dalla freccia, sia la zona emorragica, più chiara rispetto a quelle circostanti. In basso, un'ulteriore immagine sull'etiology degli ictus: (a) ictus ischemico, dovuto alla formazione di placche aterosclerotiche; (b) ictus di tipo embolico, dovuto agli emboli che bloccano il flusso nelle arterie; (c) ictus emorragico, dovuto al sanguinamento nello spazio subaracnoideo; (d) emorragia intracerebrale, dalla rottura di minuscoli vasi a seguito dell'ipertensione.

Emboi in grado di occludere i vasi intracranici possono anche originarsi a livello cardiaco, soprattutto dopo infarto miocardico, nella patologia valvolare associata ad endocardite e nei portatori di valvole protesiche. Le aritmie atriali, in particolare la fibrillazione, aumentano grandemente il rischio di ictus cerebrale su base embolica, anche se frequentemente ($\approx 40\%$ dei casi) l'origine dell'embolo rimane ignota. Le emorragie sono responsabili di circa il 20% dei casi di ictus e sono intracerebrali o subaracnoidee. Il fattore di rischio più importante che si associa all'emorragia cerebrale è l'ipertensione. Più raramente sono coinvolti aneurismi, amiloidosi dei vasi cerebrali e anomalie vascolari. La rottura di un aneurisma sacciforme costituisce la causa più frequente dell'emorragia subaracnoidea. Questi aneurismi sono relativamente frequenti (1-2% della popolazione) e si sviluppano per malformazioni focali nella parete delle arterie cerebrali ai punti di diramazione dei collaterali. I motivi che determinano la rottura non sono chiari, ma aumenti pressori transitori (ad es. sforzo fisico) possono essere importanti [3].

Altre cause che possono più raramente produrre ictus sono le vasculiti (patologie infiammatorie a carico dei vasi sanguigni), la falcemia (formazione di microemboli di cellule falcemiche), le sindromi da iperviscosità (ad es. mieloma, policitemia, trombocitosi), le situazioni di ipercoagulabilità (ad es. tumori, alterazioni ereditarie delle proteine C e S, iperestrismo), la presenza di anticorpi anti-fosfolipidi (ad es. lupus eritematoso), gli emboli (grasso, midollo, aria), la vasocostrizione (ad es. dopo emorragia subaracnoidea, nell'encefalopatia ipertensiva, nell'emocranica, dopo l'assunzione di farmaci e droghe come efedrina, eroina, cocaina), l'omocistinuria e la trombosi venosa (ipercoagulabilità o grave disidratazione) [3].

1.1.2 Conseguenze e terapie

Indipendentemente dalla natura, l'ischemia causa la perdita delle funzioni cerebrali (metaboliche e elettriche) nell'area coinvolta in pochi minuti e può portare a morte neuronale. L'entità e la durata dell'ischemia sono fondamentali per determinare l'entità della lesione e la sua possibile evoluzione. Un'interruzione completa del flusso causa morte tissutale in 4-10 minuti, una riduzione di flusso a $16 - 18 mL/100 g$ di tessuto per minuto causa infarto in un'ora. Se il flusso viene ripristinato prima di una significativa morte neuronale si ha il ripristino funzionale dell'area coinvolta (TIA). Anche l'area cerebrale coinvolta ed i possibili circoli collaterali sono importantissimi nel determinare l'entità del danno e la situazione clinica.

Diversi fenomeni secondari che possono contribuire all'insorgenza della morte neuronale, soprattutto nelle zone che circondano il focus ischemico, comprendono: gli aminoacidi eccitatori (glutammato) rilasciati dai neuroni danneggiati che tramite i recettori NMDA aumentano il calcio intracellulare; l'acidosi metabolica; la formazione di radicali liberi; l'edema cerebrale e le alterazioni del flusso sanguigno locale [3]. Spesso una situazione da inizialmente ischemica si complica in emorragica. Ad esempio, quando un embolo ostruente uno dei vasi si degrada per lisi e scompare entro ore, la ricircolazione nell'area infartuata può causare un infarto emorragico e aggravare la formazione di edema. L'edema cerebrale ha un ruolo particolarmente importante nell'evoluzione dell'ictus. Entro pochi minuti dall'inizio dell'ischemia le cellule (soprattutto astrociti e neuroni) si rigonfiano e possono comprimere i capillari cerebrali peggiorando la situazione ischemica. Se il flusso vascolare non viene ripristinato, segue una fase vascolare in cui vi è un aumento della permeabilità capillare e formazione di edema che accompagna i fenomeni necrotici cellulari delle cellule nervose e gliali.

L'edema ischemico ha un picco massimo 2-4 giorni dopo l'infarto, poi tende a ridursi. L'edema cerebrale, tanto maggiore quanto più ampia è l'area infartuata, oltre a partecipare all'ischemia, può aumentare la pressione intracerebrale e generare ernia del cervello attraverso l'incisura del tentorio cerebellare o il foramen magnum. Il controllo dell'edema è una procedura importante nella terapia del soggetto con ictus in fase acuta. La terapia dell'ictus cerebrale di tipo trombotico si basa sulla trombolisi con somministrazione di attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA), in soggetti selezionati che si presentano entro 3 ore dall'infarto, o con somministrazione di anti-

aggreganti piastrinici (aspirina, ticlopidina). La prevenzione si basa su aspirina a basse dosi ed è indicata soprattutto in pazienti con una storia di TIA. I processi di riparazione del tessuto cerebrale consistono nella formazione di tessuto cicatriziale fibrogliale nella sede dell'infarto o dell'emorragia.

1.1.3 Ictus ischemico e aterosclerosi

L'ictus ischemico costituisce il 75-80% di tutti gli ictus ed è fisiopatologicamente eterogeneo. Per questo occorre classificarlo in base ai diversi sottotipi patogenetici. Tra le principali cause vi è l'aterosclerosi dei grossi vasi, che porta ad infarto aterotrombotico; l'occlusione dei piccoli vasi che porta ad embolia arteroarteriosa; l'embolia di origine cardiaca. Altre cause sono l'infarto di origine sconosciuta o indeterminata. L'infarto aterotrombotico risulta a carico dei vasi di grosso calibro del circolo cerebrale, dove vi sono zone più pronate alla formazione di ateromi. Tuttavia non tutte le lesioni aterosclerotiche sono sintomatiche. La progressiva riduzione del lume con conseguente compromissione del flusso distale, la propagazione del trombo fino all'occlusione dell'origine dei rami che si dipartono dal vaso trombotico, infine il distacco e l'embolizzazione dei frammenti del trombo rendono la lesione ateromasica sintomatica e portare alla formazione di *emboli artero-arteriosi* che si possono arrestare nei rami distali dell'arteria colpita, favorendo l'insorgenza dell'ischemia (Figura 1.2).

In modo particolare, la superficie irregolare della placca favorisce l'aggregazione piastrinica, con la formazione di trombi anche per placche non voluminose: la facilità con cui si forma la placca è funzione dei fattori di rischio. Ad esempio, l'*artery-to-artery embolism* è il più frequente responsabile dell'occlusione completa ed improvvisa dell'arteria cerebrale media in presenza di una placca a livello della biforcazione carotidea o della carotide interna complicata da trombosi. L'infarto aterotrombotico costituisce il 30% degli ictus ischemici. Nella maggior parte dei casi la patogenesi degli eventi cerebrovascolari (TIA o ictus) è embolica, con occlusione dei vasi intracranici da parte di emboli che si staccano da placche ateromasiche prossimali (embolia artero-arteriosa), dando vita ad un infarto embolico territoriale, in cui l'ischemia corrisponde al territorio vascolare di una determinata arteria. Si possono distinguere, in base alla localizzazione lungo il poligono di Willis, diverse tipologie di infarto:

- *infarto della circolazione posteriore*, localizzato sulle arterie cerebrali posteriori e sulle basilari;
- *infarto della circolazione anteriore parziale*, posto sull'arteria cerebrale media dopo la sua suddivisione
- *infarto della circolazione totale anteriore*, posto sull'arteria cerebrale media prima della sua suddivisione

1.1.4 Ictus emorragico e aneurismi cerebrali

Sebbene la maggior parte (87% circa) degli ictus sia di natura ischemica (dove cioè il blocco del flusso sanguigno ad una parte del cervello è dovuta ad un'ostruzione dei vasi cerebrali da parte di emboli o trombi), e quindi ad eziologia atherosclerotica, circa il 13% dei casi di ictus riportata è di natura emorragica [4]. L'ictus emorragico dipende da un indebolimento della parete vasale che tende a slargarsi, fino ad arrivare alla rottura, riversando il sangue nei tessuti cerebrali circostanti. L'emorragia che si viene a creare non solo priva le cellule e i tessuti del cervello dell'ossigeno e delle sostanze nutritive, ma provoca un aumento progressivo della pressione nei tessuti circostanti generando irritazione e gonfiore dei tessuti. Gli ictus emorragici sono divisi in due categorie principali, che includono:

- *emorragia intracerebrale*, in cui il sanguinamento deriva dai vasi all'interno del parenchima, causata in genere dall'ipertensione;
- *emorragia subaracnoidea*, in cui il sanguinamento si verifica nello spazio subaracnoideo, ossia lo spazio tra il cervello e le membrane che rivestono il cervello.

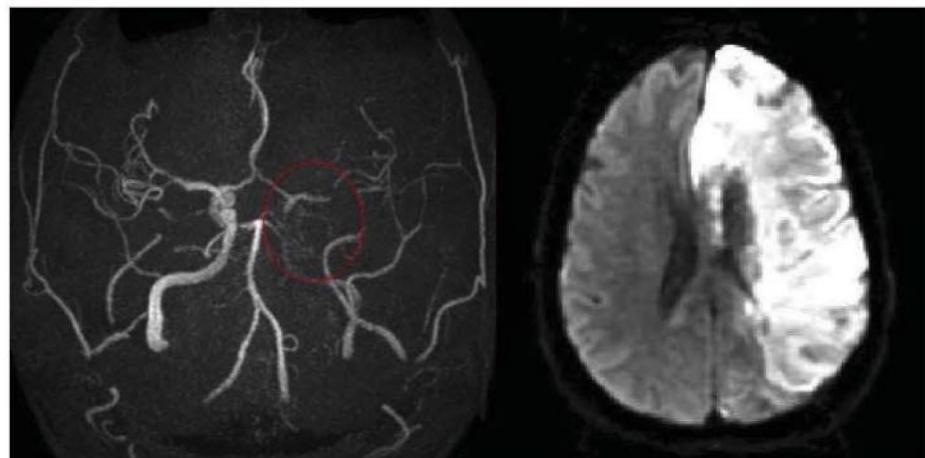


Figura 1.2: A sinistra, immagine di angiografia a risonanza magnetica (MRA), che mostra l'occlusione del segmento terminale dell'arteria carotide interna (*Internal Carotid Artery, ICA*) sinistra e la stenosi del tratto distale dell'arteria cerebrale media (*Middle Cerebral Artery, MCA*) (cerchio rosso); a destra, l'immagine pesata in diffusione mostra l'area cerebrale rifornita dalle arterie stenotiche (in chiaro), interessata dall'infarto acuto.

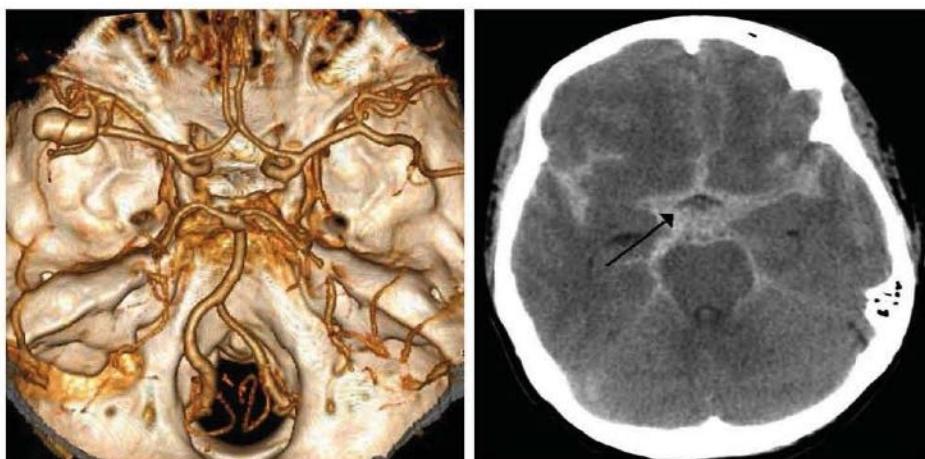


Figura 1.3: A sinistra, immagine di un'aneurisma dell'arteria cerebrale media in tomografia computerizzata (CT), con successiva ricostruzione 3D (rendering volumetrico); a destra, immagine dell'encefalo ottenuta con tomografia computerizzata (CT), dove viene mostrata l'emorragia subaracnoidea come l'area bianca al centro (contrassegnata dalla freccia), che si estende nelle fessure superficiali fino ai lati.

Quest'ultimo tipo di emorragia è causata da malformazioni arterovenose congenite, ma spesso sorge a seguito della rottura di un aneurisma, ossia una porzione più debole e sfiancata presente su una parete delle arterie che rischia di rompersi (Figura 1.3). Pur potendo essere presenti fin dalla nascita, gli aneurismi possono svilupparsi più tardi nella vita a causa di fattori quali l'ipertensione o l'aterosclerosi. Nonostante il 20% degli ictus sia emorragico, risulta quindi chiaro che la mortalità associata sia comparabile se non superiore agli ictus ischemici. Sebbene la principale causa degli ictus emorragici è dovuto ad un'emorragia intracerebrale spontanea, la rottura di un aneurisma intracranico è una causa relativamente più significativa di ictus emorragico [5]. La rottura di aneurismi sacculari intracranici (la forma più comune di aneurisma intracranico), porta con sé una prognosi infastidiva, con il 40% di mortalità [6], portando con sé anche un'emorragia ad alta pressione nello spazio subaracnoideo. Infine, sebbene l'incidenza dell'emorragia intracranica causata dalla rottura di aneurisma sia bassa, la prevalenza di aneurismi intracranici risulta molte volte più alta [7].

1.2 Circolo di Willis: anatomia e funzioni

Il cervello è altamente vulnerabile a disturbi del rifornimento ematico. Il flusso sanguigno deve portare efficacemente ossigeno glucosio e altri elementi nutritizi al sistema nervoso centrale, e deve rimuovere l'anidride carbonica, l'acido lattico e altri prodotti metabolici. Dato che il tessuto cerebrale ha scarse riserve di glucosio, riduzioni del flusso ematico cerebrale, come a seguito di occlusione improvvisa di un'arteria, della rottura di un aneurisma intracranico, di fenomeni embolici oppure di una manovra chirurgica, conducono rapidamente ad una deplezione delle riserve energetiche, dando luogo a danno tissutale [8].

La perfusione cerebrale dipende non solo dallo stato delle arterie interessate, ma anche da particolari caratteristiche anatomiche e fisiologiche uniche, che consentono loro di dare luogo ad una *circolazione cerebrale collaterale*. Si tratta di una rete sussidiaria di canali vascolari che stabilizza il flusso di sangue all'encefalo quando vengono meno i principali condotti. L'anatomia della circolazione collaterale include sia origini extracraniche al flusso ematico cerebrale, sia percorsi intracranici, entrambi comunemente suddivisi in circuiti collaterali *primari* o *secondari* [9] [10]. Tra i canali collaterali primari che forniscono flusso ausiliario all'encefalo il più importante è senza dubbio il *circolo di Willis* (Figura 1.4). Si tratta della principale *anastomosi* (termine usato per riferirsi alla comunicazione tra vasi sanguigni dello stesso livello) arteriosa cerebrale. Ha una forma simile ad anello (in taluni casi viene anche denominato *eptagono di Willis*), localizzato sulla faccia inferiore dell'encefalo in rapporto con le parti del diencefalo che affiorano in superficie (chiasma ottico, tuber cinereum e corpi mammillari), accolto a livello della cisterna interpeduncolare.

Tale anello connette tra di loro le porzioni destra e sinistra del *sistema circolatorio cerebrale anteriore*, che origina dalle *arterie carotidi interne* (*Internal Carotid Arteries*, ICA), insieme al *sistema circolatorio cerebrale posteriore*, che trae origine dalle *arterie vertebrali* (*Vertebral Arteries*, VA), realizzando così una fonte di flusso vascolare collaterale in caso di occlusione vascolare [11]. Presenta pertanto: un lato anteriore impari e mediano, dato dall'*arteria comunicante anteriore* (*Anterior Communicating Artery*, ACoA) congiungente le due *arterie cerebrali anteriori* (*Anterior Cerebral Arteries*, ACA) - che si diramano dalle due carotidi interne -, e tre lati pari e simmetrici: uno antero-laterale, costituito dal tratto iniziale dell'*arteria cerebrale media* (*Middle Cerebral Arteries*, MCA), ramo dell'arteria carotide interna; uno laterale formato dall'*arteria comunicante posteriore* (*Posterior Communicating Arteries*, PCoA), che dall'arteria carotide interna si porta all'*arteria cerebrale posteriore* (*Posterior Cerebral Arteries*, PCA), ramo dell'*arteria basilare* (*Basilar Artery*, BA).

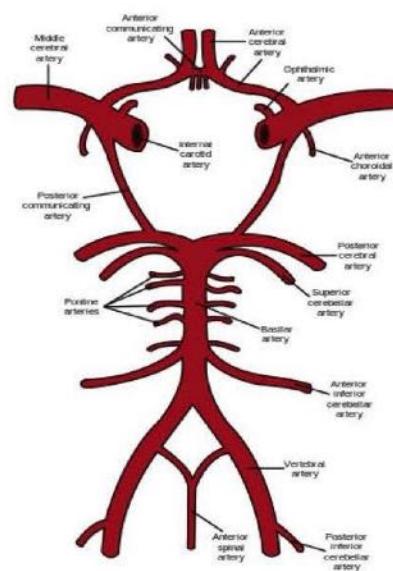
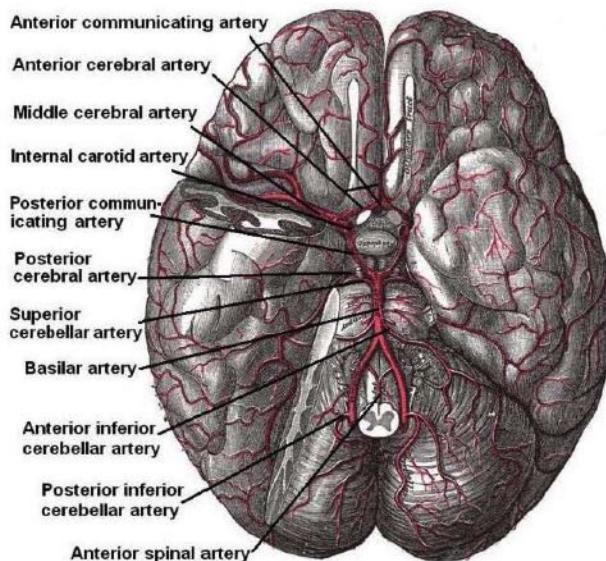


Figura 1.4: A sinistra, vista inferiore dell'encefalo e del circolo di Willis; a destra, schema del circolo, con le arterie comunicanti anteriore e posteriori, che creano le ridondanze per la circolazione cerebrale collaterale.

Il flusso sanguigno interemisferico attraverso l'arteria comunicante anteriore, e l'inversione di flusso nella porzione prossimale dell'arteria cerebrale anteriore, supportano l'apporto sanguigno collaterale nella porzione anteriore del circolo, a livello delle porzioni mediane dei lobi frontali e dei lobi parietali mediali superiori. Le cerebrali medie supportano gran parte della superficie laterale emisferica, ad eccezione della porzione superiore del lobo parietale (attraverso le ACA), e la porzione inferiore del lobo temporale e occipitale. Le arterie comunicanti posteriori possono fornire, specie in determinate condizioni [12], un flusso di sangue collaterale in entrambe le direzioni, tra le circolazioni anteriore (costituita dalle arterie ACA, MCA e ACoA) e posteriore. La circolazione posteriore dipende dal flusso dell'arteria basilare. Questa si forma dall'unione, a livello della *giunzione basilare* delle due arterie vertebrali destra e sinistra; a livello dell'anello anastomotico, la BA si divide a sua volta nelle arterie cerebrali posteriori destra e sinistra, formando la cosiddetta circolazione posteriore. Anche le arterie cerebrali posteriori prossimali, nella parte posteriore del circolo di Willis, contribuiscono al flusso collaterale interemisferico [9] [10]. I tratti anastomotici del circolo permettono il passaggio di sangue in varie direzioni, realizzando così un continuo conguaglio di portata fra le arterie carotidi interne e arterie vertebrali, bilanciando le pressioni in modo da ottenere una uniforme distribuzione del sangue in tutto l'encefalo[13]. La parte terminale dell'arteria carotide interna forma, inoltre, un'ansa definita *sifone carotideo*, che ha la funzione di smorzare la pulsosità del sangue prima che arrivi al cervello ed evitare brusche varianti di flusso. Infatti, se il sangue arrivasse dalle arterie carotidi e basilare ai piccoli vasi cerebrali in maniera diretta, provocherebbe danni a causa della pressione troppo elevata [13]. Le anastomosi tra queste arterie producono dunque un duplice vantaggio: evitano che il cervello sia privato della necessaria irrorazione sanguigna in caso di ostruzione di una delle arterie afferenti, e nello stesso tempo che sia raggiunto da un flusso di sangue troppo elevato. Per cautelarsi dal primo di questi rischi, in occasione della notevole riduzione di calibro di una delle due carotidi, l'altra compensa la mancanza fornendo un apporto maggiore di sangue. Per quanto riguarda il secondo tipo di rischio, se da uno dei vasi afferenti giunge un flusso troppo abbondante, questo viene redistribuito attraverso la rete di Willis, in modo che tutto il cervello sia irrorato uniformemente.

Pertanto, lo scopo principale del circolo di Willis consiste nel tutelare le condizioni di regolare funzionamento di tutte le arterie cerebrali, e nel garantire l'apporto di sangue all'encefalo.

Anatomia

Nello studio dell'anatomia del circolo cerebrale, i diversi vasi costitutivi sono stati suddivisi in *segmenti*, sia in base alla conformazione geometrica del vaso, sia in base ai territori cerebrali riforniti (Figura 1.5).

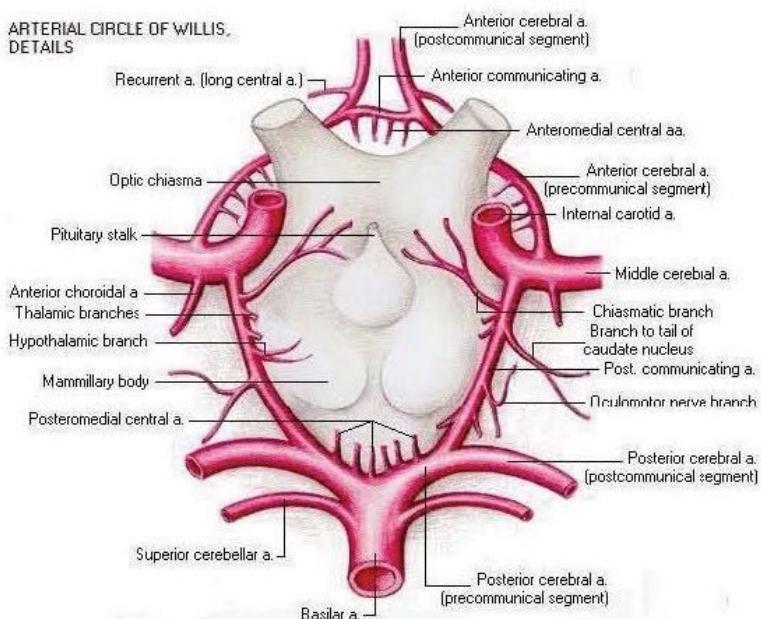


Figura 1.5: Dettagli anatomici del circolo di Willis, con i suoi segmenti principali: arteria cerebrale posteriore (PCA); arteria cerebrale media (MCA); arteria cerebrale anteriore (ACAs); arteria basilare (BA); arteria carotide interna (ICA); arteria comunicante anteriore (ACoA); arteria comunicante posteriore (PCoA)

Arteria cerebrale anteriore e comunicante anteriore

Le ACA sono suddivise in tre segmenti: A1, A2 e A3. Il *segmento A1*, o *precomunicante*, si estende dalla biforcazione dell'arteria carotide interna, in direzione mediale superiore, fino alla giunzione con la comunicante anteriore, all'interno della fessura interemisferica. Da questo segmento si diramano le arterie lenticolari mediali che irrorano ipotalamo anteriore, lo striato, il chiasmo ottico e i nervi ottici, mentre i rami che si dipartono dall'ACoA riforniscono anche il corpo calloso e il fornice.

La porzione delle ACA che si diparte dall'arteria comunicante anteriore costituisce il *segmento A2*, o *sottocalloso*. Questo segmento termina a livello del corpo calloso, con la divisione nelle arterie pericallosa e calloso marginale, che ne rappresenta il ramo terminale. I rami arteriosi di questo segmento, in genere, irrorano la parte anteriore del nucleo caudato, la capsula interna, e il putamen; tra gli altri rami, infine, sono inclusi l'arteria orbitofrontale e frontopolare - che irrorano, rispettivamente, la parte mediale della faccia inferiore del lobo frontale, e il lobo frontale dell'emisfero cerebrale. Il *segmento A3*, o *pericallosa* dal ginocchio del corpo calloso all'emissione dell'arteria callosomarginale, decorre come arteria pericallosa, lungo la faccia dorsale del corpo calloso, fino al ginocchio di questo, per anastomizzarsi con l'arteria pericallosa posteriore, ramo dell'arteria cerebrale posteriore. Il segmento A3 termina fornendo arterie al corpo calloso e al precuneo.

Arteria cerebrale media

Diverse classificazioni dividono la MCA in 4 segmenti, includendo: il *segmento M1*, dall'ICA alla biforcazione della MCA; il *segmento M2*, dalla biforcazione al solco circolare dell'insula; il *segmento M3*, dal solco dell'insula alla fissura silvana; il *segmento M4*, costituito da rami corticali.

Il segmento M1, che talune volte può triforcarsi o quadriforcarsi, include tra i suoi rami le arterie lenticulostriate, che irrorano i gangli della base, e un'arteria temporale anteriore, che rifornisce il lobo temporale anteriore. Il segmento M2 si estende dal punto di divisione del segmento M1, anteriormente sull'insula, e presenta comunemente due divisioni: superiore e inferiore. In generale, la divisione superiore è responsabile della convessità frontale e la divisione inferiore è responsabile del lobo temporale. Il segmento M3 decorre sulla superficie degli opercoli frontali e temporali, fino alla corteccia. Questo segmento, assieme all'M2, dà origine alle arterie da cui derivano i rami corticali. Il segmento M4 comincia dalla superficie della fissura silvana e si estende superficialmente all'emisfero cerebrale. I suoi rami corticali riforniscono i lobi frontali, parietali, temporali, e occipitali, tra questi: orbitofrontale e prefrontale, e i lobi che includono l'area del Broca (fondamentale per l'espressione linguistica); i lobi parietali anteriori e posteriori, temporo-occipitali e temporali, tra cui l'area del Wernicke, che si occupa della comprensione del linguaggio.

Arteria cerebrale posteriore e comunicanti posteriori

Analogamente alla MCA, la PCA viene sottodivisa in quattro segmenti. Il *segmento P1* si origina dalla biforcazione dell'arteria basilare alla giunzione con l'arteria comunicante posteriore, e giace all'interno della cisterna interpeduncolare. Da questo segmento si dipartono i rami perforanti posteriori - per distinguerli da quelli anteriori che si originano dalle PCoA - diretti al tronco cerebrale, irrorando il talamo, capsula interna e mesencefalo. Il *segmento P2* comincia dalla giunzione con le PCoA e decorre lungo la superficie laterale del mesencefalo. Da questo tratto si originano le arterie perforanti che riforniscono la ghiandola pineale, corpi genicolati, tegmento, corpo calloso, plesso coroideo e corteccia temporo-occipitale. Il *segmento P3*, invece, si estende dal tetto fino alla scissura calcarina. La PCA spesso si divide in due rami terminali, l'arteria calcarina e l'arteria parieto-occipitale. Il *segmento P4*, infine, che nasce e termina all'interno della scissura calcarina, include spesso uno dei due rami terminali della PCA, l'arteria calcarina: l'altro ramo terminale della PCA, l'arteria parieto-occipitale, frequentemente si origina dal segmento P2 o P3.

Arteria basilare

L'arteria basilare si origina dalla giunzione tra le due arterie vertebrali e decorre sulla faccia anteriore del tronco encefalico. Da questa si dipartono i rami arteriosi che irrorano il cervelletto, come l'arteria cerebellare superiore (*Superior Cerebellar Artery*, SCA), e l'arteria cerebellare anteriore inferiore (*Anterior Inferior Cerebellar Artery*, AICA). Se la SCA spesso viene a contatto con il nervo trigemino, l'AICA invece è a contatto con il nervo facciale, glossofaringeo e vestibolare, causando spasmi emifacciali, nevralgia glossofaringea e parossia vestibolare. L'arteria BA invia rami verso il tetto, il verme e la faccia mediale del cervelletto, mentre dalle arterie vertebrali si origina l'arteria cerebellare infero posteriore (*Posterior Inferior Cerebellar Artery*, PICA), la quale rifornisce il midollo, le tonsille cerebellari, il verme e le facce infero-laterali degli emisferi cerebellari.

1.2.1 Varianti anatomiche del circolo di Willis

Sebbene un'anastomosi completa sia presente in diversi individui, le varianti anatomiche del circolo di Willis sono molto comuni, e una comunicazione ben sviluppata fra ciascuna delle sue parti è identificata in meno della metà della popolazione [12]. Studi mostrano una notevole prevalenza delle varianti anatomiche del circolo arterioso cerebrale, con circa il 55% dei pazienti investigati aventi un circolo completo. Diverse varianti sono state descritte e classificate a carico sia del sistema anteriore che del sistema posteriore. Una prima e importante classificazione, che si basa sugli eventi embrilogici durante la genesi vascolare cerebrale, consiste nella presenza di tre configurazioni principali:

- configurazione *adulta*: il segmento prossimale dell'arteria cerebrale posteriore P1 ha un diametro maggiore rispetto all'arteria comunicante posteriore;
- configurazione *transitoria*: arteria comunicante posteriore e segmento P1 hanno lo stesso diametro;
- configurazione *fetale*, o *embrionale*: il segmento P1 ha un calibro minore rispetto all'arteria comunicante posteriore, che quindi deriva, come quasi tutte le altre arterie del circolo, dall'arteria carotide interna.

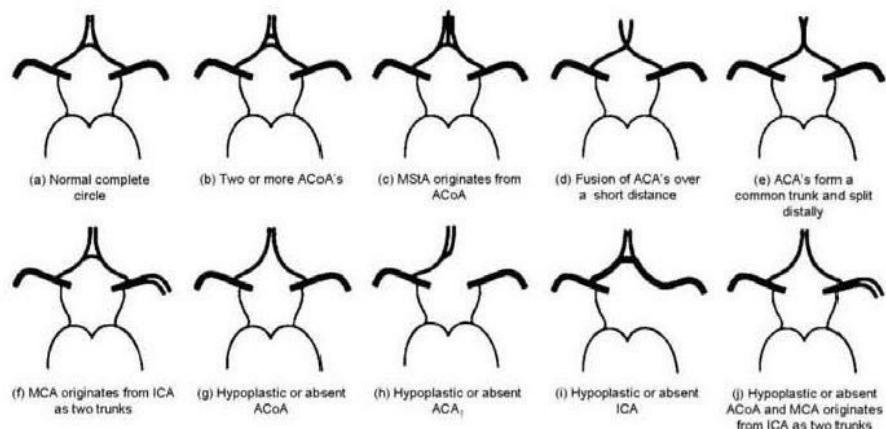
Si tratta comunque di una suddivisione generale, dato che nel corso degli anni diversi studi sono stati condotti sui cadaveri per individuare particolari configurazioni anatomiche, sulla base delle diverse dimensioni dei vasi sanguigni, e cercando così di fornire una definizione precisa ai diametri del circolo [14].

Kameyana e Okinaka, nel 1963, proposero una classificazione ulteriore, comprendente le varianti sulla parte anteriore del circolo oltre a quelle della parte posteriore [15]: il segmento A1 più largo sul lato del tipo posteriore fetale (FTP)-unilaterale; il segmento A1 più piccolo sul lato FTP unilaterale; le arterie comunicanti anteriori sono di dimensioni normali, FTP unilaterale; variante primitiva di derivazione embrionale, in cui le arterie comunicanti anteriori sono di dimensioni normali, con la compresenza di FTP bilaterale; variante adulta normale.

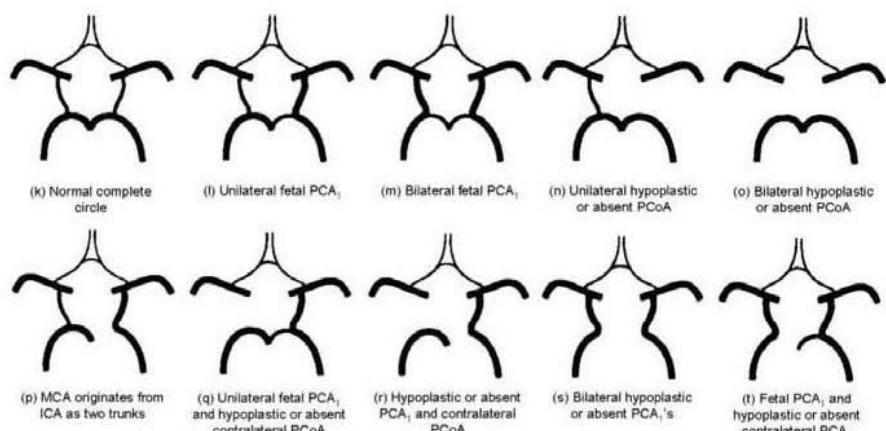
Attualmente le classificazioni anatomiche si fondano sulla misura del calibro, che i diversi tratti arteriosi possono assumere tra le numerose tipologie esistenti. Sulla base delle ricerche condotte sui cadaveri, i tratti arteriosi possono essere:

- *aplastici*: il vaso arterioso è assente;
- *ipoplastici*: il vaso arterioso presenta un diametro inferiore a 1 mm [16].

Le varianti si possono distinguere, a loro volta, a seconda che interessino la circolazione anteriore (ossia dipendente dall'arteria carotide interna) o la circolazione posteriore (dipendente dall'arteria basilare) [12]. Da ricordare, comunque, che i diversi vasi possono presentare anche delle rare anomalie, come le *fenestrazioni* e le *duplicazioni* arteriose, frutto della incompleta fusione dei vasi embrilogici primitivi. Una fenestrazione è la divisione luminale di un vaso in due distinti canali paralleli che si riuniscono a valle, mentre la duplicazione consiste in due vasi separati, con diversa origine, dove la fusione a valle è assente. Per questo motivo, esistono rare varianti anatomiche in cui sono presenti fenestrazioni e/o duplicazioni, in cui c'è un'associazione con la formazione di aneurismi vicino alla parte prossimale della fenestrazione [17].



(a) Varianti della circolazione anteriore



(b) Varianti della circolazione posteriore

Figura 1.6: Varianti anatomiche più frequenti del circolo di Willis [14]

Relativamente alla circolazione anteriore, è presente una maggiore prevalenza di una arteria comunicante anteriore ipoplastica o assente, anche se vi possono essere altre variazioni, tra cui fenestrazione e duplicazione: abbastanza comune risulta essere la presenza di due o più arterie comunicanti anteriore. Inoltre, questo vaso può essere curvo o piegato. I segmenti A1 sinistro e destro delle arterie cerebrali anteriori sono dimensionalmente asimmetrici nella maggior parte degli individui; possono essere fenestrati, ma è presente una maggiore prevalenza di ipoplasia e aplasia del tratto prossimale dell'arteria cerebrale anteriore. Relativamente agli altri segmenti, il segmento A2 di un'arteria cerebrale anteriore potrebbe risultare ipoplastico, con il segmento controlaterale che rifornisce entrambi gli emisferi, o anche duplicato. Tra le varianti della circolazione posteriore vi è una maggiore prevalenza di aplasia/ipoplasia unilaterale dell'arteria comunicante posteriore, mentre più rara è la condizione ipoplastica/aplastica bilaterale. Le variazioni possono essere sia unilaterali (ossia riguardare uno dei due versanti del circolo, destro o sinistro), oppure bilaterale [18]. Diversi studi confermano che, tra le diverse variazioni della circolazione posteriore, sia abbastanza comune la presenza del segmento P1 fetale unilaterale, tipicamente ipoplastica, con una comunicante posteriore più grande in calibro; meno comune, invece, risulta essere quella bilaterale. Le variazioni del segmento P1 includono anche la duplicazione, la fenestrazione, e un'origine bilaterale condivisa tra PCA e arteria cerebellare superiore [19]. Tra le varianti posteriori sono comprese anche quelle a carico del sistema vertebrobasilare. Le arterie vertebrali spesso presentano asimmetria, ipoplasia e aplasia [20]. La presenza di tali

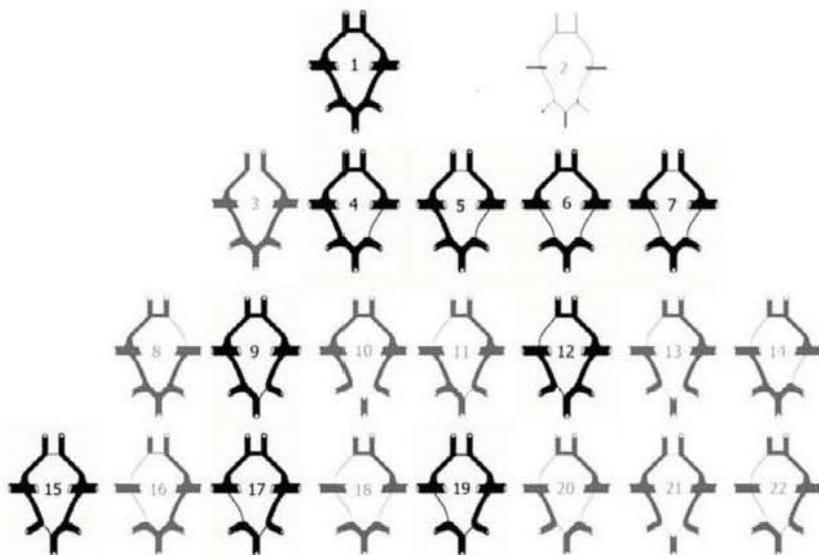


Figura 1.7: Possibili varianti anatomiche del circolo [23]. Si mostra l'estrema variabilità delle anomalie del circolo.

varianti introduce la dominanza, in termini di calibro, e quindi di flusso sanguigno, di un'arteria vertebrale rispetto all'altra: la vertebrale sinistra è dominante nel 45 % dei casi, la vertebrale destra nel 30 %, e solo nel 25 % dei casi le due arterie sono codominanti. Infine anche a carico dell'arteria basilare vi sono variazioni, con la fenestrazione, presente in meno dell' 1% dei casi [21], oppure con l'esistenza di due tronchi longitudinali uniti attraverso la linea mediana.

Altri studi si sono concentrati sull'analisi delle varianti anatomiche nei pazienti deceduti per incidenti neurologici [22]. Questi mostrano invece una maggiore prevalenza della variante fetale rispetto agli studi precedenti, e, in termini di ictus ischemico, vi è una bassa percentuale di circoli normali completi, e una maggiore prevalenza di vasi ipoplastici o assenti, in confronto con encefali normali che non presentano disfunzioni neurologiche, con l'implicazione che circoli deficitari potrebbero non essere in grado di fornire un adeguato flusso collaterale che possa proteggere gli individui dall'ischemia. Tra la popolazione generale, una percentuale significativa mostra un circolo di Willis incompleto o deficitario, con ipoplasia delle PCoA e dei segmenti P1 delle cerebrali posteriori come variazioni significative più comuni del circolo posteriore, mentre a livello del circolo anteriore le variazioni sono a carico della comunicante anteriore e del segmento A1 della cerebrale anteriore.

Da rimarcare il fatto che le classificazioni delle varianti anatomiche differiscono leggermente tra di loro, data la demografia della popolazione esaminata, i metodi di esame usati, la presenza o meno di alcune disfunzioni neurologiche, per cui potrebbero esistere ulteriori varianti e combinazioni e ottenere una classificazione completa delle varianti anatomiche del circolo arterioso cerebrale rappresenta attualmente un obiettivo ancora complesso [14].

1.2.2 Patofisiologia delle varianti anatomiche

Molte ricerche hanno cercato di evidenziare la probabile relazione tra le diverse varianti anatomiche e il minore o maggiore rischio di andare incontro ad un incidente vascolare, quale la formazione di una placca aterosclerotica o di un'aneurisma cerebrale. Sembrerebbe, ad esempio, che le diverse varianti del circolo possano parzialmente spiegare la differente incidenza di alcune malattie cerebrovascolari in differenti gruppi razziali o etnici (come una maggiore incidenza di aterosclerosi intracranica nella popolazione afro-americana rispetto alle altre etnie [23]).

Negli ultimi anni sono stati condotti diversi studi di natura epidemiologica per cercare di comprendere queste importanti relazioni, unitamente con la ricerca di modelli computazionali capaci di riprodurre l'influenza sul flusso sanguigno della geometria arteriosa, nonché l'effetto del flusso sulle patologie vascolari a carico dell'anastomosi cerebrale [14]. Le varianti anatomiche, precedentemente descritte, introducono un grado di asimmetria a livello del circolo di Willis. L'asimmetria geometrica si traduce in una significativa asimmetria del flusso, e costituisce uno dei fattori importanti nello sviluppo degli aneurismi intracranici e ictus ischemico [24]. Oltre a ciò, la presenza di un percorso collaterale anteriore non funzionale nel circolo di Willis, in pazienti con occlusione della carotide interna, è fortemente associata con l'ictus ischemico. Infine, la dominanza dell'arteria vertebrale può anche contribuire alla curvatura dell'arteria basilare e agli infarti della circolazione posteriore [20]. Ricerche condotte su cadaveri, nel confronto tra le varianti anatomiche e le disfunzioni neurologiche, hanno mostrato, in termini di ictus ischemico, una bassa percentuale di circoli completi, ed un'alta prevalenza di anastomosi cerebrali incomplete con vasi prevalentemente assenti o ipoplastici, confermando l'ipotesi che un circolo incompleto non sia capace di fornire un adeguato flusso collaterale per proteggere l'individuo dall'ischemia [22]. Altri studi hanno evidenziato una correlazione tra la localizzazione degli aneurismi cerebrali e le varianti anatomiche del circolo stesso. Gli aneurismi cerebrali sono frequenti in corrispondenza delle biforcazioni arteriose, facendo dell'anastomosi arteriosa cerebrale una zona particolarmente soggetta alla formazione di aneurismi, con l'85 % degli aneurismi sacculari che si originano dalle arterie del circolo di Willis [34]. Gli aneurismi sembrano localizzarsi specialmente in corrispondenza delle arterie comunicanti - il 35% circa degli aneurismi - , anteriore e posteriore, però la presenza di un'arteria ipoplastica, o addirittura l'assenza di segmenti vascolari, sembrano alterare i pattern del flusso sanguigno, esaltando i fattori emodinamici nella patogenesi dell'aneurisma cerebrale [35] [25]. Allo stesso tempo, pazienti con aneurisma hanno maggiori probabilità di avere asimmetria o un'anomalia del circolo [36]. Le condizioni di ipoplasia e aplasia arteriosa sono, nei fatti, le variazioni vascolari più comuni che si associano ad aneurismi intracranici, a causa di un aumento dello shear stress emodinamico e una maggiore accelerazione del flusso rispetto ad una configurazione normale del circolo di Willis [34] [27] [29].

Oltre alla maggiore possibilità di sviluppare patologie vascolari rispetto alla variante *fisiologica* - in cui non sono presenti arterie né ipoplastiche né aplastiche - , le varianti anatomiche stesse sono più suscettibili di ictus. Diverse pubblicazioni riportano la relazione tra le variazioni del circolo di Willis e la propensione allo sviluppo di ictus [18], [26] [27] [28]. Uno studio, ad esempio, mostra il ruolo dell'ipoplasia della PCoA nel predisporre la regione talamica verso eventi ischemici acuti, anche se l'effetto è di minore entità rispetto all'occlusione delle altre arterie intracraniche [26]. Le varianti anatomiche presenterebbero delle alterazioni delle caratteristiche geometriche, proprie delle arterie e dei punti di diramazione, provocando uno sbilanciamento nell'equilibrio emodinamico all'interno del circolo: ad esempio, le arterie ipoplastiche presentano una maggiore resistenza al flusso e una geometria delle biforcazioni maggiormente sbilanciata rispetto alle condizioni normali [27]. L'associazione tra ipoplasia o asimmetria delle arterie con l'insorgenza di patologie importanti viene poi confermata da diverse ricerche, che evidenziano come queste tipologie arteriose aumenterebbero sia il rischio di formazione e rottura degli aneurismi nei loro punti di diramazione, sia il rischio di una continua esposizione delle cellule endoteliali al wall shear stress, con conseguente degenerazione della parete arteriosa, favorevole all'aterogenesi. Allo stesso modo, l'associazione tra aneurismi e anomalie del circolo arterioso del Willis suggerisce l'ipotesi che un circolo arterioso asimmetrico, atipico e incompleto possa avere un ruolo nell'eziologia dell'emorragia cerebrale alla base dell'ischemia emorragica [29].

Tra le diverse varietà anatomiche, quella più a rischio di insorgenza di colpi apoplettici risulta essere quella con la variante fetale dell'arteria cerebrale posteriore (*fPCA*), data la maggiore dipendenza di un'ampia area occipitale dell'encefalo dal flusso sanguigno dell'arteria carotide ipsilaterale, che favorirebbe la comparsa di ictus a carico della circolazione posteriore [30], [31]. Una simile configurazione risulterebbe più a rischio di ictus se alla *fPCA* si associa l'assenza del segmento A1 controlaterale [32].

1.2.3 Parete arteriosa

La maggior parte delle patologie che riguarda le arterie cerebrali interessa principalmente la parete arteriosa. Costituenti fondamentali delle pareti dei vasi sanguigni sono le cellule endoteliali, le cellule muscolari lisce e la matrice extracellulare, tra le cui componenti ci sono l'elastina, il collagene, e i glicosaminoglicani (*GAG*). Questi elementi risultano variamente organizzati tra di loro a formare tre strati connettivali concentrici, chiamati *tonache*. Nei vasi di grande e di medio calibro, si possono distinguere, procedendo dal lume verso l'esterno, tre diversi strati: la *tonaca intima*, la *tonaca media*, e la *tonaca avventizia* [33].

La *tonaca intima* consiste in un singolo strato di cellule endoteliali, a diretto contatto con il torrente sanguigno, appoggiate ad uno strato subendoteliale, detto *lamina basale*, costituito da tessuto connettivo lasso e da qualche cellula muscolare liscia. Procedendo verso l'esterno, nel subendotelio si trova la *lamina elastica interna*, una membrana densa composta da fibre elastiche disposte in maniera tale da formare delle fenestrazioni per il passaggio delle sostanze nutritive dal lume vasale agli strati più profondi. La *tonaca media* è lo strato più spesso delle arterie, e determina in modo preminente le proprietà meccaniche della parete, oltre a garantire il mantenimento della pressione sanguigna e della continuità del flusso. Risulta composta da cellule muscolari lisce, disposte ad elica, fibre elastiche, collagene e proteoglicani, anche se la struttura della tonaca dipende dalla tipologia di arteria - nelle arterie più piccole, come ad esempio quelle del braccio, le cellule muscolari sostituiscono lo strato delle fibre elastiche -. Le cellule degli strati della media vicini al lume vasale, tramite i processi diffusivi, ricevono ossigeno e i nutrienti necessari direttamente dal flusso sanguigno, fenomeno facilitato dai fori presenti nella lamina elastica interna. La diffusione dal lume è tuttavia inadeguata per le porzioni più esterne della tonaca media, specialmente nei vasi di medio e grosso calibro; per tale motivo, queste regioni parietali sono irrorate dai *vasa vasorum*, una rete di piccoli vasi sanguigni che originano dall'esterno del vaso e si spingono in profondità nella tonaca media. Una lamina elastica esterna definisce, nella gran parte delle arterie, il limite esterno della tonaca media.

La *tonaca avventizia* è lo strato più esterno del vaso, è più sottile della tonaca media ed è più rigida; è formata da tessuto connettivo lasso, spesso contenente molte fibre elastiche, lassamente intrecciate, con abbondante sostanza amorfa [33]. Questo strato, oltre ad una funzione protettiva, permette l'ancoraggio del vaso alle altre strutture, generando una sorta di continuità tra vaso e gli altri tessuti connettivi. La tonaca avventizia contiene anche fibre nervose che portano gli ordini alla tonaca muscolare - contrazione e rilassamento -, vasi linfatici, e, nel caso delle grandi arterie, il sistema dei *vasa vasorum*, la rete dei capillari che porta l'ossigeno e i necessari nutrienti agli strati profondi delle tonache. La quantità relativa e la disposizione dei costituenti fondamentali, all'interno della parete dei vasi, variano lungo il sistema arterioso, in funzione degli adattamenti locali alle esigenze meccaniche o metaboliche: i cambiamenti strutturali, riscontrabili di distretto in distretto, riguardano soprattutto la tonaca media e la matrice extracellulare. Sulla base della componente tissutale predominante nella tonaca media è possibile distinguere le arterie in elastiche e muscolari. Da ricordare che le fibre elastiche e di collagene rendono conto delle proprietà di resistenza e di deformabilità delle arterie, mentre le cellule muscolari lisce modificano, in risposta ad esigenze metaboliche o fisiologiche, l'ampiezza del lume arterioso.

A livello istologico, quelle endoteliali sono cellule poligonali estremamente appiattite ed allungate. Sono caratterizzate dalla presenza nel loro citoplasma di numerose vescicole di pinocitosi e di organelli specializzati, i *corpi di Weibel-Palade*, contenenti il *fattore di Von Willebrandt* (fattore VIII della coagulazione) e la *P-selectina*, oltre ad altre sostanze coinvolte nell'emostasi. Le cellule sono strettamente connesse le une alle altre da complessi giunzionali a formare uno strato singolo e continuo, chiamato appunto endotelio; questo riveste l'intero sistema vascolare e la sua integrità strutturale e funzionale è fondamentale per il mantenimento dell'omeostasi della parete vasale e della normale circolazione. L'endotelio vascolare è un tessuto versatile e multifunzionale, considerato un vero e proprio "*organo endocrino, paracrino e autocrino*", con molte proprietà sintetiche e metaboliche, partecipando attivamente alle interazioni tra il sangue e i tessuti circostanti. In condizioni di integrità strutturale esso svolge molteplici funzioni:

- Rappresenta una barriera altamente selettiva rispetto al passaggio delle sostanze circolanti nel torrente ematico, ed esercita un ruolo centrale nel controllo degli scambi emato-tissutali, sia per la presenza di giunzioni intercellulari normalmente impermeabili alle grandi molecole - quali le proteine plasmatiche -, sia perché le cellule endoteliali sintetizzano collagene e proteoglicani per il mantenimento della membrana basale e della matrice extracellulare.
- Mantiene l'equilibrio emostatico intravascolare grazie alle sue proprietà anticoagulanti e fibrinolitiche dovute all'elaborazione di molecole quali la prostaciclina e trombomodulina.
- Contribuisce in modo determinante alla regolazione del tono vasale, grazie alla produzione di sostanze ad azione vasodilatante (come l'ossido nitrico) e di sostanze ad azione vasocostrittrice (angiotensina II, endotelina), che, in condizioni fisiologiche, si mantengono in equilibrio fra di loro. L'*ossido nitrico* esercita inoltre un ruolo protettivo nei confronti della parete vasale, inibendo la proliferazione e la migrazione delle cellule muscolari lisce dalla tonaca media, l'aggregazione piastrinica, l'adesione dei monociti circolanti nel torrente sanguigno, la flogosi e i processi ossidativi. Al contrario, le sostanze ad azione vasocostrittrice, oltre a determinare lo spasmo vasale, sono in grado di promuovere infiammazione e danno vascolare.
- Produce molecole che mediane la reazione infiammatoria acuta, tra cui le *IL-1, IL-6, IL-8* e molecole di adesione cellulare quali *VCAM-1, ICAM, E-selectina, P-selectina*.
- Controlla la crescita cellulare tramite la secrezione di fattori stimolanti (*PDGF, CSF, FGF*) e di fattori inibenti (*eparina, TGF-β*).

1.3 Aterosclerosi: formazione e sviluppo

L'aterosclerosi è un processo patologico a carico delle pareti delle arterie, caratterizzato dalla deposizione di sostanze di natura lipidica (trigliceridi, colesterolo), nello spessore dello strato interno o *tonaca intima*, al di sotto dell'endotelio che porta alla formazione di aree rilevate più o meno estese, dette *placche aterosclerotiche* o *ateromi*, con conseguente restringimento del lume del vaso e riduzione del flusso ematico; in corrispondenza di queste zone la parete arteriosa viene gravemente alterata da fenomeni di fibrosi, distruzione delle strutture proprie, precipitazioni di sali di calcio, con indurimento e perdita di elasticità. Le placche progrediscono fino a formare *trombi*, masse solide formate da fibrina contenenti piastrine, globuli rossi e bianchi, che si formano per coagulazione del sangue a livello delle lesioni aterosclerotiche, con conseguente ostruzione di entità variabile del lume del vaso; dai trombi possono infine distaccarsi frammenti detti *emboli* che, immettendosi nel torrente circolatorio, vanno a colpire vasi più piccoli.

L'aterosclerosi colpisce soprattutto l'aorta, le arterie cerebrali, coronarie, femorali, renali, mesenteriche, e si può presentare potenzialmente in tutti i soggetti sani, seppure in maniera variabile. Le lesioni iniziano nell'età giovanile, con l'aspetto di striature giallastre (corrispondenti ai primi accumuli lipidici), e poi si estendono e si aggravano lentamente e progressivamente, raggiungendo quindi il loro massimo grado nell'età senile. Gli effetti più importanti della malattia, conseguenti al difetto di irrigazione, sono condizionati principalmente da due fattori: diversa sensibilità dei tessuti alla riduzione dell'apporto sanguigno e possibilità di mantenimento di una circolazione adeguata alle necessità degli organi attraverso la formazione di circoli collaterali, che bypassano i vasi colpiti dalla malattia. Il danno che si determina può essere perciò di entità variabile: da una lieve sofferenza fino alla morte dei tessuti. La malattia non dà segni di sé fino a stadi tardivi, quando il danno alle arterie è tale da determinare una riduzione del flusso arterioso. Le manifestazioni cliniche dipendono dal distretto vascolare colpito e dell'entità del danno: angina pectoris o infarto miocardico quando sono interessate le arterie coronarie, attacchi ischemici transitori (TIA) o colpo apoplettico se sono colpite le arterie cerebrali, *claudicatio intermittens* o cancrena degli arti inferiori per le arterie femorali e ancora emorragie, aneurismi, o manifestazioni più subdole di lenta ma progressiva compromissione di organi interni (specialmente a carico della retina e del rene).

Le cause dell'aterosclerosi e i meccanismi intimi con cui le lesioni si instaurano non sono stati ancora completamente chiariti [37]. Fattori diversi agiscono influenzandosi a vicenda nel determinare l'insorgenza delle lesioni e nel condizionarne l'evoluzione. Accanto a fattori locali fisici o meccanici (pressione del sangue in un certo distretto, curvatura del vaso con eventuali maggiori sollecitazioni meccaniche, variazioni di calibro dell'arteria), che possono condizionare la maggiore frequenza con cui le lesioni compaiono in certe sedi rispetto ad altre, sono da considerarsi anche *fattori generali endogeni* (cioè inerenti il soggetto, la sua costituzione, il suo metabolismo ecc.), o *esogeni* (riguardante l'ambiente o le abitudini di vita).

Fattori di rischio

Tra i fattori principali di rischio di tipo endogeno vi sono l'*età* e il *sesso*. La patologia su base aterosclerotica si manifesta a partire dai 35-40 anni, e con l'avanzare dell'età, quando diventa più diventa più frequente il reperto di lesione. L'incidenza nel sesso femminile è cinque volte inferiore rispetto al sesso maschile, probabilmente a seguito della protezione offerta dagli estrogeni fino al momento della menopausa, quando la cessazione dell'attività ovarica rende l'incidenza tra sesso femminile e maschile pressoché identica in età avanzata. Esiste anche una *predisposizione ereditaria su base poligenica* a far insorgere una patologia di tipo aterosclerotico, ma va tenuto presente che l'aggregazione familiare è condizionata da specifiche abitudini alimentari e dall'aggregazione di fattori come diabete mellito, ipertensione, e altri.

È comunemente accettato che l'*iperlipidemia* sia il principale fattore di rischio primario per l'aterosclerosi, in particolare l'*ipercolesterolemia* con elevati livelli circolanti di LDL ($> 190 \text{ mg/dl}$). Un significativo campanello di allarme è costituito non tanto e non solo dal livello di colesterolo nel sangue quanto dal livello ematico delle *beta-lipoproteine*, che trasportano il colesterolo, e dei trigliceridi: un aumento prolungato di questi valori costituisce un serio fattore di rischio. Un altro importante fattore di rischio è rappresentato dall'*ipossia* a livello della parete arteriosa, dato che l'ossigeno è solubile e capace di reagire con la parete del vaso. Una sua riduzione locale, infatti, a livello della parete arteriosa, favorirebbe la comparsa dell'aterosclerosi e dell'iperplasia della tonaca intima nelle regioni a basso wall shear stress [38]. Tra i fattori di rischio primari di atherosclerosi bisogna ricordare l'*ipertensione arteriosa* (che favorisce l'instaurazione della formazione ateromasica), il diabete, il fumo, capaci di aumentare il rischio di incidenti cardio- e cerebro-vascolari decine, se non, centinaia di volte. L'obesità, unitamente ad una vita competitiva e stressante, una personalità emotiva e una ridotta attività fisica sono da sempre associate ad un aumentato rischio cardiovascolare, anche se l'entità di tale rischio è difficilmente quantificabile.

1.3.1 Eziopatogenesi

L'eziopatogenesi del fenomeno atherosclerotico è complessa e multifattoriale e in parte non ancora chiarita [3]. La teoria che vede la formazione della placca come una reazione ad un *danno endoteliale* iniziale è attualmente quella più accreditata (Figura 1.8). Queste lesioni infatti producono una disfunzione endoteliale, senza necessariamente causare un'alterazione strutturalmente evidenziabile. Per disfunzione endoteliale si intende una risposta delle cellule endoteliali a stimoli ambientali di varia natura, in grado di indurre l'attivazione di geni che alterano le proprietà specifiche di queste cellule e, in particolare, la permeabilità selettiva verso i prodotti e le cellule presenti nel sangue e la loro capacità anti-aggregante. Tra i fattori in grado di produrre disfunzione endoteliale molti sono quelli che possiedono una chiara correlazione epidemiologica con un'aumentata incidenza di patologia atherosclerotica.

Le cellule endoteliali, dunque, rispondono a stimoli come i prodotti lipidici, i fattori emodinamici, i prodotti di glicazione avanzata (che si formano nel diabete), attivando la sintesi di diverse proteine, tra cui sembrano avere particolare importanza nelle genesi della lesione ateromatosa le molecole di adesione endoteliale, ICAM-1 e VCAM-1, che sono iperespresso nelle zone di endotelio in corrispondenza delle placche in fase di sviluppo e permettono l'adesione e il successivo ingresso dei monociti e linfociti nella placca. Una volta instaurata la disfunzione endoteliale, si innescano i meccanismi che conducono alla formazione della placca. Questa si presenta inizialmente sottoforma di lesione precoce, chiamata *stria lipidica*. La stria lipidica non costituisce una lesione patologica vera e propria, in quanto non compromette l'integrità strutturale del vaso, tuttavia la sua importanza è legata al fatto che si possa sviluppare in una placca fibrosa nelle zone di endotelio più prone allo sviluppo di ateromi, in combinazione con le condizioni che ne favoriscono l'evoluzione (iperlipidemia, fumo, eccetera). È chiaro invece che le strie lipidiche si limitano alla tonaca intima e si iniziano a formare come un accumulo focale di lipoproteine, soprattutto LDL, che attraverso la lesione endoteliale riescono a penetrare nella tonaca intima. Queste particelle lipoproteiche, accumulandosi nello spazio extracellulare dell'intima, possono andare incontro a trasformazioni chimiche, come l'*ossidazione*, che svolgono un potenziale ruolo patogenetico. Le LDL ossidate, infatti, rispetto alle molecole di LDL native, sono in grado di legarsi a particolari recettori presenti sui macrofagi, favorendo ulteriormente l'accumulo di lipidi; allo stesso tempo le LDL ossidate facilitano l'espressione di molecole d'adesione dei leucociti (VCAM-1, ICAM-1), sono chemiotattiche per i monociti, citotossiche, e costituiscono uno stimolo per rilasciare citochine e fattori di crescita (un altro meccanismo che può facilitare l'accumulo nell'intima di LDL modificate è la *glicazione enzimatica* delle apoproteine, che può verificarsi nei soggetti diabetici).

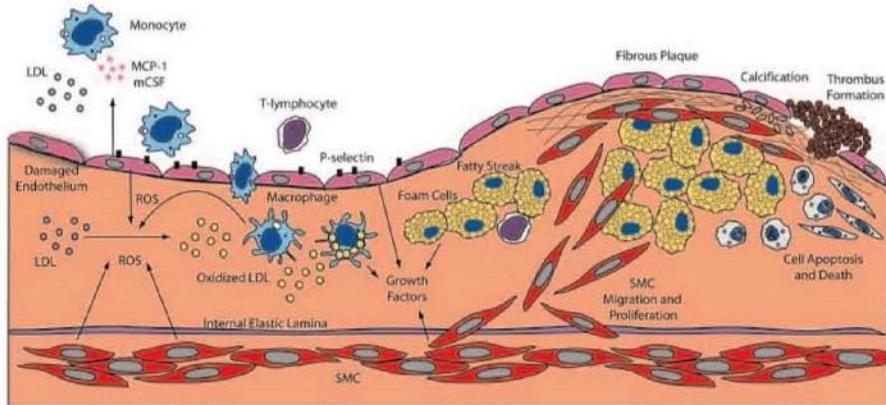


Figura 1.8: Progressione dell'aterosclerosi. I ROS prodotti dalle cellule endoteliali, le cellule muscolari lisce, e i macrofagi ossidano le molecole di LDL nello spazio subendoteliale, nei siti di danno e disfunzione endoteliale, iniziando gli eventi che culminano nella formazione della placca fibrosa. La rottura della placca porta alla formazione del trombo e all'occlusione del vaso [40].

La presenza di lipoproteine LDL ossidate e di flusso sanguigno non più laminare, portano a livello della lesione endoteliale una iperespressione delle molecole di adesione e di recettori, che portano al *richiamo nella lesione dei leucociti*, soprattutto monociti e linfociti. I monociti, infatti, penetrano nell'intima e si trasformano in macrofagi, capaci quindi di fagocitare le lipoproteine modificate presenti per mezzo di recettori modificati. Sebbene i macrofagi carichi di grasso (che prendono il nome di *cellule schiumose macrofagiche*) siano in grado di portare via dalla lesione parte dei lipidi, spesso il deposito lipidico è superiore alla "clearance" dei macrofagi, per cui si creano accumuli di lipidi e di cellule schiumose, che conferiscono l'aspetto rilevato e giallognolo alla stria lipidica. Occorre osservare, però, che non tutte le lesioni progrediscono in placche fibrose. I principali meccanismi alla base della *trasformazione della stria lipidica in fibrosa* - che porta alla formazione della placca aterosclerotica comunemente intesa (Figura 1.9) - sono: la *migrazione delle cellule muscolari lisce* dalla tonaca media all'intima, la loro *moltiplicazione* e la loro *trasformazione funzionale*. In particolare, le cellule muscolari si possono trasformare in cellule capaci di accumulare lipidi (divenendo cellule schiumose), e soprattutto cellule in grado di produrre le componenti della matrice extracellulare fibrosa (ovvero collagene, elastina, e proteoglicani), che conferisce l'aspetto fibroso caratteristico alla lesione ateromatosa in questo stadio. In questa fase, infatti, la placca fibrosa contiene una quantità sempre più ridotta di lipidi, localizzata al centro della lesione, che derivano dalle lipoproteine rilasciate dalle cellule schiumose, andate in necrosi indotta dal colesterolo accumulato. Le citochine (ad es. IL-1 e TNF- α) e i fattori di crescita (ad es. PDGF e TGF- β), prodotti dai leucociti (monociti/macrofagi e linfociti), dalle cellule endoteliali in presenza di lipoproteine modificate e dalle piastrine attivate, sembrano essere gli stimoli principali che agiscono sulle cellule muscolari lisce. Oltre a questi mediatori prodotti localmente all'interno della lesione, anche le *piastrine* e i *fattori della coagulazione* contribuiscono in modo determinante all'evoluzione della lesione. Infatti, man mano che le strie lipidiche si ingrandiscono, si possono evidenziare microfatture della superficie endoteliale. Inoltre, le citochine prodotte nella lesione, in particolare IL-1 e TNF, sono in grado di trasformare l'endoteliio da superficie vascolare con proprietà anticoagulanti in una con proprietà aggreganti. Le piastrine aderiscono all'epitelio danneggiato e formano microtrombi che aderiscono alla superficie lesa.

Le piastrine attivate rilasciano il fattore di crescita di derivazione piastrinica (PDGF) e il TGF- β , che contribuiscono alla proliferazione della muscolatura liscia e al processo di fibrosi (il TGF- β stimola le cellule muscolari a produrre collagene). La formazione di trombina sulla superficie della lesione può stimolare la proliferazione e il rilascio di citochine da parte delle cellule endoteliali.

Anche l'ossido nitrico (NO) può avere un ruolo nella formazione/evoluzione della placca. Infatti, se da un lato il flusso di sangue laminare favorisce la formazione continua di basse quantità di ossido nitrico da parte dell'enzima costitutivo NO-sintetasi presente nelle cellule endoteliali, dall'altro nell'ateroma le citochine proinfiammatorie prodotte "in situ" dai macrofagi possono attivare la NO-sintetasi producendo quantità relativamente grandi di NO. Mentre basse quantità di questo vasodilatatore fisiologico hanno uno specifico ruolo nel mantenere un adeguato flusso sanguigno e nel produrre un'azione antinfiammatoria locale (limitando ad es. l'espressione delle molecole di adesione per i leucociti), alti livelli di NO svolgono un'azione proinfiammatoria; infatti, si possono formare localmente radicali liberi di NO, che hanno un ruolo sinergico con i radicali liberi dell' O_2 (anche essi prodotti dai macrofagi presenti nell'ateroma) nel produrre effetti infiammatori e citotossici.

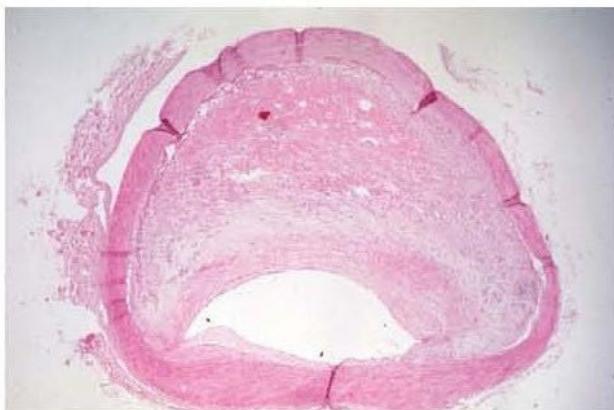


Figura 1.9: Placca aterosclerotica che ha ostruito il lume vasale.

L'evoluzione della placca fibrosa in lesione complicata è dovuta a molti fattori intrinseci alla sua struttura o ad eventi estrinseci che ne precipitano la trasformazione; il principale è rappresentato dalla fissurazione o ulcrazione della placca. Infatti l'esposizione di strutture sottoendoteliali e il contatto con fattori tissutali altamente trombogenici espressi dalle cellule schiumose nel 'core' lipidico della placca facilitano l'adesione piastrinica e la formazione di trombi artificiali; in tal modo si verifica una rapida crescita della lesione trasformandola da parzialmente stenotica in occlusiva. Le piastrine, quindi, hanno uno specifico ruolo nel progressivo e lento accrescimento della placca, tramite la formazione di microtrombi sopra la zona endoteliale danneggiata, e, inoltre, costituiscono i principali effettori del fenomeno rapidamente occlusivo del trombo su placche con alterazioni di tipo degenerativo viene oggi ritenuta il meccanismo principale che precipita una situazione clinica di modesta entità o addirittura asintomatica in un'emergenza ischemica. Inoltre, nell'ambito della placca si possono formare calcificazioni distrofiche con un processo simile a quello dell'ossificazione; anche in questo caso è facilitato il processo trombotico o embolico. La formazione di trombi piastrinici sulla superficie delle lesioni aterosclerotiche avrebbe anche l'effetto di liberare "in loco" mediatori che si formano nei processi di adesione e aggregazione piastrinica, e tra questi il trombossano A₂, la serotonina, i fattori piastrinici 2 e 4, tutti composti in grado di produrre uno spasmo vascolare. Lo spasmo vascolare, infatti, ha un ruolo concausale nell'ostruzione infartuale.

Un altro evento importante nell'evoluzione strutturale della placca è legato alla *neoformazione di plessi di microvasi* che la vascolarizzano. Infatti, i vasi neoformati sono fragili e possono facilmente produrre *emorragie intramurali* che fanno aumentare improvvisamente il volume e quindi la capacità trombotica della placca o ne facilitano la fissurazione. Se si verifica il *distacco* di tutta o di parte della placca, si ha la formazione di emboli che, trascinati dal flusso arterioso, vanno ad occludere vasi a valle della lesione ateromatosa. Il fenomeno dell'embolizzazione è particolarmente frequente nella patologia ischemica cerebrale.

Va anche ricordato che, sebbene il processo atherosclerotico sia un processo che coinvolge inizialmente soprattutto la tonaca intima, nelle lesioni avanzate e, in particolare, nei grossi vasi elasticci, anche la media va incontro a marcati fenomeni atrofici che indeboliscono la parete del vaso permettendo la formazione di aneurismi. Infine, la stabilità strutturale della placca, piuttosto che le sue dimensioni, determina la pericolosità cardiovascolare dell'ateroma.

1.3.2 Fattori fluidodinamici nella genesi dell'aterosclerosi

L'aterogenesi preferenzialmente coinvolge le regioni esterne delle biforcazioni vasali, e i punti dove ci sono ricircoli e stasi. Cambi direzionali e separazione del flusso determinano infatti degli shear stress significativamente bassi. Misure dirette e modelli fluidodinamici di queste particolari regioni suggeriscono valori di shear stress nell'ordine dei $\pm 4 \text{ dyn/cm}^2$ [39] in grado di stimolare il ciclo cellulare e rendere l'endotelio vulnerabile agli stimoli apoptogenici (ad es. LDL ossidate e fattori di necrosi tumorale $TNF-\alpha$), rispetto a valori fisiologici di 10 dyn/cm^2 , che hanno invece effetto ateroprotettivo sull'endotelio.

Valori di shear stress che rientrano nel range fisiologico ($>15 \text{ dyn/cm}^2$) producono un fenotipo endoteliale ateroprotettivo, che induce le cellule a ridurre l'espressione di vasocostrittori, fattori paracrini di crescita, mediatori infiammatori, molecole di adesione, ossidanti; inoltre stimolano l'endotelio a secernere vasodilatatori, fattori inibitori della crescita, fibrinolitici, fattori antipiastrinici, e antiossidanti. In questo modo, il fenotipo ateroprotettivo determinato dagli shear stress fisiologici rende l'endotelio meno suscettibile agli stimoli patogeni come lesioni vascolari, adesione cellulare, specie monocitaria, proliferazione cellulare all'interno della parete vasale, e accumulo di lipidi.

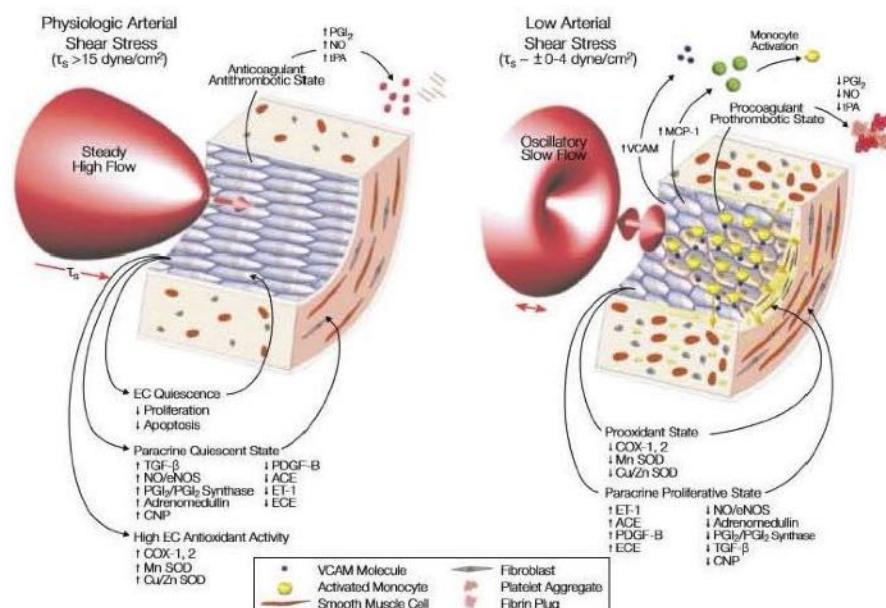


Figura 1.10: Sviluppo della placca aterosclerotica e il ruolo dei fattori emodinamici nella formazione delle lesioni a livello dell'endotelio [39].

Cambiamenti temporali dello shear rate, ossia shear rate oscillanti, e valori patologicamente bassi espongono invece l'endotelio ad un ambiente fluidodinamico alterato. Le cellule adottano una forma più circolare e perdono l'allineamento lungo le linee di flusso che è osservabile nelle aree soggette a WSS fisiologici. Queste alterazioni rendono le cellule endoteliali permeabili alla lipoproteine LDL, ampliandone le giunzioni comunicanti intercellulari, e aumentando il rischio di aterosclerosi [41]. Inoltre, le cellule endoteliali sovrappongono l'espressione di geni implicati in vari processi come la crescita cellulare, l'infiammazione (espressione delle molecole *VCAM-1* e *ICAM-1*, *VEGF* e interleuchine *IL-6*, tra le tante) e la coagulazione, con un contemporaneo incremento delle *specie reattive dell'ossigeno* (ROS). La produzione eccessiva di ROS induce uno stress ossidativo che supera i meccanismi di difesa antiossidante, andando ad ossidare le macromolecole biologiche (ad es. DNA, proteine e lipidi), e provocando perciò la disfunzione endoteliale, ossia la perdita delle sue caratteristiche strutturali e funzionali [43]. Contemporaneamente le cellule endoteliali sotto queste condizioni emodinamiche possono attivare i monociti e favorirne l'adesione cellulare; uno degli effetti di bassi shear stress è la ridotta produzione di ossido nitrico (NO) in combinazione con bassi livelli di antiossidanti. L'ossido nitrico gioca un ruolo importante nell'omeostasi vascolare, e ha molteplici proprietà antiaterogene. La sua carenza induce l'endotelio a seccare sostanze come l'*endotelina I*, *angiotensina II*, fattore di crescita derivato dalle piastrine *B*, che, assieme ai bassi valori di WSS, stimolano la migrazione delle cellule muscolari lisce dalla tonaca media a quella intima; la loro proliferazione porta poi ad una formazione neointimale di una capsula fibrosa, e quindi all'ipespessimento ateromatoso della parete. Contemporaneamente, i bassi valori di WSS inducono la produzione di *metalloproteinasi* (MMP), ossia di enzimi che degradano la matrice extracellulare, attraverso la sovrappongono dell'espressione genica e la stimolazione indotta dal rilascio di citochine proinfiammatorie da parte dell'endotelio, dei macrofagi e delle cellule muscolari lisce: ciò porta con sé la degradazione della matrice che supporta la parete vascolare, e conseguentemente rimodellamento. Inoltre la ridotta produzione di ossido nitrico potrebbe favorire l'aggregazione piastrinica e la deposizione di fibrina, accelerando la formazione della placca e incrementando il rischio di eventi trombolitici. Questi ultimi poi possono più facilmente verificarsi in presenza di altri fattori, come l'effetto dell'iperlipidemia sulla viscosità del sangue [42], e di flusso sanguigno stagnante nell'incremento dell'aggregazione piastrinica e della trombosi [44].

1.4 Aneurisma cerebrale: formazione e sviluppo

Per *aneurisma* si intende la dilatazione della parete di un'arteria, una vena o del cuore stesso. Gli aneurismi arteriosi, in modo particolare, si manifestano come dilatazioni pulsanti del vaso, legate in genere a un processo di arteriosclerosi, che altera la parete arteriosa, specialmente in corrispondenza della tunica media [3]. Esistono anche forme (che riguardano le arterie cerebrali) dovute a una debolezza costitutiva della parete arteriosa. Il meccanismo di formazione dell'aneurisma è legato alla pressione del sangue all'interno delle arterie che, premendo sul punto debole della parete, ne determina lo sfiancamento. Le localizzazioni più frequenti sono a livello dell'aorta, specie nel tratto addominale; seguono le arterie cerebrali, le arterie degli arti superiori e inferiori, e le arterie viscerali. La presenza dell'aneurisma può non essere avvertita dal paziente per lungo tempo e rendersi evidente solo con qualche sua complicazione: rottura, partenza di emboli, coagulazione in massa del sangue entro l'aneurisma con blocco della circolazione.

Generalità e classificazione

L'aneurisma cerebrale, in particolare, è una dilatazione circoscritta di un'arteria intracranica; in modo particolare si sviluppano a carico delle arterie di medio calibro del poligono di Willis (Figura 1.11).

La formazione degli aneurismi cerebrali dipende dall'interazione tra le forze emodinamiche, dovute ad un flusso elevato, e la parete arteriosa, tramite una risposta adattativa dei suoi tessuti. Questi aneurismi sono comunemente associati alle varianti anatomiche o a condizioni patologiche (come l'ipoplasia o l'occlusione di un segmento del circolo), oppure in corrispondenza di malformazioni arterovenose e dei punti di biforcazione, dove vi è, rispettivamente, un aumento locale del flusso e la separazione dello stesso. La struttura a forma anulare del circolo si espone a pattern emodinamici unici, compresi urti, flussi convergenti, divergenti, vorticosi. I flussi secondari, indotti dalla geometria curva delle arterie cerebrali, svolgono un ruolo importante nella distribuzione locale delle forze fluidodinamiche che agiscono sulle pareti vasali. In tale direzione, studi hanno mostrato una distribuzione non uniforme dello shear stress a parete (WSS) lungo le arterie, con zone di aumento e decremento a livello delle biforcazioni arteriose e delle regioni ad alta curvatura vasale, che costituiscono i punti più comuni per lo sviluppo dell'aneurisma. Anomalie nel circolo anastomotico sono poi associate con elevati rischi non solo di formazione di aneurismi, ma anche della loro rottura.

Le dimensioni degli aneurismi cerebrali sono molto variabili: la maggior parte ha diametro di circa 1 cm, ma spesso arriva a 2-3 cm, e si possono distinguere diverse morfologie, classificabili secondo diversi criteri. In base alla loro *localizzazione* si distinguono in:

- *aneurismi del circolo anteriore* (85-95% dei casi), che comprendono gli aneurismi della arteria comunicante anteriore, della arteria cerebrale anteriore (circa 40%) e aneurismi dell'arteria cerebrale media (circa 20%);
- *aneurismi del circolo posteriore*, o vertebo-basilari, molto meno frequenti (5-15%), che si localizzano a livello della biforcazione della arteria basilare, seguiti da aneurismi alla giunzione arteria basilare-arteria vertebrale, arteria basilare-arteria cerebellare superiore (AICA), giunzione arteria vertebrale-arteria cerebellare posteroinferiore (PICA).

In base alla *morfologia* della sacca aneurismatica si distinguono invece in:

- aneurismi *sacciformi miliari*, o *sacculari*, di piccole dimensioni e rotondeggianti, con diametro tipico inferiore ai 2 cm. Si tratta del tipo di aneurisma cerebrale più comune, dovuto ad un difetto nello sviluppo anatomico della parete del vaso.
- aneurismi *fusiformi*, con dilatazione irregolare della parete arteriosa di tutta la circonferenza, solitamente conseguente ad aterosclerosi diffusa, e raramente va incontro a rottura;
- aneurismi *dissecanti*, che si formano per il passaggio del sangue tra le pareti dell'arteria, separando la tonaca intima dello strato muscolare, ed è comunemente dovuto ad aterosclerosi.

Gli aneurismi cerebrali si possono classificare anche in base alle loro *dimensioni* (microaneurismi, a. medi, a. giganti, dove gli aneurismi ad alto rischio rottura hanno per lo più diametri compresi fra 5-7 mm), ed in base alla loro *eziologia*.

Infatti, mentre gli altri aneurismi, presenti in vari distretti, hanno solitamente una patogenesi di tipo arteriosclerotico, raramente traumatica e quasi mai malformativa, quelli sacculari del sistema nervoso centrale, ad esempio, pare abbiano origine malformativa [37]. Nella grande maggioranza dei casi l'origine dell'aneurisma, in particolare quello sacculare, è una debolezza congenita della parete arteriosa (consistente in un minor sviluppo della tunica media), per un non completo sviluppo della stessa parete, e si osserva in modo particolare nei punti di biforcazione dei vasi.

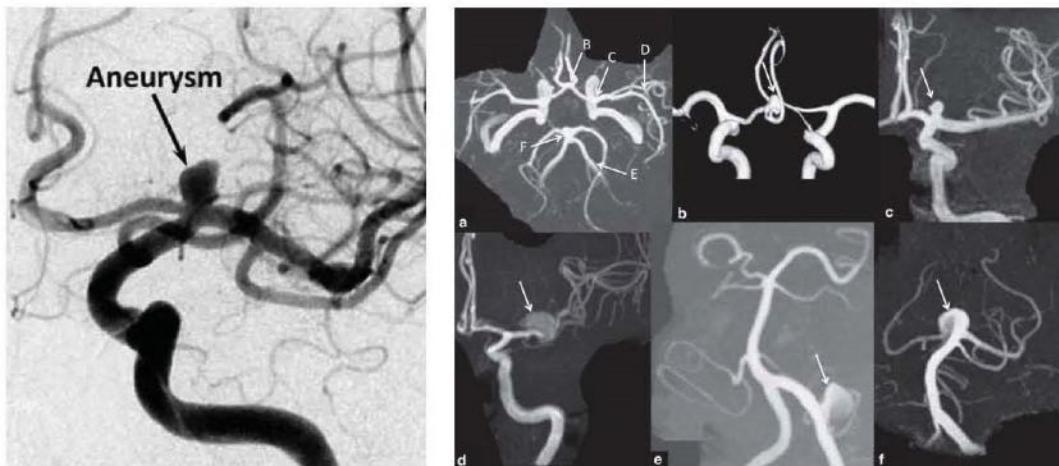


Figura 1.11: A sinistra, immagine angiografica di aneurisma di tipo sacciforme, nel punto di biforcazione tra l'arteria cerebrale media (MCA) e arteria cerebrale anteriore (ACA). A destra, immagini di angiografia a risonanza magnetica (MRA), che mostrano alcuni dei punti principali nella formazione degli aneurismi: (a) vista generale di alcune sedi; (b) aneurisma dell'arteria comunicante anteriore; (c) aneurisma del segmento terminale della carotide sinistra; (d) aneurisma dell'arteria cerebrale media; (e) aneurisma all'origine dell'arteria cerebellare posteroinferiore; (f) aneurisma della terminazione dell'arteria basilare.

Nelle forme congenite di aneurisma, il difetto circoscritto della tonaca muscolare del vaso rappresenta una zona di minore resistenza, che lentamente cede all'incessante stress meccanico dell'onda sistolica o ai vortici del flusso ematico in corrispondenza della biforcazione del vaso. È chiaro che gli aneurismi sacculari sono sempre stati considerati congeniti, correlati ad una anomalia anatomica congenita della parete arteriosa, che in quei punti manca di una valida tonaca muscolare, ed è quindi meno resistente e più distensibile.

Una ulteriore variante sono gli aneurismi definiti *vestigiali*, derivanti da abbozzi di arterie che si formano nel corso dello sviluppo embrionario e che poi vengono riassorbite, e laddove il riasorbimento è incompleto si può trovare la sacca. Oltre però a questi aspetti in tanti casi incontrovertibili, si è affermata un'altra possibilità patogenetica basata su modificazioni della matrice extracellulare glicoproteica della parete arteriosa formata da collagene, elastina, proteoglicani in continuo equilibrio dinamico metabolico. L'integrità di tale struttura è indispensabile alla normale elasticità e distensibilità della parete arteriosa: nella parete di aneurismi cerebrali è stato documentato un deficit di collageno tipo III per aumentata distruzione enzimatica di parte di elastasi prodotte dai polimorfonucleati normalmente presenti nella parete arteriosa, cosa che avviene nei processi flogistici [45]. L'arteriosclerosi è alla base solo degli aneurismi fusiformi che si riscontrano a livello delle carotidi e delle vertebrali sotto forma di dilatazione a fuso di un tratto dell'arteria. Cause più rare sono i traumi e le arteriti.

Dal punto di vista anatomo-patologico, infine, si distinguono:

- *aneurisma vero*: dilatazione della lamina elastica e della tunica media, mentre la tunica avventizia che costituisce la parete dell'aneurisma è conservata;
- *aneurisma falso*: in cui tutte le tuniche vascolari sono rotte e la parete dell'aneurisma è formata dal tessuto circostante;
- *aneurisma composto*: aneurisma vero che col tempo va incontro a rottura della avventizia.

Gli aneurismi colpiscono soprattutto nella seconda metà della vita; è difficile trovare un aneurisma sacculare sanguinante nel bambino o nella 2^a decade. Dopo i 30 anni è un'affezione comune che colpisce a tutte le età con un picco massimo intorno ai 60 anni. Ciò è dovuto al fatto che a partire dai 30 anni si verificano modificazioni circolatorie e pressoriose.

1.4.1 Patogenesi

La formazione degli aneurismi coinvolge modifiche nella struttura delle tonache che compongono la parete arteriosa (Figura 1.12). Le arterie cerebrali presentano una lamina elastica interna ben sviluppata, mentre la lamina elastica esterna è assente. La bassa quantità di tessuto connettivo nello spazio subaracnideo, con una tonaca media e avventizia fini, rende questi vasi più esposte alle forze emodinamiche e al rischio di sviluppare aneurismi. Le arterie cerebrali presentano irregolarità strutturali agli apici delle biforcazioni, che sono sedi tipiche per la formazione di aneurismi sacculari, in corrispondenza delle curve vascolari. Questi fattori, insieme ad una minore quantità di tessuto connettivo nello spazio subaracnideo stesso, rendono le arterie cerebrali più inclini agli insulti da parte degli stress emodinamici, e al conseguente danno alla lamina elastica interna.

La prima alterazione istologica che conduce alla formazione dell'aneurisma è la distruzione della lamina elastica interna, cui si associa erosione dell'endotelio luminale, con conseguente infiltrazione delle cellule infiammatorie, perdita delle cellule muscolari lisce, distruzione e rimodellamento della matrice extracellulare, fino alla calcificazione e/o all'accumulo lipidico, con morte cellulare [46]. Nel corso della formazione dell'aneurisma, la superficie luminale dei vasi diventa irregolare e spesso danneggiata, se non denudata, delle cellule endoteliali, come conseguenza degli stress emodinamici disturbati. Sebbene i fattori di stress da taglio possano innescare il danno iniziale, l'ulteriore degradazione e disorganizzazione della parete vascolare è probabilmente dovuta al sopraggiungersi di una cascata infiammatoria [47] [48]. Le evidenze istologiche mostrano, infatti, delle analogie tra la degenerazione vascolare aneurismatica e le lesioni atherosclerotiche infiammatorie. Ad innescare la formazione dell'aneurisma vi è la disfunzione delle cellule endoteliali (*Endothelial Cells*, ECs), dipendente dalle condizioni del flusso sanguigno (vedi sezione successiva). Diversi meccanosensori come canali ionici, recettori di membrana, molecole di adesione cellulare, recettori accoppiati a proteina G, sono state identificate sulle superfici apicali e basali dell'endotelio; questi sensori possono identificare le variazioni nel WSS e adattare di conseguenza il diametro del lume.

Alti shear stress possono provocare l'attivazione dei mediatori infiammatori, come il regolatore principale dell'infiammazione, il fattore nucleare Nf-*kB*. I fattori di stress meccanici possono erodere l'endotelio, innescando l'espressione delle molecole chemoattrattanti, delle citochine pro-infiammatorie, e delle molecole di adesione cellulare sulla superficie delle cellule endoteliali. Assenti normalmente dalle arterie, studi hanno mostrato l'espressione, nelle pareti dell'aneurisma cerebrale, della proteina-1 chemioattrattante dei monociti (*MCP-1*) - una citochina chemiotattica che regola la migrazione di granulociti e monociti, e la loro infiltrazione - dell'interleuchina-8 (*IL-8*), insieme alla molecola di adesione cellulare vascolare-1 (*VCAM-1*).

La lesione endoteliale, provocata dal flusso, scatena la risposta infiammatoria, con i monociti e le altre cellule infiammatorie che, dal flusso sanguigno, si infiltrano nella parete arteriosa e seceranno citochine pro-infiammatorie e metalloproteinasi (*MMP*). Studi hanno confermato la stretta correlazione tra l'infiltrazione macrofagica e la rottura degli aneurismi [47]. I macrofagi attivati sono ritenuti dei mediatori chiave nella rimodellazione vascolare degli aneurismi intracranici, dato il rilascio delle metalloproteinasi *MMP-9* e *MMP-2*, che sono gli enzimi proteolitici responsabili del rimodellamento della matrice extracellulare (ECM). La montante risposta infiammatoria determina la distruzione proteolitica dell'ECM e delle principali componenti strutturali della parete, come l'elastina e il collagene. Questa degradazione determina così i cambiamenti strutturali nella lamina elastica interna e media, che alterano le proprietà meccaniche della parete e determinano l'assottigliamento della tonaca media, alla base dell'indebolimento della parete tipico dell'aneurisma.

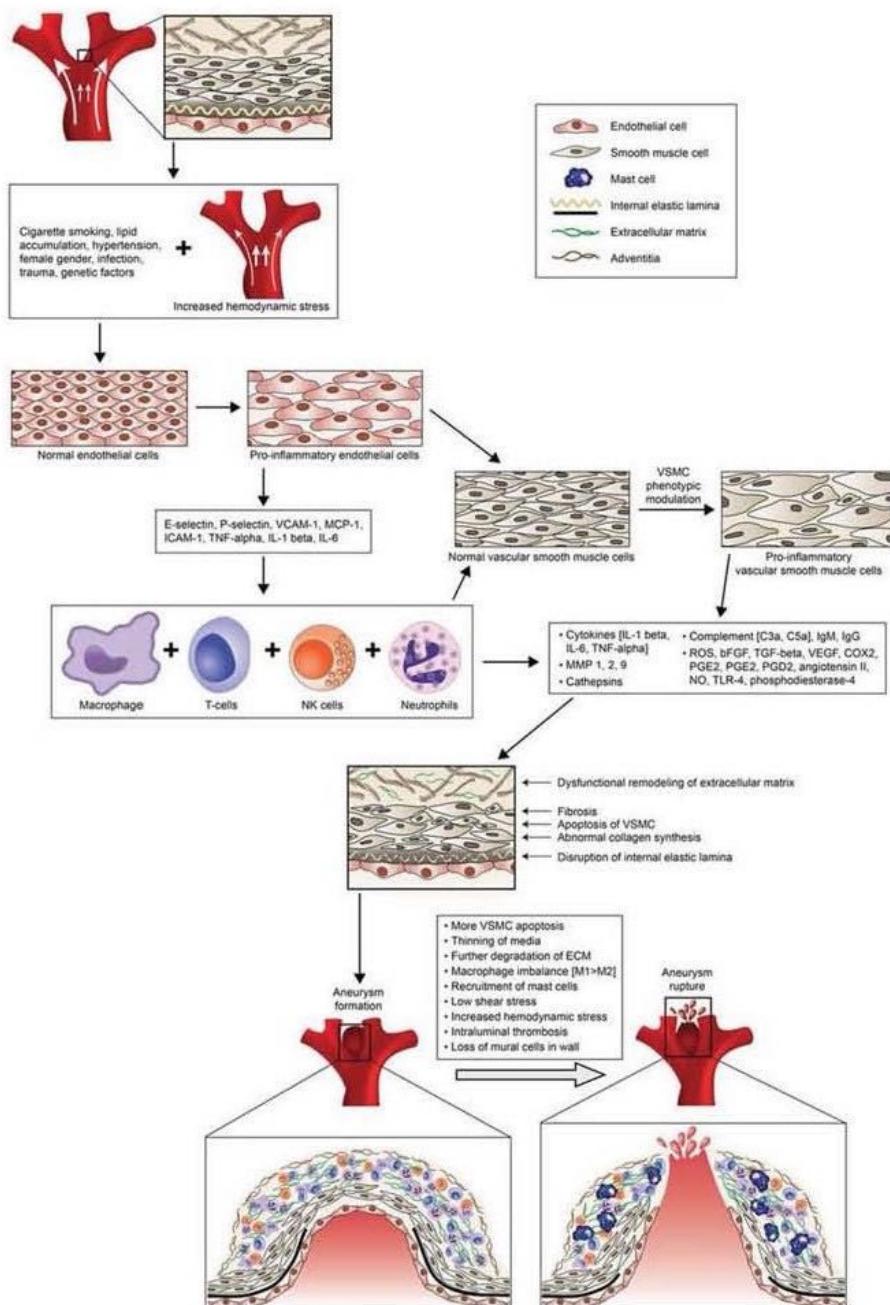


Figura 1.12: Meccanismo di formazione e rottura degli aneurismi cerebrali [45].

Nella formazione degli aneurismi cerebrali, anche le *cellule muscolari lisce* (*Smooth Muscle Cells*, SMCs) giocano un ruolo importante. Le cellule muscolari lisce hanno un ruolo cruciale nel mantenimento dell'integrità strutturale della parete delle arterie cerebrali. Concentrate soprattutto nella tonaca media, queste sintetizzano la ECM, contribuendo all'integrità strutturale della parete arteriosa. In risposta alla lesione endoteliale, le cellule muscolari lisce prima migrano nella lamina intima, dove proliferano e inducono iperplasia miointima [45]. Successivamente, le SMC vanno incontro ad una modulazione fenotipica: perdendo la capacità di esprimere geni contrattili, da un fenotipo differenziato, la cui caratteristica principale è la contrazione, passano ad un fenotipo indifferenziato. Questo fenotipo promuove l'infiammazione e degradazione della matrice, tramite la ridotta espressione dei geni contrattili, come quello della miocardina, e aumentata espressione dei geni proinfiammatori, come quelli delle MMPs, della MCP-1, della molecola di adesione cellulare vascolare-1, e delle interleuchine.

Citochine e metalloproteinasi della matrice così prodotte posso degradare la matrice extracellulare e partecipano alla regolazione dell'infiammazione, contribuendo al rimodellamento delle lesioni dell'aneurisma tramite la rottura del substrato cellulare. Le cellule muscolari lisce, fenotipicamente modulate, perdono la forma fusiforme e la loro disposizione in bande compatte, e si dissociano tra di loro, divenendo cellule non proliferative, non contrattili, con una forma caratteristica, detta "a ragno" [45]; inoltre, l'abilità di queste cellule indifferenziate di sintetizzare il collagene viene meno. Questa modulazione fenotipica, con la successiva degenerazione e perdita apoptotica delle SMC, contribuisce all'assottigliamento della tonaca media e all'indebolimento della parete vascolare, non più capace di sopportare il carico meccanico imposto dalla pressione sanguigna. A contribuire alla degradazione della parete arteriosa, vi sono l'attivazione della trombosi e dell'aggregazione piastrinica a livello dell'endotelio lesionato; neutrofili e macrofagi, inoltre, sono richiamati sul sito della lesione endoteliale e della trombosi, rilasciando enzimi proteolitici che degradano ulteriormente la parete del vaso [47]. Un ruolo nella patogenesi degli aneurismi cerebrali viene assunto anche dalla cascata del complemento: l'attivazione dei componenti del complemento - come C3 e C9 -, conduce a robuste cascate proteolitiche, che terminano nell'opsonizzazione e nella generazione della classica risposta infiammatoria, attraverso la profusione di potenti molecole proinfiammatorie.

1.4.2 Fattori fluidodinamici nella formazione dell'aneurisma

Nella formazione degli aneurismi cerebrali svolgono un ruolo chiave i fattori emodinamici. Un flusso laminare unidirezionale, nei tratti lineari dell'albero arterioso, si correla a valori basali del WSS; tale flusso è definito come "fisiologico", dato che promuove, nelle cellule endoteliali, uno stato quiescente e citoprotettivo [49]: queste si allineano nella direzione del flusso, che induce l'espressione di geni antifiammatori e antitrombotici [39]. Inoltre, i vasi arteriosi sono in grado di rispondere agli stimoli emodinamici tramite le cellule endoteliali, che fungono da meccanosensori del WSS: tramite le ECs, l'arteria mantiene lo shear stress entro i livelli basali, regolando il proprio calibro, ed in generale l'intera struttura vascolare [51]. Le alterazioni del flusso sanguigno inducono, però, valori di WSS sopra o sottofisiologici: questi possono indurre disfunzioni endoteliali e danni alla parete vascolare tramite diversi meccanismi [49]. Un incremento cronico del WSS, dovuto ad un aumento del flusso sanguigno, provoca una risposta adattativa dei tessuti della parete arteriosa, in cui le cellule endoteliali trasducono questi segnali meccanici in segnali biologici, attivando i processi omeostatici; ciò porta ad un allargamento del vaso riconducendo il WSS a valori fisiologici, e inducendo il rimodellamento vascolare.

Valori patologicamente alti, però, possono determinare una risposta patologica dell'endotelio, che può facilmente condurre alla disfunzione endoteliale e ad un rimodellamento distruttivo [46]. L'endotelio, ad esempio, per minimizzare lo shear stress, tende a adattarsi ai valori cronici di WSS appiattendosi e aderendo alla matrice extracellulare, perdendo la sua conformazione fisiologica [50]; allo stesso tempo, WSS soprafisiologici portano alla perdita dell'allineamento e ad un alto turnover delle cellule endoteliali, che tendono a dividersi e a perdere i contatti intercellulari. Valori soprafisiologici di WSS sono correlati ad un'aumentata produzione di ossido nitrico (NO) da parte delle cellule endoteliali, che porta ad un abbassamento non fisiologico del tono arterioso locale, facilitando l'iniziale proliferazione delle cellule muscolari lisce e endoteliali, e innescando il rimodellamento parietale: l'eccessiva produzione dell'ossido nitrico può, infatti, incrementare la sintesi del *perossinitrito*, che porta all'attivazione delle metalloproteinasi della matrice MMP. Studi hanno mostrato l'aumentata espressione delle MMP2 e MMP9 nelle zone a WSS soprafisiologici, congiuntamente ad una ridotta proliferazione, e perdita, di cellule muscolari lisce [49].

Oltre ad aumenti patologici del WSS, studi hanno mostrato la copresenza di elevati valori del gradiente spaziale del WSS (*Wall Shear Stress Gradient*, SWSSG) nei punti di formazione degli aneurismi, contribuendo alla formazione degli stessi.

Un gradiente del WSS alto è in grado di compromettere la normale risposta fisiologica dell'endotelio ai valori soprafisiologici del WSS: le forze di stiramento esercitate dal gradiente possono, infatti, allentare il contatto intercellulare tra le cellule endoteliali, determinando l'inizio del rimosso-dellamento distruttivo. Inoltre, un'esacerbazione di questo fenotipo endoteliale si osserva quando WSS alti sono combinati con un forte aumento del gradiente WSSG [52] [49]. Studi su modelli animali hanno delucidato il ruolo assunto dalla combinazione di questi fattori emodinamici nell'iniziazione degli aneurismi cerebrali [46].

Gli aneurismi cerebrali insorgono frequentemente nei punti di biforcazione o nelle curve esterne delle arterie del circolo di Willis: qui, infatti, l'accelerazione del flusso adiacente ai punti di impatto dà luogo ad un ambiente emodinamico complesso. Questo è caratterizzato da alti WSS frizionali e da un gradiente WSSG positivo - legato all'accelerazione del flusso - lungo il flusso. Questi stress emodinamici, attraverso la meccanotrasduzione delle cellule endoteliali, danno luogo alla cascata dei segnali biochimici quando questi superano una certa soglia; una volta superata, la copresenza degli alti valori del WSS e del suo gradiente WSSG determina la produzione locale e l'attivazione delle proteasi (tra le più importanti, le metalloproteinasi della matrice MMP-2 e MMP-9) da parte delle cellule murali, la lesione massiva della lamina elastica interna, e l'apoptosi delle SMC, che sono responsabili dell'assottigliamento della tonaca media e della formazione del rigonfiamento [46]. Alcuni studi suggeriscono la capacità del gradiente WSSG positivo - in quanto la particolare geometria del circolo determina accelerazioni locali del flusso - di modulare la risposta endoteliale agli sforzi di taglio, aumentando la forza di stiramento netta già esercitata lungo l'endotelio da parte degli alti WSS, e allentando le giunzioni intercellulari; inoltre il gradiente WSSG può stimolare la proliferazione e l'apoptosi delle cellule endoteliali, rinforzando l'azione degli alti valori del WSS [51].

1.5 Diabete e circolo di Willis

Il termine diabete mellito, che nella pratica comune si abbrevia con il termine diabete, comprende un gruppo di patologie ad eziologia eterogenea caratterizzate da una situazione di *iperglycemia*, ed è generalmente causato da una complessa interazione tra fattori genetici e ambientali, che portano ad un'insufficiente secrezione di insulina e/o ad una diminuita azione insulinica.

La patologia diabetica è una delle malattie endocrine più comuni, soprattutto nei Paesi industrializzati. Questa patologia è stata suddivisa in quattro classi (secondo la classificazione redatta dall'*American Diabetes Association* nel 2010 [53]), ma due sono essenzialmente le tipologie:

- *Diabete mellito di tipo 1*, caratterizzato dalla distruzione delle cellule β e dalla conseguente mancanza assoluta di insulina;
- *Diabete mellito di tipo 2*, che comprende una serie di patologie eterogenee caratterizzate da una resistenza all'insulina e/o da un deficit relativo di insulina di varia entità; inoltre è spesso associata ad obesità.

Altre tipologie di diabete sono quelle su base monogenica, che portano ad una ridotta attività delle cellule β o a forme con meccanismi di resistenza insulinica; malattie del pancreas esocrino; endocrinopatie che producono ormoni iperglicemizzanti. Anche farmaci ad azione iperglicemizzante e infezioni virali possono dare luogo a diabete.

I segni e sintomi comuni a tutte le forme di diabete sono legati all'iperglicemia e comprendono glicosuria, poliuria, polidipsia. La perdita di calorie determina fame (polifagia) mentre la mobilizzazione di proteine e lipidi indotta dalla riduzione di insulina e dall'aumento relativo di glucagone porta come conseguenza l'acidosi metabolica, con iperpnea.

Tuttavia, le alterazioni metaboliche indotte dalla situazione iperglicemica porta ad una serie di complicanze *a lungo termine*, che colpiscono principalmente i sistemi nervoso periferico (neuropatie periferiche) e cardiocircolatorio (angiopatie diabetiche che colpiscono i piccoli vasi, o microangiopatie, o i grossi vasi, o macroangiopatie). La comparsa di complicanze a lungo termine determina la morbilità e la mortalità del paziente diabetico.

1.5.1 Diabete mellito di tipo 2

Per diabete di tipo 2 si intende un gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate da eziologia complessa, poligenica e multifattoriale in cui i fattori genetici, ancora largamente ignoti, e quelli ambientali (specie l'eccessiva nutrizione e la sedentarietà) concorrono nel determinare la malattia. Questa forma di diabete costituisce più del 90% dei casi diabetici, insorge nell'individuo adulto e nella maggioranza dei casi è associata a obesità. Due sono le caratteristiche fisiopatologiche che si susseguono nella malattia. La prima è la comparsa di *resistenza periferica all'azione insulinica*, dove i tessuti rispondono meno, in termini metabolici, all'attivazione del recettore insulinico. La seconda caratteristica, invece, è la *ridotta secrezione insulinica*, per cui il pancreas non è in grado di mantenere l'iperproduzione insulinica conseguente all'aumento della resistenza periferica, e la secrezione di insulina va progressivamente riducendosi; ciò produce la comparsa della *iperglicemia*, inizialmente come ridotta tolleranza al glucosio. La riduzione della secrezione insulinica causa, inoltre, un aumento del glucosio ematico e, di conseguenza, un'eccessiva produzione epatica di glucosio, che favorisce ulteriormente l'aumento dei livelli glicemici producendo iperglicemia a digiuno (il cosiddetto diabete conclamato).

Il fenomeno dell'insulino-resistenza non è chiaramente definito nei suoi termini molecolari. L'alterazione di base è sicuramente post-recettoriale a livello delle vie di trasduzione del segnale. La via che coinvolge la *PI-3-chinasi*, che controlla l'espressione di *GLUT-4* sulla membrana sembra essere quella maggiormente coinvolta, e spiegherebbe perché l'iperinsulinemia che si instaura nel diabete mellito di tipo 2 è in grado di accelerare processi come l'aterosclerosi, in cui i processi proliferativi cellulari hanno importanza determinante. È stretta invece la correlazione tra diabete mellito di tipo 2 e l'obesità, che sia viscerale o centrale, dato il ruolo del tessuto adiposo nei meccanismi di resistenza all'insulina. L'elevata attività metabolica degli adipociti che si ha in un individuo obeso, infatti, è capace di modulare l'azione insulinica delle cellule β compromettendone la funzionalità, facendo diminuire quindi l'utilizzazione del glucosio da parte del tessuto muscolare e, grazie al loro aumentato uso nella via di β -ossidazione, promuovere la produzione epatica di glucosio. Infine, va sottolineato come il diabete mellito di tipo 2 porti con sé uno stato infiammatorio nell'individuo obeso, caratterizzato da elevati marker infiammatori, ed ha un ruolo importante nell'insorgenza della disfunzione endoteliale alla base della genesi aterosclerotica.

La relazione causale tra iperglicemia cronica e complicanze del diabete a lungo termine (solitamente dopo 10-20 anni di malattia diabetica) si rende evidente a livello vascolare. Tale relazione è chiara per le *microangiopatie*, a carico dei capillari, mentre per quanto riguarda le *macroangiopatie* ad alti livelli di glicemia a digiuno si associano altre disfunzioni, come le *dislipidemie* e *ipertensione*. Nei soggetti diabetici i capillari presentano un ispessimento delle membrane basali, che contribuisce a ridurre la funzionalità glomerulare (nefropatie) e diminuisce l'apporto di ossigeno e nutrienti ai tessuti (danni cellulari). Nei grossi vasi si assiste ad un accelerato processo di atherosclerosi e ad una maggiore predisposizione piastrinica nella sede della lesione [3]. Le alterazioni dei grossi vasi sono responsabili dei danni ischemici al cuore (il rischio di cardiopatia ischemica aumenta di 2-5 volte nel paziente diabetico e costituisce la principale causa di morte di tali soggetti) o agli arti inferiori.

1.5.2 Meccanismi molecolari alla base delle complicanze vascolari

I meccanismi con cui l'eccesso di glucosio in circolo portano a disfunzioni cellulari a carico dell'endotelio [54], e di organo non sono ancora pienamente compresi nel dettaglio. Al momento attuale sono ipotizzati quattro principali meccanismi biochimici (*formazione di proteine glicate; attivazione della via metabolica alternativa che porta alla formazione dei polioli; aumento della formazione di diacilglicerolo, che attiva alcune vie di trasduzione del segnale; aumento del flusso nella via dell'esosamina*), che probabilmente possono agire in modo sinergico, in quanto attivati dallo stesso meccanismo, e che operano in tutte le cellule non insulino-dipendenti (ad es. cellule epiteliali e endoteliali, neuroni, cellule della retina, mesenchimali, eccetera). Tutti questi mecca-

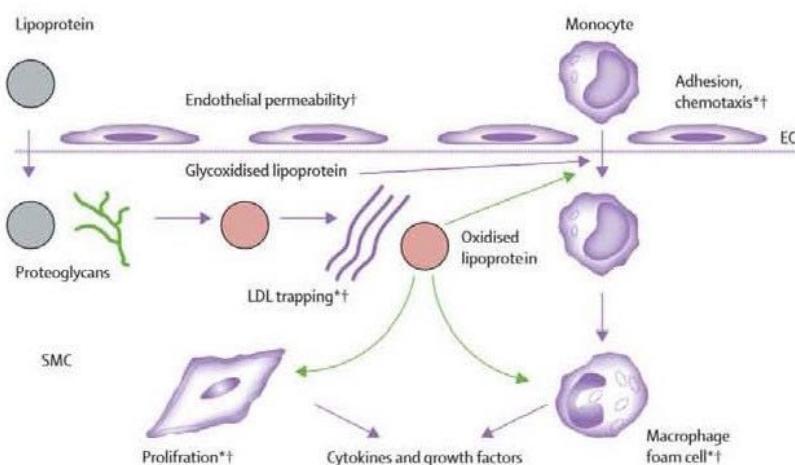


Figura 1.13: Possibile meccanismo con cui il glucosio e i prodotti finali della glicazione avanzata (AGE) può influenzare l'aterogenesi in condizioni diabetiche [61].

nismi hanno in comune un aumento intracellulare della concentrazione di glucosio conseguente all'iperglicemia (in questi tessuti i trasportatori del glucosio non sono sensibili all'insulina e pertanto non si instaura, come nei tessuti adiposo, muscolare ed epatico, un'insulino-resistenza). Principalmente l'elevata concentrazione intracellulare di glucosio aumenta la *glicazione proteica*, cioè l'attacco di residui glicosilici ai gruppi aminici di proteine intra- ed extracellulari. Si tratta di un processo che modifica in modo irreversibile la conformazione delle proteine, alterandone le funzioni (ad es. l'emoglobina glicata porta ad una diminuita cessione di O₂ ai tessuti). In modo particolare, le proteine tendono a formare legami crociati con altre proteine, producendo degli addotti proteici chiamati *AGE* (*Advanced Glycation End products*) che, a causa della loro reattività, possono produrre danni tissutali quali l'alterazione della matrice extracellulare, l'accelerazione dei processi aterosclerotici, le disfunzioni endoteliali, eccetera. A livello endoteliale, le cellule accumulano AGE nel subendotelio, producendo un aumento della permeabilità capillare e causando una riduzione della produzione di ossido nitrico, mentre le LDL glicate, potendosi accumulare più facilmente nella tonaca intima, possono reagire con le AGE impedendo il loro legame con i recettori cellulari. Così facendo, si rendono disponibili per l'ossidazione e per la loro successiva captazione tramite recettori detti *scavenger*, innescando le reazioni che portano all'inizio della lesione aterosclerotica [3]. Oltre alla glicazione delle proteine, l'iperglicemia porta con sé l'attivazione di alcune vie di trasduzione del segnale ad opera di una aumentata produzione di *dialglicerolo*. Esperimenti in vitro hanno mostrato che l'attivazione da parte del glucosio altera la trascrizione di geni per proteine strutturali della matrice extracellulare (collagene di tipo IV, fibronectina), per alcuni fattori solubili (ad es. fattori di crescita, endoteline, fattori di crescita vascolari, o VEGF), generando profonde modificazioni nella funzionalità di cellule e tessuti.

Grazie a questo meccanismo è probabile, ad esempio, che aumenti lo spessore delle membrane basali e che siano stimolate la neovascolarizzazione e la proliferazione cellulare. Infine, l'iperglicemia cronica produce di per sé stress ossidativo con formazione di radicali liberi dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS), che sono causa di ulteriori danni cellulari e possono attivare i quattro meccanismi biochimici alla base delle complicanze a lungo termine. L'aumentata espressione di fattori di crescita che deriva dall'attivazione delle quattro vie metaboliche ha sicuramente un ruolo importante nell'estrinsecazione delle complicanze del diabete. Infine, bisogna ricordare che la glucotossicità, oltre ad essere causa delle complicanze del diabete, è anche coinvolta nella progressione della malattia, come gli effetti che si esercitano anche sulla cellula β pancreatica [3].

1.5.3 Ruolo del diabete e dell'iperglicemia nell'ictus

Il diabete mellito di tipo 2, spesso associato ad una condizione di obesità, è ad oggi indicato come uno dei principali fattori di rischio per l'insorgenza di incidenti cardiovascolari, tra i quali l'ictus [2]. La costante crescita della prevalenza del diabete mellito di tipo 2, specie quello correlato alle cattive abitudini alimentari, all'obesità, e ad uno stile di vita sedentario, ha portato ad un aumento esponenziale della morbidità cardiovascolare negli ultimi anni [56]. Essendo una malattia principalmente associata con lo stile di vita, i pazienti diabetici hanno ulteriori fattori di rischio per l'ictus come l'obesità, l'ipertensione e la dislipidemia che moltiplificano i rischi vascolari in questi pazienti se comparati con pazienti non diabetici con un profilo di rischio simile. Dato che la morbilità del diabete tenderà ad aumentare ancor di più, parallelamente all'aumento dell'aspettativa di vita, ciò potrebbe portare ad un rapido e globale incremento della popolazione anziana, con una prevalenza di diabete e ipertensione elevata [56]. È stato pronosticato che nel 2040 il numero di casi di diabete mellito di tipo 2 passerà da 415 milioni a 640 milioni [55], specie nei Paesi occidentali e in via di sviluppo. Dall'analisi dei pattern clinici dell'ischemia, ci sono evidenti differenze tra pazienti diabetici e non diabetici. I pazienti diabetici infatti hanno una maggiore tendenza ad avere ictus ischemici piuttosto che emorragici, e gli infarti lacunari sono la tipologia più comune di ictus. Questo può essere dovuto all'alta prevalenza di malattie microvascolari accompagnate spesso da ipertensione. Inoltre le caratteristiche prognostiche differiscono da quelle persone colpite da ictus non diabetiche, dato che il diabete mellito di tipo 2 è associato ad un aumentato rischio di ictus successivi, maggiore disabilità funzionale, maggiore ospedalizzazione, e aumentata mortalità. Infine, è stato riportato anche un aumentato rischio di sviluppare demenza correlata con l'ictus.

Altri studi hanno messo in risalto anche la correlazione tra le variazioni dell'anatomia del circolo di Willis e la condizione diabetica, uno dei fattori di rischio per l'ischemia cerebrale. In uno di questi [58], che ha esaminato le varianti anatomiche tenendo conto solo dell'aplasia di alcune arterie, i risultati epidemiologici condotti su pazienti che avevano subito un precedente attacco ischemico hanno mostrato che, nelle condizioni diabetiche, si ha un aumentato rischio di infarti nelle regioni relative alla circolazione posteriore, mentre il tasso di pervietà delle arterie del circolo di Willis risulti maggiore nei soggetti diabetici rispetto a quelli normali. Tra i motivi di tale pervietà ci sarebbe l'aterosclerosi delle arterie intracraniche posteriori, dove si creerebbe una differenza pressoria tra la circolazione anteriore e posteriore, che consente alle arterie comunicanti posteriori di rifornire le regioni vascolari posteriori con parte del sangue proveniente dalla circolazione anteriore. Ciò spiegherebbe la maggiore incidenza di infarti della porzione prossimale dell'arteria cerebrale posteriore. Per tutti questi motivi, i pazienti diabetici sembrano soffrire maggiormente di aterosclerosi dei vasi della circolazione posteriore a confronto con le arterie anteriori, a cui si assocerebbe un aumento della circolazione collaterale nel circolo rispetto alle condizioni normali. Diversi sono i meccanismi con cui il diabete può condurre a ictus [57]. Questi includono disfunzione endoteliale, precoce arteriosclerosi, infiammazione sistemica e ispessimento della membrana basale dei capillari.

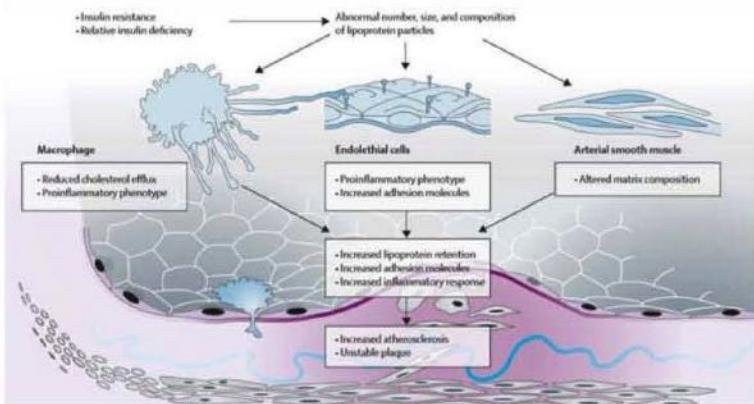
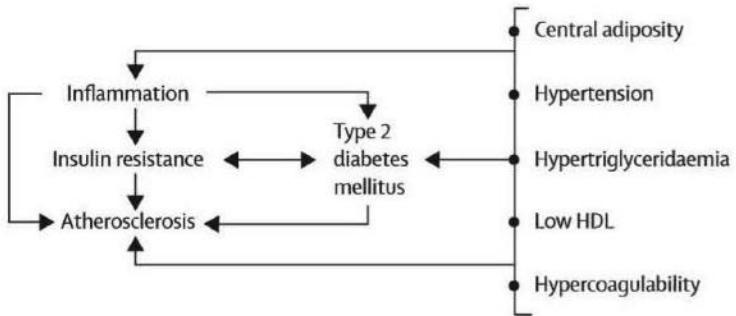


Figura 1.14: In alto, le vie di intersezione tra infiammazione, diabete mellito di tipo 2, e aterosclerosi. In basso, correlazione tra iperlipidemia e diabete nella parete del vaso [61].

La funzione dell'endotelio vascolare è fondamentale per il mantenimento dell'integrità strutturale e funzionale delle pareti vasali, così come per il controllo vasomotorio. La disfunzione endoteliale, da cui consegna la cascata atrosclerotica, dipende in parte dalla ridotta disponibilità di ossido nitrico (NO), ed è stato osservato che nei pazienti diabetici la vasodilatazione NO-mediata è alterata, dovuta ad una crescente inattivazione del NO o ad una ridotta reattività della cellule muscolari lisce al NO. Individui con diabete mellito di tipo 2 hanno arterie rigide e ridotta elasticità rispetto ai soggetti normali con livelli normali di glucosio; il diabete mellito di tipo 1 (la forma caratterizzata dalla distruzione delle cellule β pancreatiche) è spesso associata ad un indebolimento strutturale precoce della arteria carotide comune, dovuto ad un ipersoprassimento della tonaca intima e media, ed è considerata un segno precoce di atrosclerosi [57]. Una aumentata risposta infiammatoria è frequentemente osservata negli individui con diabete, e l'infiammazione gioca un ruolo importante nello sviluppo delle placche aterosclerotiche.

Relativamente alle regioni cerebrali interessate, i pazienti diabetici sono molto più suscettibili di ictus ischemico nella regione circolatoria posteriore rispetto alle altre regioni del cervello [58]. Gli esiti negativi che il diabete porta con sé sono, dunque, principalmente dovuti all'azione combinata di *iperinsulinemia*, conseguenza dell'insulino-resistenza, e di *iperglycemia*, ed entrambi hanno un ruolo importante nella genesi delle patologie cardiovascolari. L'insulino-resistenza, infatti, a livello di un tessuto adiposo abbondante, si manifesta in una soppressione dell'attività lipogenetica dell'insulina, accompagnata dalla mobilizzazione degli acidi grassi liberi (*Free Fatty Acids, FFA*). L'influsso degli FFA inibisce a sua volta la captazione di glucosio insulino-mediata nel fegato, nel muscolo scheletrico e negli altri organi, aumentando ulteriormente i livelli di glucosio. A livello delle cellule endoteliali, invece, l'influsso dei FFA promuove la sovraproduzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS), innescando gli stessi processi patogenetici dovuti all'iperglicemia.

In particolare, l'aumentato rilascio degli FFA provoca non solo un aumento dei livelli di LDL che si accumulano nella parte arteriosa, ma contribuisce anche, in combinazione con le vie insuliniche difettose dei macrofagi, alla apoptosi macrofagica e ad una bassa clearance delle molecole di LDL. Di conseguenza, può verificarsi la degenerazione necrotica delle placche lipidiche, che conduce alla progressione delle lesioni aterosclerotiche clinicamente rilevanti [59].

Modelli animali hanno mostrato che iperglicemia e iperinsulinemia acuta sembrano incrementare l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno di tipo 1, e ridurre l'azione dell'attivatore del plasminogeno tissutale libero, tramite la ridotta attività fibrinolitica del plasma [60]. L'insulino-resistenza provoca, dunque, ipertrofia degli adipociti, portandoli poi alla morte, instaurando un profilo lipidico aterogeno, con aumento della concentrazione di LDL ed alte concentrazioni di trigliceridi. La morte cellulare degli adipociti conduce a modifiche proinfiammatorie, che testimoniano il legame fisiopatologico tra malattie metaboliche e vascolari. Le conseguenze proinfiammatorie (rilascio di citochine e interleuchine) e metaboliche dell'insulino-resistenza - assieme all'obesità - porta, infine, alla disfunzione endoteliale, quando viene meno l'equilibrio fisiologico tra vasocostrittori (endotelina, angiotensina II) e vasodilatatori (ossido nitrico, prostacicline), fattori anti- e pro-coagulanti.

1.6 Trasporto dell'ossigeno nel sangue

Il trasporto di ossigeno nel sangue avviene in due forme: disciolto fisicamente nel plasma (soluzione fisica di fluido e gas), e legato chimicamente all'emoglobina. Gran parte dell'ossigeno circolante nel sangue viaggia attraverso il legame con l'emoglobina contenuta nei globuli rossi. Circa il 98,5% dell'ossigeno presente nel sangue viene trasportato legato all'emoglobina (19.6 ml O_2 /100 ml sangue), per rispondere alle elevate esigenze metaboliche dell'organismo. L'ossigeno si lega all'emoglobina grazie al *gruppo eme*, la porzione non proteica dell'emoglobina contenente lo ione ferro Fe^{2+} , che è sensibile alla molecola O_2 ; sono presenti quattro atomi di ferro nella porzione, capaci di legarsi, a livello del tessuto alveolare, a quattro molecole di ossigeno. Quando si lega all'ossigeno, l'emoglobina viene chiamata ossiemoglobina, per differenziarla dalla emoglobina non legata all'ossigeno, deossiemoglobina. La saturazione emoglobinica fornisce una misura percentuale del grado a cui l'emoglobina presente è combinata con l'ossigeno, dove si tiene conto di quanta emoglobina risulta legata all' O_2 . Quando ogni molecola di emoglobina, tramite gli atomi di ferro, si lega con 4 molecole di ossigeno, questa si dice "satura". Se tutte le molecole di emoglobina risultano saturate, allora la saturazione emoglobinica è pari al 100%; se invece ogni molecola di emoglobina legasse solo due molecole di ossigeno, allora la saturazione emoglobinica sarebbe pari al 50%. La più importante determinante della percentuale di saturazione è la pressione parziale di ossigeno P_{O_2} . A livello alveolare, dove la pressione parziale P_{O_2} è più alta, l'ossigeno si lega all'emoglobina inducendo cambiamenti conformazionali, passando da uno stato a bassa affinità per l'ossigeno, definito stato T (teso), a uno ad alta affinità per l'ossigeno, definito stato R (rilassato). Questo cambiamento a livello alveolare consente all'emoglobina di legarsi all'ossigeno e di poterlo trasportare ai tessuti, dove la bassa pressione parziale di ossigeno induce ulteriori cambiamenti conformazionali, per cui si ha il passaggio dallo stato R allo stato T. Altri fattori determinano la cessione di O_2 a livello tissutale: la temperatura, il 2,3-bisfosfoglicerato (BPG), l'acidità. Il 2,3 bisfosfoglicerato è una molecola prodotta dal metabolismo eritrocitario, ed ha un ruolo nel ridurre l'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno perché stabilizza la sua forma deossigenata. La produzione di questa molecola dipende dalla pressione parziale di ossigeno ambientale, per cui una sottosaturazione di emoglobina dovuta ad altitudini elevate o a malattie cardiorespiratorie, porta ad un aumento della BPG, riduce l'affinità del gruppo eme all'ossigeno, e lo rende disponibile in maggiori quantità anche se l'apporto arterioso di O_2 è cronicamente ridotto. L'efficacia dell'emoglobina è legata anche alla maggiore pressione parziale di anidride carbonica tissutale, tramite il rilascio di protoni dovuto al suo comportamento acido.

Gli ioni idrogeno, infatti, si legano all'emoglobina in siti diversi da quelli dell'ossigeno, e il risultato è la formazione di ponti salini caratteristici della conformazione T, riducendone la sua affinità per l'ossigeno. Inoltre, la CO₂ non ancora dissociata si lega ai gruppi amminici delle catene β dell'emoglobina formando la carbossiemoglobina, con ulteriore rilascio di ossigeno da parte della stessa. L'effetto combinato degli acidi e della CO₂ sul rilascio dell'ossigeno prende il nome di *effetto Bohr*. Relativamente all'ossigeno dissolto nel sangue, la sua percentuale è bassissima (0.3 ml O₂/100ml sangue), data la sua scarsa solubilità nei liquidi organici. La quantità dissolta è direttamente proporzionale alla P_{O₂} del sangue.

Negli ultimi anni studi hanno cercato di stabilire un legame tra l'ossigeno dissolto nel sangue e l'insorgenza di malattie vascolari come l'aterosclerosi. Si ritiene che l'ipossia, dovuta ad una ridotta diffusione di ossigeno all'interfaccia sangue-tessuto, possa avere un iniziale ruolo nella patogenesi aterosclerotica. La carenza di ossigeno alla parete arteriosa può condurre ad una insufficienza di collagene, che a sua volta può determinare un irrigidimento della parete. A queste si aggiungono alterazioni metaboliche che conducono all'ispessimento della tonaca intima. La condizione ipossica si riflette sulle cellule endoteliali, le cui giunzioni vengono alterate, favorendo un aumento della permeabilità vascolare. Quest'ultima può portare ad un incremento della filtrazione lipidica attraverso la parete vascolare e ad una sovraregolazione del fattore di crescita vascolare endoteliale nelle cellule muscolari lisce [62] [38]. Le cellule rispondono alle condizioni ipossiche tramite modifiche del metabolismo, angiogenesi, infiammazione e migrazione attraverso le tuniche, oltre alla disfunzione endoteliale e ai fenomeni apoptotici che si osservano nella progressione dell'aterosclerosi. L'ipossia modifica le zone di accumulo dell'LDL nella parete vasale, favorendo la formazione delle *foam cells*, cellule macrofagiche, principalmente, infarcite di lipidi derivati dalla fagocitosi delle molecole di LDL ossidato che si formano a livello delle lesioni aterosclerotiche [63]. Allo stesso, le condizioni ipossiche inducono l'attivazione macrofagica che porta ad una risposta infiammatoria, con il reclutamento di linfociti T e monociti, e alla produzione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) [64]. Quest'ultime, prodotte dai macrofagi, stimolano la proliferazione delle cellule muscolari lisce e il rimodellamento della matrice extracellulare. Ciò contribuisce allo stress ossidativo nella genesi della placca, contribuendo alla disfunzione endoteliale e all'avanzamento della placca stessa.

Infine, l'ipossia promuove l'angiogenesi all'interno delle lesioni aterosclerotiche, come tentativo di recupero dell'ossigenazione tissutale e dei livelli di ATP (la cui deplezione, in combinazione con stress endoplasmatici e l'accumulo di colesterolo, gioca un ruolo chiave nella morte macrofagica e nella formazione di un nucleo necrotico). I vasi angiogenici nelle lesioni umane sono indotti dalla produzione del *Vascular Endothelial Growth Factor*, o VEGF. Il VEGF esercita la sua azione legandosi a recettori specifici, come il VEGFR – 2 o il KDR (quest'ultimo relativo alle cellule endoteliali [65]), dando luogo a reazioni chimiche a cascata che determinano la formazione dei vasi sanguigni: aumento della permeabilità endoteliale, con formazione di gap interendoteliali; rilascio di proteasi e metallo-proteinasi (MPPs), enzimi proteolitici che degradano le componenti della matrice extracellulare e della membrana basale circostanti le cellule endoteliali; migrazione delle cellule endoteliali nei tessuti circostanti e proliferazione delle stesse.

In corrispondenza delle lesioni aterosclerotiche, il rilascio eccessivo di questi fattori provoca un'angiogenesi maladattativa: la massiccia vascularizzazione che ne consegue peggiora l'ischemia del tessuto vascolare, con ulteriore riduzione di supporto d'ossigeno e sviluppo di lesioni aterosclerotiche più instabili [64].

1.8 Obiettivi tesi

L'obiettivo della presente tesi di ricerca consiste nel modellare il flusso sanguigno attraverso l'anastomosi cerebrale, con lo scopo di valutare i parametri fluidodinamici e di trasporto di massa delle molecole biochimiche, quali indicatori di possibili condizioni potenzialmente pericolose per l'insorgenza di ictus. La valutazione viene svolta su un modello tridimensionale paziente-specifico e su un modello derivato, in modo da poter valutare in che misura le varianti anatomiche del circolo di Willis siano in grado di influenzare i parametri suddetti; i dati emodinamici, forniti dalla simulazione numerica CFD, vengono successivamente confrontati con i risultati forniti dai modelli matematici monodimensionali, derivati dalla geometria paziente-specifica. Tramite questa ricerca, si vuole fornire uno strumento diagnostico che sia capace di prevedere eventuali situazioni di pericolo per l'insorgenza di ictus, con uno sguardo particolare alle persone affette da diabete mellito di tipo 2, più a rischio di incidenti vascolari rispetto ai soggetti normali. Unitamente alle potenzialità di previsione, l'obiettivo è anche di fornire un mezzo per la pianificazione dell'intervento e/o il follow-up del trattamento delle principali malattie cardiovascolari che interessano il distretto arterioso studiato, quali l'aneurisma cerebrale e l'aterosclerosi intracranica. In modo particolare, sono stati tenuti in considerazione i seguenti obiettivi:

- Ricostruzione di una geometria reale del circolo arterioso cerebrale, a partire da immagini diagnostiche;
- Realizzazione di un modello matematico monodimensionale a partire dalle caratteristiche geometriche del circolo arterioso cerebrale reale;
- Studio delle grandezze fluidodinamiche nell'individuazione delle zone più a rischio di insorgenza di patologie cardiovascolari, come aneurismi e lesioni aterosclerotiche, e confronto con i dati e i risultati disponibili dalla letteratura e dai modelli matematici;
- Confronto della fluidodinamica tra due varianti anatomiche, in modo da poter valutare gli effetti introdotti dalla presenza di arterie ipoplastiche, tramite le grandezze derivate;
- Simulazione del trasporto di massa delle lipoproteine a bassa densità (*LDL*) e dell'ossigeno O_2 , e correlazione del loro accumulo in specifiche regioni del circolo con determinate caratteristiche del flusso, in modo da poter evidenziare le zone soggette ad atherosclerosi;
- Valutazione del trasporto di massa del glucosio, per evidenziare gli effetti introdotti dalla condizione diabetica che possono concorrere all'insorgenza di ictus.

La possibilità di prevedere la formazione di placche aterosclerotiche e di aneurismi cerebrali, nelle diverse varianti anatomiche esistenti nel circolo cerebrale di Willis, e l'analisi quantitativa della distribuzione del flusso sanguigno cerebrale, consentirebbero al medico curante di adottare le migliori strategie per il trattamento di pazienti potenzialmente a rischio, compresi quelli diabetici, in costante aumento a seguito di cattivi stili di vita, e maggiormente esposti al rischio cardiovascolare.

Non vedremo i modelli bidimensionali.

In passato, non essendoci computer così potenti, si facevano dei modelli matematici semplificati monodimensionali.

Modello tridimensionale

La complessità del sistema vascolare necessita l'impostazione di modelli matematici e numerici; d'altra parte l'emondinamica computazionale si basa su differenti classi di modelli, che tengono in considerazione differenti livelli di dettaglio nella dipendenza spaziale. I modelli tridimensionali si basano sulle equazioni di Navier-Stokes incomprimibili, accoppiate generalmente a modelli specifici, che descrivono sia la viscosità del sangue che la deformazione meccanica del tessuto vascolare. Questi modelli consentono di riprodurre la natura tridimensionale del problema emodinamico, attraverso modelli vicini alla realtà e di studiare gli effetti della geometria vascolare sul flusso sanguigno, oltre al possibile impatto fisiopatologico dell'emondinamica sull'albero arterioso. Allo stesso tempo, la maggiore risoluzione delle simulazioni tridimensionali fornisce un'analisi approfondita delle dinamiche, sia globali che locali, dei pattern del flusso, consentendo di quantificare le grandezze fluidodinamiche, come il Wall Shear Stress (WSS); questi possono essere utilizzati anche per la simulazione della diffusione-convezione dei farmaci iniettati, sostituendo il ricorso agli angiogrammi con colorante. Gli alti costi computazionali, tuttavia, restringono il loro uso a distretti vascolari contigui solo su una scala spaziale di pochi centimetri o, al massimo, di frazioni di metro [67]. È bene comunque ricordare che le proprietà fisiche e meccaniche proprie del sistema circolatorio dipendono dal distretto vascolare oggetto di studio: nel caso di arterie di medio calibro, come le arterie cerebrali intracraniche, gli aspetti legati all'interazione biochimica fluido-parete non vengono considerati, dato che il moto del sangue è caratterizzato da aspetti biomeccanici, legati all'interazione fluido-struttura con la parete vascolare.

4.4 Creazione geometria

4.4.1 Magnetic Resonance Angiography

L'Angiografia a Risonanza Magnetica (*Magnetic Resonance Angiography, MRA*) è una tecnica ampiamente accettata per la diagnostica delle patologie vascolari come arteriosclerosi, vasculiti, stenosi, dissezione, fistole, e aneurismi (Figura 4.3).

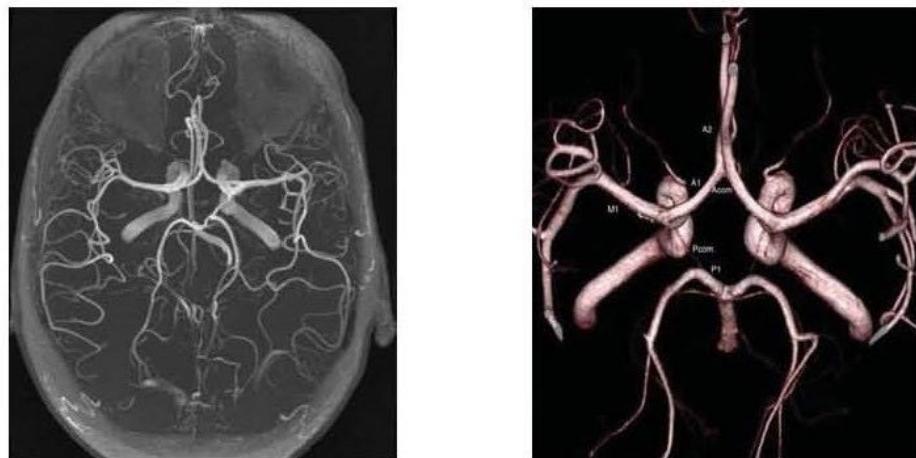


Figura 4.3: Immagini da Angiografia a Risonanza Magnetica (MRA), da cui si può isolare e ricostruire la geometria 3D.

Come la Risonanza Magnetica (MR), anche nella MRA si ricorre alle proprietà di risonanza magnetica nucleare per creare immagini. Caratteristica fondamentale della MR è quella di impiegare radiazioni elettromagnetiche a basso contenuto energetico. Queste creano un campo magnetico e fanno sì che il nucleo di un atomo, con un numero dispari di protoni e/o neutroni, si allinei in senso parallelo o antiparallelo alla direzione delle linee di forza del campo stesso, e ruoti intorno al proprio asse ad una frequenza specifica (*frequenza di Larmor*). Fornendo energia sotto forma di onde radio, sintonizzate sulla frequenza di Larmor, il nucleo l'assorbe ponendosi però in uno stato instabile. Dopo che l'impulso RF è cessato, il nucleo ritorna alla condizione iniziale, emettendo un'onda radio che può essere captata e analizzata dall'apparecchio.

I nuclei si possono differenziare in differenti ambienti elettronici, perché gli elettroni che circondano il nucleo lo proteggono dal campo magnetico esterno: questo fa sì che l'effettivo campo magnetico sia più debole del campo magnetico applicato, abbassando la differenza in energia tra le configurazioni parallela e antiparallela [108]. A seguito di questa differenza energetica, il nucleo risuona a frequenza minore, e questa variabile permette la differenziazione dei nuclei (questo fenomeno di variazione della frequenza prende il nome di *chemical shift*).

Essendo il corpo umano costituito principalmente da acqua, la Risonanza Magnetica fornisce immagini della magnetizzazione nucleare degli atomi di idrogeno. Gli atomi di idrogeno all'interno dei diversi tessuti come sangue, muscoli, o ossa, risuonano a frequenze leggermente diverse, in base alla posizione del magnete, e sono esposti a differenti campi magnetici. Sfruttando il fatto che diversi tessuti nel corpo umano sono sottoposti a forze magnetiche leggermente differenti, si vengono a generare differenti segnali che possono essere *mappati* e trasformati in *immagini MR*. In particolare, al termine dell'impulso RF, i nuclei ritornano spontaneamente all'equilibrio termico e si allineano con il campo magnetico, così come erano prima che venissero bombardati con l'impulso a radiofrequenza. Il segnale elettromagnetico a radiofrequenza emesso dai nuclei del nostro corpo può essere così rilevato dall'apparecchio, e utilizzato per la ricostruzione dell'immagine.

Un'immagine a risonanza magnetica ha, in generale, una risoluzione spaziale media ma è possibile ottenere una buona discriminazione dei tessuti elevati, con la possibilità per l'operatore di poter analizzare in tempo reale le diverse caratteristiche dei diversi tessuti. Agenti di contrasto e traccianti paramagnetici possono essere utilizzati per migliorare l'immagine MR, migliorando ad esempio il contrasto e la misura di funzioni aggiuntive. Le tecniche di MRA si dividono in base all'utilizzo o meno di mezzi di contrasto intravenoso, capaci di fornire o meno immagini ad alta qualità dei diversi vasi sanguigni.

La CE-MRA (*Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Angiography*) è una tecnica più accurata rispetto alla MRA senza contrasto, più robusta e riproducibile in poco tempo. In genere si fa uso di chelato di gadolinio, capace di ridurre il tempo di rilassamento T_1 del sangue rispetto ai tessuti circostanti, rendendone il segnale di intensità maggiore; tuttavia, essendo il segnale del sangue nella CE-MRA basato sul segnale T_1 intrinseco e non sugli effetti di flusso, questa tecnica è meno sensibile al flusso sanguigno. Tra le tecniche di MRA senza mezzo di contrasto (*Non Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Angiography*, NCE-MRA), le principali sono la TOF-MRA (*Time-of-flight magnetic resonance angiography*) e la PC-MRA (*Phase contrast magnetic resonance angiography*). Entrambe le modalità richiedono tempi di acquisizione maggiori delle tecniche con mezzo di contrasto, ma offrono diversi vantaggi, tra cui minori rischi per il paziente e bassi costi.

La TOF-MRA dipende dal flusso e dal movimento dei protoni nel sangue attraverso il piano dell'immagine. Questa tecnica è spesso usata per ricavare immagini angiografiche 2D e 3D nello studio delle maggiori arterie intracraniche, dato che le sezioni prodotte possono essere più fini, e i tempi di eco minimizzano il "phase shift" responsabile della perdita di segnale [109]; presenta però problemi in caso di vuoti di flusso o di regioni a bassa intensità di segnale intravascolare. Un altro problema con la TOF-MRA è rappresentato dai tempi di imaging (da minuti a ore, a seconda della distanza coperta e della cooperazione del paziente), a causa di necessari impulsi di saturazione per l'orientazione della fetta di imaging perpendicolare al flusso sanguigno stesso. Ciò nonostante, la TOF-MRA può essere eseguita utilizzando tecniche bi- e tri-dimensionali, ed è usata come componente essenziale dell'imaging neurovascolare, essendo sensibile al flusso ed eseguibile con alta risoluzione.

La PC-MRA, rispetto alla TOF-MRA, sfrutta anche il movimento del sangue, sebbene non sia limitata dai vuoti di flusso planari che affliggono la TOF-MRA. La PCA-MRA comporta l'uso di un gradiente di codifica del flusso bipolare, ovvero un gradiente del campo magnetico che inverte le direzioni nel punto medio. Questo gradiente bipolare induce uno spostamento di fase dipendente dalla velocità nei sistemi in movimento, ma nessun spostamento di fase in quelli stazionari. La PC-MRA è generalmente insensibile a flussi lenti, ma riesce a catturare i flussi lenti in corrispondenza dei siti di occlusione. Questa tecnica è particolarmente utile quando si vogliono avere informazioni sulla direzione e sulla velocità del flusso, ed è indicabile per la visualizzazione del flusso sanguigno collaterale [109].

Rappresentazione e gestione delle immagini

Le immagini 3D vengono acquisite, tramite diverse tecniche di imaging, sotto forma di immagini 2D impilate. Queste vengono memorizzate su workstation collegate agli scanner della macchina e trasferite ai calcolatori per l'elaborazione. Questa elaborazione deve essere, in particolare, eseguita senza perdita di informazioni: infatti, il numero di livelli di grigio, che rappresentano le immagini mediche, è maggiore di 256 - formati di immagine a 8 bit -, per cui non si ricorre a un'estensione di immagine classica, come TIFF o PNG. Per l'adeguata gestione, memorizzazione e comunicazione di dati in ambito medico, sono stati introdotti diversi formati di file immagine, dove il formato del file fornisce la descrizione su come i dati ottenuti dall'imaging sono organizzati nei file e come i dati devono essere interpretati dai software per un corretto caricamento e un'adeguata visualizzazione [110]. Un esempio di formato file per la gestione dei dati diagnostici è rappresentato dai file DICOM (*Digital Imaging and COmunication in Medicine Standard*). DICOM è un esempio di standard per lo scambio di immagini mediche in formato digitale, progettato per garantire l'interoperabilità tra i sistemi e utilizzato per produrre, memorizzare, visualizzare, elaborare, trasmettere, stampare le immagini mediche e i documenti strutturati, nonché per gestire il flusso di lavoro correlato [111].

Nell'ambito della *neuroimaging* (ovvero della diagnostica per immagini relativa alla regione encefalica) si può fare ricorso a formati diversi dal DICOM, e tra questi vi è il file format *Nifti*. Come i file DICOM, anche i file Nifti - con estensione *.nii* - memorizzano le immagini mediche in un singolo file, contenente sia le immagini mediche stesse che i *metadata*, ossia tutte le informazioni che descrivono l'immagine e che costituiscono l'header, o intestazione, del file: qui sono contenute informazioni testuali che specificano il tipo di contenuto (attributi di identificazione del paziente, dati sul tipo di esame, eccetera) e altre informazioni amministrative. Il vantaggio del formato Nifti consiste nella memorizzazione dell'orientamento spaziale dell'immagine, al fine di evitare l'ambiguità destra-sinistra nello studio dell'encefalo. Attualmente il formato Nifti si è affermato come principale formato per la memorizzazione dei dati di neuroimaging, diventando il formato di default di diversi software open-source usati per il post-processamento delle imaging, come 3D Slicer [113] e OsiriX.

4.4.2 Ricostruzione del circolo cerebrale

Nella ricostruzione del circolo cerebrale si è fatto ricorso ad immagini ottenute da angiografia a risonanza magnetica, provenienti da un dataset pubblico [112], dove sono disponibili diverse immagini TOF-MRA di soggetti sani, di diverso sesso ed età (Figura 4.4). L'immagine è relativa ad una configurazione anatomica di tipo *transitorio*, in cui le arterie comunicanti posteriori (PCoA) presentano un calibro simile al tratto prossimale P1 delle arterie cerebrali posteriori (PCA) [32] (vedi paragrafo 1.2.1 a pagina 11).

Per la ricostruzione del modello da utilizzare per la simulazione si è utilizzato il software open-source *VMTK* (*Vascular Modeling ToolKit*, www.vmtk.org), che consente, a partire da immagini biomediche, la ricostruzione in 3D di vasi sanguigni, l'analisi geometrica e la generazione delle griglie di calcolo. Questo software è stato realizzato da Luca Antiga (Unità di Medical Imaging, Dipartimento di Bioingegneria, Istituto Mario Negri) e David Steinman (Biomedical Simulation Laboratory, Mechanical and Industrial Engineering, University of Toronto, Canada), combinando altre librerie open-source: *ITK* (*Insight segmentation and registration Toolkit*, www.itk.org), *VTK* (*Visualization Toolkit*, www.vtk.org) e *Tetgen* (*Quality Tetrahedral Mesh Generator*, tetgen.berlios.de). Questo software open-source, al pari dei suoi omologhi, trova uso nella ricostruzione dei maggiori vasi sanguigni e consente la simulazione numerica del flusso sanguigno. La totalità delle librerie a disposizione di VMTK ha un'interfaccia sviluppata in linguaggio *Python*, tramite cui si può accedere ai diversi tool forniti dal programma.

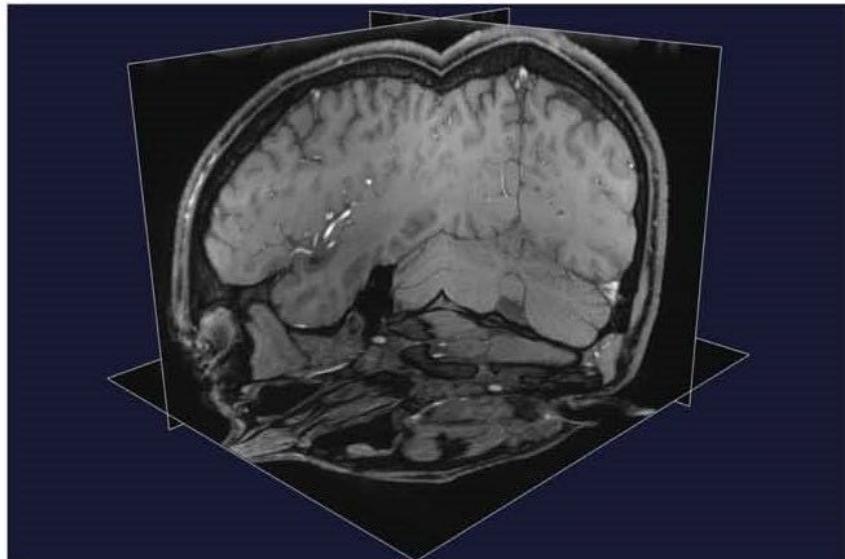


Figura 4.4: Angiografia a risonanza magnetica (MRA) della scatola cranica. L'immagine si presenta come una "nuvola" di dati, definiti come $I(x)$, dove $x \in \mathbb{R}^2$ sono le coordinate spaziali nel piano dell'immagine, e il valore I associato alla coordinata x rappresenta il livello di grigio dell'immagine in quel punto. In particolare, le zone più chiare rappresentano i vasi cerebrali.

Tra questi, uno consente il processamento dell'immagine Nifti, e la realizzazione della geometria 3D del circolo cerebrale. Per realizzare una ricostruzione delle arterie cerebrali a partire dalle immagini di angiografia a risonanza magnetica (MRA), è stata effettuata una segmentazione utilizzando il metodo dei *level sets*. La segmentazione permette di estrarre dall'immagine una superficie corrispondente ad una struttura anatomica: si tratta di un aspetto chiave per l'emodinamica computazionale, perché la geometria locale ha una grande influenza sulle variabili fluidodinamiche. L'approccio alla segmentazione adottato è basato sui modelli deformabili impliciti, che hanno la proprietà di essere flessibili in accordo alla topologia dell'oggetto che deve essere segmentato. I level sets sono modelli deformabili nei quali la superficie descrive una funzione 3D il cui contorno, a livello zero, è la superficie stessa. Questo metodo si basa sull'assunzione che il confine tra due differenti tipi di tessuto è localizzato nei punti di massimo cambiamento di intensità, $I(x)$, fra pixel vicini dell'immagine (ovvero dove $\nabla I(x)$ è massimo). La superficie evolverà fino a convergere in questi punti. Il metodo basato sui level sets presenta numerosi vantaggi rispetto ad un metodo in cui la superficie selezionata dipende dall'intensità assoluta: in quest'ultimo caso, infatti, variazioni minime nella definizione della soglia portano a relativamente grandi spostamenti della posizione del contorno luminale risultante, visto che, all'interfaccia tra due diversi tessuti, l'intensità o livello di grigio dell'immagine $I(x)$ varia velocemente. La ricerca della posizione x corrispondente ai picchi del gradiente dell'intensità dell'immagine $\nabla I(x)$, su cui si basano i level sets, è un criterio definito univocamente, anche se le difficoltà consistono nell'individuare, fra tutti i picchi caratteristici presenti nell'immagine, quelli corrispondenti al contorno luminale. In tal senso, è importante assicurare una corretta inizializzazione al modello deformabile, così da posizionare i level sets in prossimità della cresta relativa al bordo del lume. Tale approccio alla segmentazione permette inoltre di estrarre il contorno anche in tessuti con bordi particolarmente intricati, ed è un metodo efficiente sia per immagini bidimensionali che tridimensionali. Diverse sono le tecniche adottabili per l'inizializzazione del modello deformabile. In questa ricerca sono state usate le tecniche denominate *Colliding Fronts* e *Fast Marching*. La prima consiste nel posizionamento di due semi (ovvero dei nodi di propagazione) dei level set sull'immagine, come quelli presentati in Figura 4.5.

Da questi semi si propagano due fronti contrapposti, con una velocità di propagazione proporzionale al livello di grigio $I(x)$: la regione dove i due fronti si intersecano costituisce il modello deformabile. Questa tipologia di inizializzazione è molto utile per la creazione iniziale dei tratti vasali, permettendo di selezionare rapidamente contorni luminali di diversi vasi. Nell'inizializzazione dei rami collaterali, e per ridefinire i modelli deformabili precedentemente creati, si fa ricorso alla tecnica Fast Marching. Si tratta di un metodo numerico per risolvere l'equazione iconale $F(x) |\nabla T(x) = 1|$, che descrive l'evoluzione di una superficie chiusa come funzione del tempo T con velocità $F(x)$ nella direzione normale al punto x della curva. Consente di inizializzare una piccola sfera all'interno della regione di interesse, lasciandola espandersi finché non raggiunge il contorno desiderato. La velocità di espansione della sfera stessa dipende dall'immagine stessa: quando la superficie passa in regioni dove il gradiente di intensità fra un pixel e il pixel adiacente è piccolo, essa si espande velocemente; quando la superficie passa in regioni dove il gradiente è grande, ci troviamo probabilmente su un bordo, e quindi essa si espanderà più lentamente. Tra i vari strumenti utilizzati nella ricostruzione delle arterie cerebrali si trovano:

- *Vmtklevelsetsegmentation*: utilizzato per la segmentazione delle varie immagini e ricostruire un volume ben definito. In input viene ricevuto il file contenente l'immagine da ricostruire, e in output fornisce un file di salvataggio del modello geometrico ricostruito. Con questo strumento si posizionano i semi dei level set, con i relativi target per l'espansione del fronte del modello deformabile iniziale (Figura 4.5). È possibile anche la segmentazione di nuove porzioni di immagine partendo da level set già segmentati in precedenza. Questo script consente di procedere iterativamente su piccole porzioni dell'immagine, nel caso di aree difficili da segmentare, a causa di vasi vicini tra loro, o di artefatti nell'immagine.

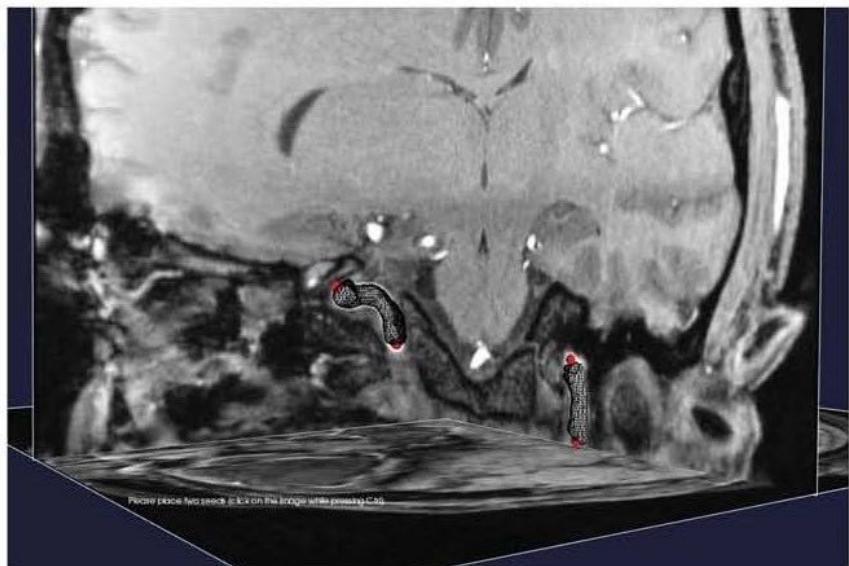


Figura 4.5: Procedura di segmentazione. Cambiando opportunamente i livelli di grigi è possibile rilevare i bordi e le strutture anatomiche di interesse, in questo caso le arterie carotidi interne (*VMTK*).

- *Vmtksurfacesmoothing*: opera un filtraggio per rendere la superficie del modello geometrico più regolare. La procedura di segmentazione può causare superfici irregolari, specialmente se la qualità dell'immagine non è elevata e non si è utilizzato alcun termine di curvatura nell'evoluzione degli insiemi di livelli. L'operazione di filtraggio per rendere la superficie più liscia prima della creazione della mesh è importante, in quanto le deformità artificiali che si vengono a creare sulle superfici del modello possono creare disturbi artificiali del flusso e influenzare la distribuzione dei parametri fluidodinamici.

Lo smoothing della superficie viene controllato attraverso due parametri: *passband*, che rappresenta la frequenza di taglio del filtro passa-basso, e *iterations*, che costituisce il numero di passaggi di "smoothing". In questi passaggi occorre prestare attenzione a non eliminare le caratteristiche della superficie applicando un filtro troppo selettivo. Inoltre, bisogna far attenzione all'apice delle biforcazioni, poiché la loro curvatura, diminuendo eccessivamente, potrebbe originare un apice poco profondo, e alterare la simulazione emodinamica.

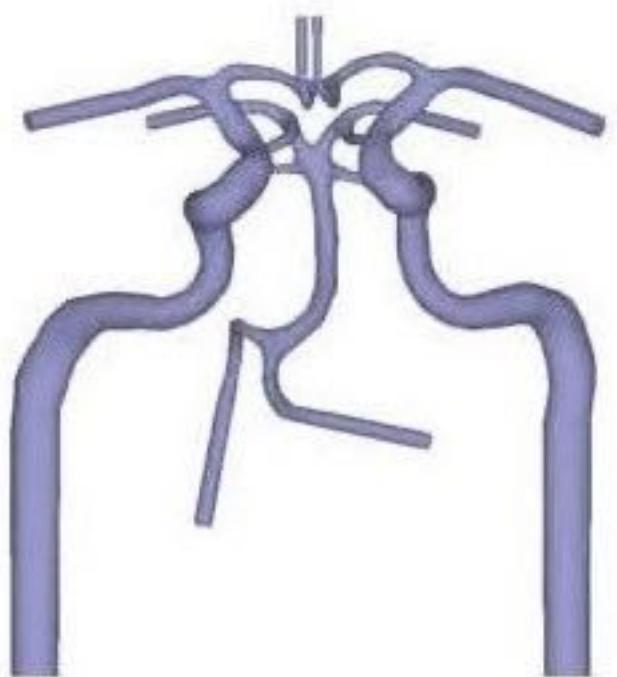
- *Vmtksurfaceclipper*: usato per rimuovere gli elementi indesiderati o gli artefatti presenti nell'immagine di partenza. Dato che la superficie è stata generata utilizzando un modello deformabile, è probabile che questa risulti chiusa, con un aspetto sdruciolato, agli ingressi e alle uscite. Per tale motivo, questi possono essere "riaperti" tagliando le parti rastremate dei vasi.

Modellazione tramite Solidworks

Una volta ricostruita la geometria del circolo cerebrale tramite il software VMTK, questa viene esportata in formato *.stl* con lo script *vmtksurfacewriter*. Successivamente la superficie viene importata nel software *Solidworks 2016*. Questo è un software CAD, prodotto e commercializzato dalla Dassault Systèmes, che consente la creazione di modelli bidimensionali e tridimensionali tramite un sistema geometrico di tipo parametrico e completamente personalizzabile. A differenza di altri strumenti CAD, Solidworks si dimostra un programma intuitivo, che si rende facilmente comprensibile anche gli utenti meno esperti. Si dimostra uno strumento utile perché consente di importare e esportare le geometrie processate in diversi formati di file, creati anche da altri programmi di progettazione meccanica, consentendone l'utilizzo in altri software di progettazione e modellazione meccanica.

Una volta importata la superficie in Solidworks, qui viene convertita in un modello solido da usare successivamente nella creazione della mesh. Tramite il toolbox *Scan to 3D*, la nuvola di dati importata da VMTK viene processata correggendo le difformità e gli errori accidentalmente introdotti durante la fase di segmentazione. Una volta terminata questa fase, tramite la modalità *Creazione guidata superficie*, dalla mesh così ottenuta viene creata una superficie tridimensionale, successivamente convertita in una geometria solida. A questa geometria vengono infine aggiunte le estensioni al dominio fluido agli ingressi e alle uscite usando loft cilindrici di lunghezza pari a 5 diametri idraulici. Le estensioni di flusso sono indispensabili per garantire un flusso completamente sviluppato in ingresso e all'uscita del dominio computazionale, facendo sì che le condizioni al contorno non forzino la soluzione reale. Nonostante tramite VMTK sia possibile aggiungere automaticamente le estensioni al flusso - tramite il modulo *Vmtkflowextensions* -, la complessa geometria vasale non permette di avere pieno controllo sulla realizzazione delle estensioni, con il rischio che la procedura automatica dello script *Vmtkflowextensions* possa introdurre distorsioni geometriche nelle estensioni, con l'annesso rischio di incrocio fra di loro. In Figura (4.6) viene mostrato il risultato della modellazione, con una geometria il più possibile vicina a quella reale.

Figura 4.6: Risultato delle ricostruzioni al flusso trasmesso
SolidWorks.



4.4.3 Creazione griglia

Per la realizzazione della griglia di calcolo si è fatto ricorso al software *Ansys 16.0 Workbench Meshing*, presente nel pacchetto fornito da Ansys. Tale pacchetto consente di realizzare griglie di calcolo diverse in base alle diverse fisiche oggetto di studio e per diversi solutori, tra cui *Fluent Workbench Meshing* permette:

- la generazione guidata di "mesh" combinando elementi tetracdrali e esacdrali secondo diversi metodi e algoritmi;
- la creazione di griglie specifiche a parete per la risoluzione dello strato limite;
- la modifica locale della griglia e la possibilità di infittimenti locali.

In base agli obiettivi della tesi e alle grandezze oggetto di studio - ovvero le grandezze vicino alla parete - si fa ricorso ad una griglia non strutturata. Le dimensioni degli elementi della griglia, la loro disposizione e topologia costituiscono un ottimo compromesso tra precisione della soluzione, convergenza e la velocità dell'algoritmo risolutivo. La griglia è stata realizzata in modo tale da avere vicino alla parete un maggiore infittimento, mentre al centro dei diversi vasi la griglia risulta più lasca, costituita da elementi tetracdrali. Per garantire un aumento graduale della griglia dalla parete del vaso verso la parete si è introdotto uno "strato limite" di transizione tra lume e parete, costituito da piccoli elementi esaedrali, in modo da poter cogliere le più piccole variazioni vicino allo strato limite fluidodinamico (Figura 4.11) [107].

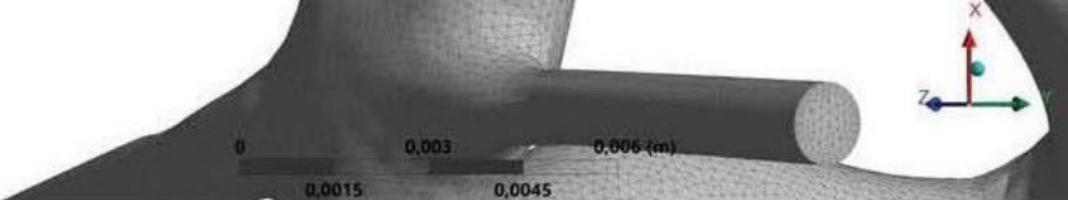
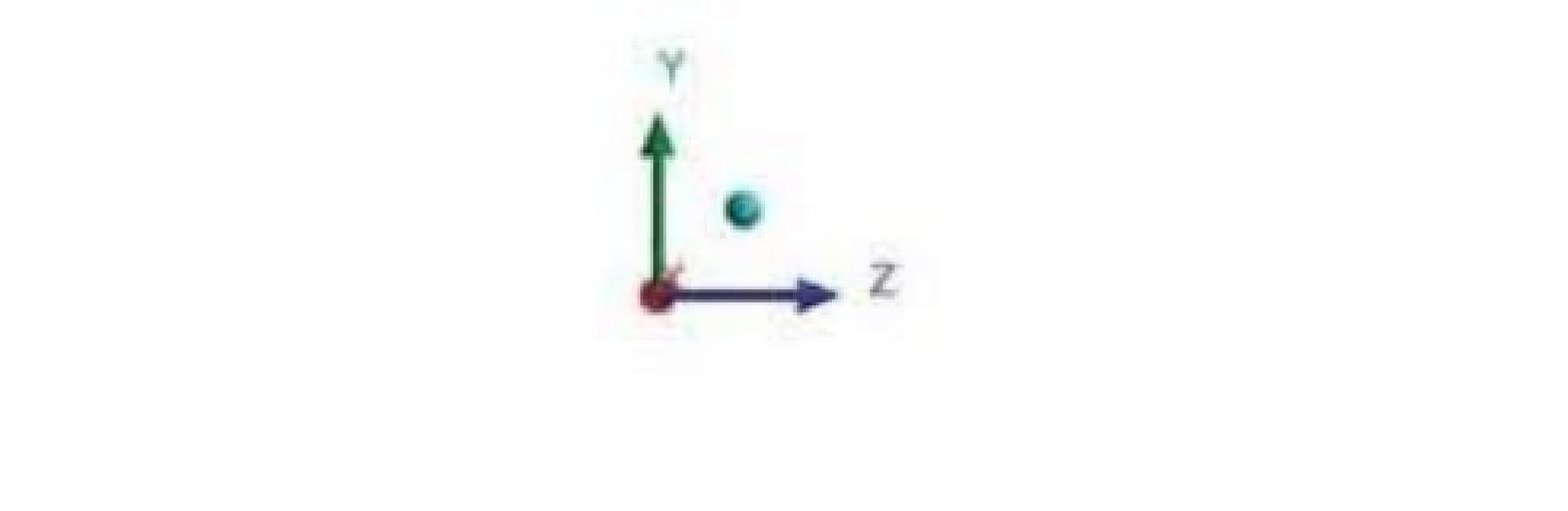


Figura 4.11: Panoramica della griglia di calcolo (in alto), e particolare della griglia del circolo cerebrale (in basso). È possibile notare la presenza dello "strato limite" in corrispondenza delle uscite.

Indipendenza griglia

Per le geometrie sono state realizzate tre diverse griglie di calcolo, come mostrato in Figura 4.12. Queste presentano un numero crescente di celle, rispettivamente 10^6 , $2 \cdot 10^6$, e $4 \cdot 10^6$. Le simulazioni vengono eseguite sulle 3 griglie di calcolo in modo da poter scegliere quella più adatta. Dopo aver ottenuti i dati dalle simulazioni, sono stati confrontati i valori mediati sul perimetro di sezioni specifiche del *Wall Shear Stress* (WSS). Sono quindi state estratte 26 sezioni lungo la linea d'asse dell'arteria carotide interna destra, in corrispondenza delle regioni di curvatura del vaso, e 10 sezioni in corrispondenza del punto di biforcazione tra la carotide interna destra e la cerebrale media destra. Nelle figure successive sono mostrati i valori mediati sul perimetro del *Wall Shear Stress*, riordinati in base all'indice indicativo della sezione (Figure 4.13a e 4.13b). Si può facilmente notare che, per entrambe le geometrie, il WSS presenta il medesimo andamento per tutte e tre le griglie.



(c) griglia fitta

Figura 4.12: Sezione di ingresso della carotide sinistra nelle tre griglie di calcolo: con 10^6 (a), $2 \cdot 10^6$ (b) e $4 \cdot 10^6$ (c) elementi.

Per avere una valutazione oggettiva si è calcolato l'errore medio percentuale $e_{medio}\%$, così definito:

$$e_{medio}\% = \frac{|WSS_i(k) - WSS_j(k)|}{|WSS_i|} \cdot 100 \quad (4.15)$$

L'indice i nelle formule precedenti si riferisce alla griglia più fitta (con $4 \cdot 10^6$ elementi), l'indice j le restanti due griglie. L'indice k si riferisce infine alla sezione generica e vale $k = 1, \dots, 26$. Si ricava infine l'errore massimo $e_{max}\%$, calcolato sempre rispetto alla griglia fitta, ritenuta quella che approssima con precisione maggiore la soluzione reale. Questo viene definito come:

$$e_{max}\% = \max(e_{medio}\%) \quad (4.16)$$

I risultati ottenuti riguardo gli errori sono riassunti nelle tabelle 4.1 e 4.2.

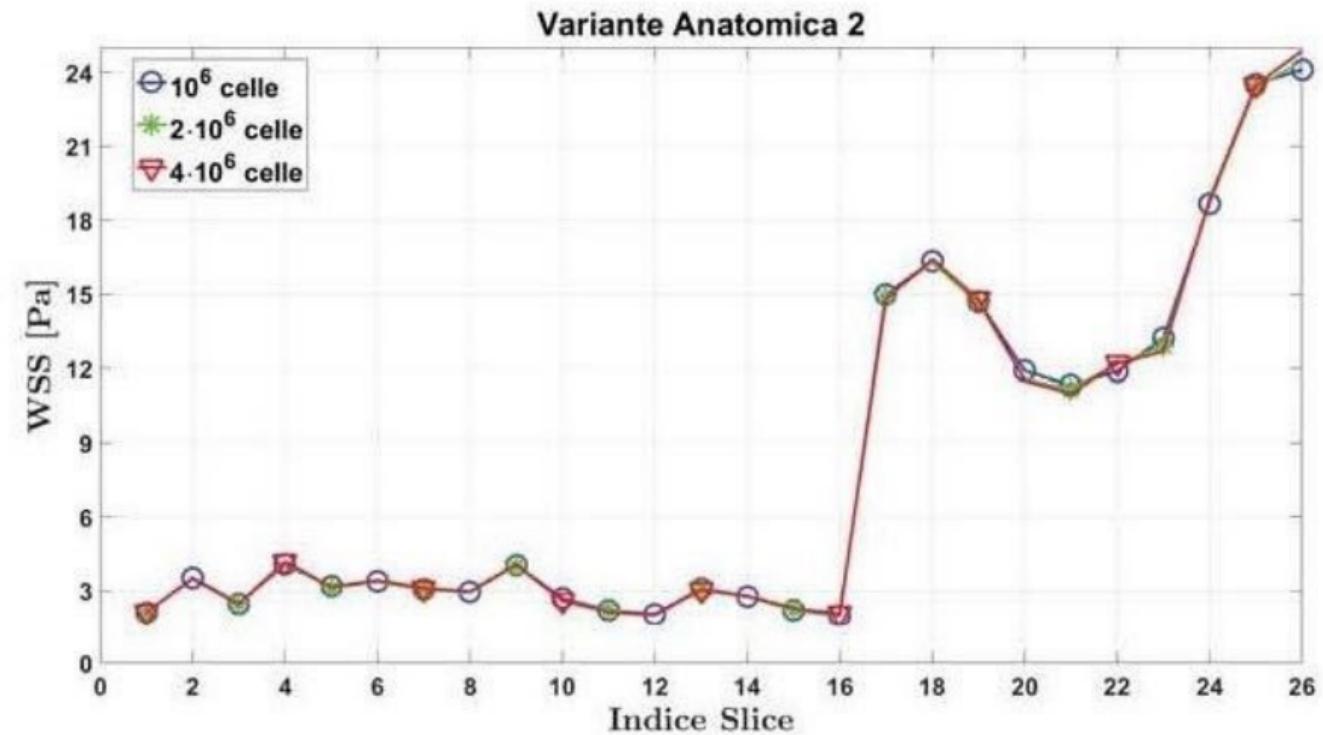
Come prevedibile, l'errore aumenta al diminuire del numero degli elementi. Al termine di questa procedura nello studio dell'indipendenza spaziale dei risultati, si è deciso di ricorrere alla griglia con $2 \cdot 10^6$ elementi, in quanto compromesso tra costo computazionale e accuratezza dei dati.

Variante anatomica 1	Fitta-media	Fitta-Lasca
$e_{medio}\%$	1.29	1.59
$e_{max}\%$	4.07	4.15

Tabella 4.1: Errore nella variante anatomica di tipo transitorio.

Variante anatomica 2	Fitta-media	Fitta-Lasca
$e_{medio}\%$	1.65	1.88
$e_{max}\%$	2.86	4.31

Tabella 4.2: Errore nella variante anatomica di tipo fetale con ACA ipoplastica.



(b) indipendenza griglia variante fetale con ACA ipoplastica.

Figura 4.13: Procedura di indipendenza della griglia per le due geometrie.

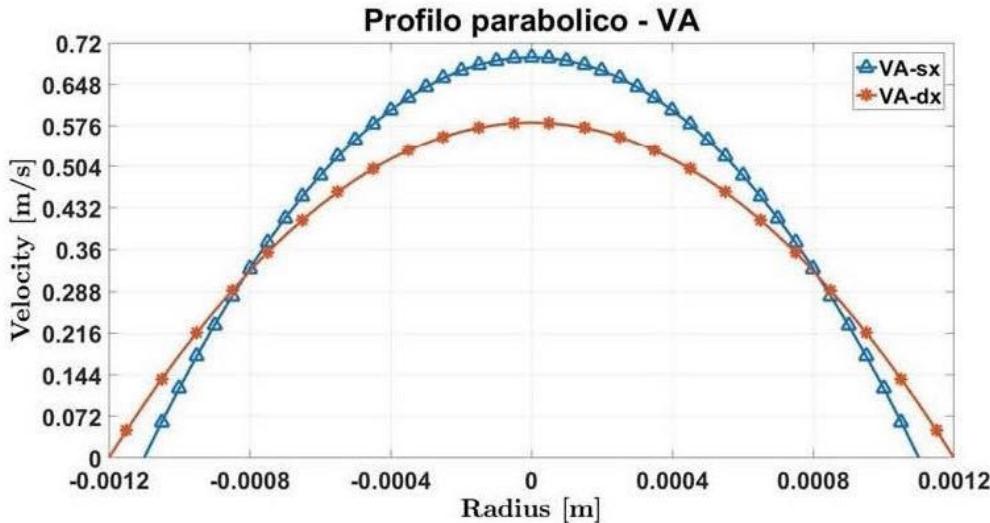
Risultati simulazione numerica CFD

Vediamo solo i risultati per le simulazioni in regime stazionario.

In questa sezione si va ad analizzare, per le simulazioni CFD in regime stazionario e per quelle in regime transitorio, le ipotesi semplificative, le condizioni al contorno e le impostazioni del solutore. Vengono quindi introdotte grandezze derivate, note in letteratura, successivamente analizzati e confrontati i risultati ottenuti. Si è fatto ricorso ad un modello a pareti rigide, dato che trascurando la deformazione della parete si riescono ad ottenere risultati soddisfacenti, come quelli ricavati in [76]. Il flusso è considerato laminare, data la bassa velocità del flusso sanguigno attraverso l'intero circolo anastomico (Re medio 265). Il sangue è stato modellato come un fluido non-Newtoniano il cui comportamento viene descritto dal modello proposto da Casson [103]; l'equazione della viscosità è stata introdotta nel software *Fluent* tramite una UDF (vedi App.C). Le equazioni di Navier-Stokes sono risolte con la condizione di aderenza alla parete delle arterie di ingresso con una velocità prescritta (costante o con forma d'onda fisiologica) e imponendo all'uscita delle arterie efferenti una pressione statica costante pari a 50 mmHg , che corrisponde ad un valore fisiologico di pressione di perfusione cerebrale. L'equazione (4.14) è stata risolta con una frazione in massa prescritta in ingresso: $\phi_0 = 0.002125$ per l' O_2 [116] [117], $\phi_0 = 0.0011$ per l'LDL [118], e $\phi_0 = 0.002$ per la frazione massica di glucosio in condizioni diabetiche [3]. Alla parete, invece, è stata assegnata la condizione di flusso nullo. Le simulazioni vengono eseguite tramite il software commerciale *Fluent*, che risolve le equazioni fluidodinamiche attraverso il metodo dei volumi finiti. Nella risoluzione dell'accoppiamento pressione-velocità si fa ricorso al metodo risolutivo *SIMPLE* [107], e le simulazioni vengono condotte fino al raggiungimento della convergenza. I gradienti sono calcolati secondo il metodo *Least Squares Cell Based* con una precisione del secondo ordine per le variabili spaziali. Per le simulazioni in regime transitorio si fa ricorso ad un metodo implicito del secondo ordine, con una durata di tre cicli cardiaci (2.4 s) e un passo temporale fisso di $8 \cdot 10^{-4}\text{s}$. Vengono registrati solo i risultati dell'ultimo ciclo cardiaco, mentre i primi due vengono usati per inizializzare la soluzione.

5.1 Regime stazionario

Ai quattro ingressi del circolo sono stati prescritti 4 diversi profili parabolici di velocità, cui corrispondono un *flusso laminare* ($Re_{max} = 302$), mostrati in Figura 5.1. I profili di velocità sono stati prescritti tramite una UDF (vedi App.A). Agli ingressi delle due arterie vertebrali è stata imposta una portata media di 78 ml/min [119] [72] [95]. In ingresso alle arterie carotidi interne sinistra e destra è stata assegnata una portata media di 264 ml/min e 266 ml/min , rispettivamente, ricavate dalla media dei diversi valori di portata media riportati in letteratura [96] [97] [80] [98]. Tutti i valori assegnati di portata media sono tali da coincidere con i valori medi di flusso sanguigno cerebrale *CBF* [87].



(b) Profili parabolici prescritti in ingresso alle arterie vertebrali.

Figura 5.1: Profili parabolici prescritti all'ingresso dei vasi afferenti.

5.1.1 Risultati fluidodinamici

La simulazione a regime stazionario è stata condotta fino a che i residui non risultassero inferiori a 10^{-6} . I risultati ottenuti sono stati poi esportati nel formato *.case* e importati in *Tecplot 360* o *Paraview 5.4*, per la loro successiva analisi. In *Tecplot 360* è possibile operare un post-processing sui dati ottenuti e definire nuove variabili. L'attenzione è stata posta sul *Wall Shear Stress* (WSS) e sulle sue grandezze derivate. Questa grandezza è definita come il prodotto tra il gradiente normale di velocità e la viscosità del fluido calcolato alla parete:

$$WSS = 2\mu(\dot{\gamma}) \left[[S] \cdot \hat{n} - (\hat{n}^T \cdot [S] \cdot \hat{n}) \hat{n} \right] \quad (5.1)$$

e in particolare il suo valore assoluto $WSS = \| WSS \|$. L'unità di misura è il *Pascal*, ma spesso in letteratura è usato il *dyne/cm²* (in simboli *dyn/cm²*).

Un altro parametro correlato allo sviluppo delle patologie cardiovascolari è il gradiente spaziale del wall shear stress (*WSGG*), insieme al suo valore assoluto (*Module of Gradient Stress*, *MGS*).

$$WSGG = [\nabla WSS] = \begin{bmatrix} \frac{\partial WSS_x}{\partial x} & \frac{\partial WSS_x}{\partial y} & \frac{\partial WSS_x}{\partial z} \\ \frac{\partial WSS_y}{\partial x} & \frac{\partial WSS_y}{\partial y} & \frac{\partial WSS_y}{\partial z} \\ \frac{\partial WSS_z}{\partial x} & \frac{\partial WSS_z}{\partial y} & \frac{\partial WSS_z}{\partial z} \end{bmatrix} \quad (5.2)$$

$$MGS = \sqrt{[\nabla WSS] : [\nabla WSS]} = \sqrt{\sum_{i,j=1}^3 WSGG_{ij} WSGG_{ij}} \quad (5.3)$$

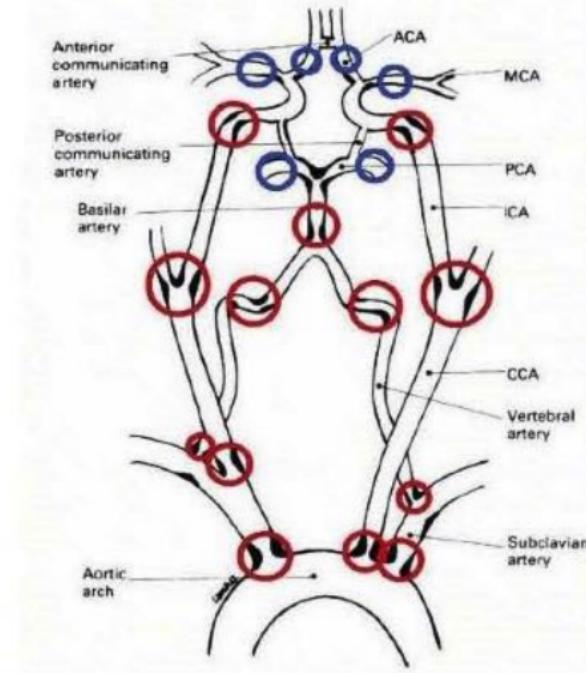
L'unità di misura è il *Pa/m*, anche se spesso in letteratura si fa ricorso al *dyne/cm³*. Infine, un altro parametro considerato è l'*Optical Density* (*OD*), usato per valutare la permeabilità endoteliale. Un'elevata permeabilità endoteliale favorisce il flusso attraverso l'endotelio di macromolecole come le lipoproteine LDL, e questo si associa allo sviluppo dell'aterosclerosi [38]. In diversi modelli animali, per valutare la permeabilità macromolecolare si è fatto ricorso all'uso del colorante blu Evans (EBD). Questo colorante ha una grande affinità per l'albumina, e quindi è un buon marcatore [120]. La somministrazione parentale di EBD provoca la formazione di macchie di colore blu sull'intima superficiale dell'albero arterioso in cui è aumentato il trasporto transvascolare e la permeabilità di altre molecole come globulina, fibrinogeno e lipoproteine. Esiste una relazione tra la quantità accumulata di EBD e la densità ottica, indicativa della permeabilità endoteliale [121]:

$$OD = 2M\alpha \quad (5.4)$$

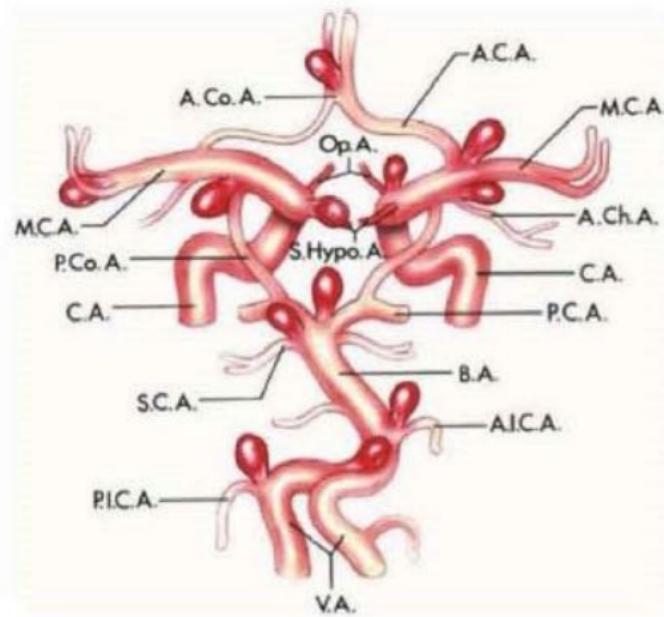
dove *M* è la quantità di colorante accumulato per unità di superficie (*nmol/cm²*) e α è il coefficiente di assorbimento di EBD (*cm²/nmol*). Diversi studi sono stati eseguiti al fine di ottenere una relazione diretta tra il *WSS*, il suo gradiente *MGS* e l'*OD* [120]- [123]. L'*OD* che tiene conto del *WSS* e dell'*MGS* rappresenta un predittore della permeabilità endoteliale, e la relazione è espressa dalla seguente relazione empirica:

$$OD = 1.2 \cdot WSS^{-0.11} \cdot MGS^{0.044} \quad (5.5)$$

I valori fisiologici dell'*OD* misurati sono compresi tra 0.9 e 1.3. Essendo la concentrazione di EBD altamente variabile nelle diverse regioni del circolo sanguigno, l'*OD* può essere utilizzato solo come parametro comparativo.



(a)



(b)

Figura 5.4: (a) localizzazione delle aree di formazione di placche aterosclerotiche nella circolazione arteriosa superiore, comprese le arterie cerebrali [131]; (b) localizzazione degli aneurismi cerebrali sacculari nel circolo di Willis [130].

È solo la variante fetale, si vede dalla parte centrale che è molto più sottile.
Non vediamo la variante adulta.

Seconda variante anatomica - configurazione fetale con ACA ipoplastica

In questa sezione si analizzano i risultati ottenuti per la seconda variante anatomico, derivata modificando l'iniziale geometria del modello paziente-specifico. Come precedentemente illustrato nel paragrafo 4.4.2 (a pagina 105), il secondo modello anatomico presenta l'ipoplasia del tratto prossimale P1 dell'arteria cerebrale posteriore destra, congiuntamente all'ipoplasia del tratto prossimale A1 della cerebrale anteriore destra. In questo modo viene creata una geometria vasale dove sussistono contemporaneamente una configurazione di tipo *fetale* (diametro del tratto P1 minore della PCoA), e una variazione anatomico della circolazione anteriore. Questa scelta simula una variante anatomico documentata dalla letteratura [23], che presenta due variazioni della circolazione, anteriore e posteriore, ritenute più a rischio di insorgenza di ictus [34][35][28]. La distribuzione delle pressioni presenta un certo grado di asimmetria, che si rende maggiormente evidente lungo le due arterie carotidi (Figura 5.9). Sul lato destro del circolo, dove è presente il segmento prossimale di tipo fetale, si registra un aumento della pressione lungo l'intera carotide. Conseguentemente, la pressione maggiore sul lato destro potrebbe rappresentare un ulteriore fattore di rischio per l'insorgenza di un aneurisma (e successiva rottura che porta ad emorragia subaracnoidea [127]), rispetto al versante sinistro, dove la distribuzione della pressione è simile a quella osservata nel modello paziente-specifico.

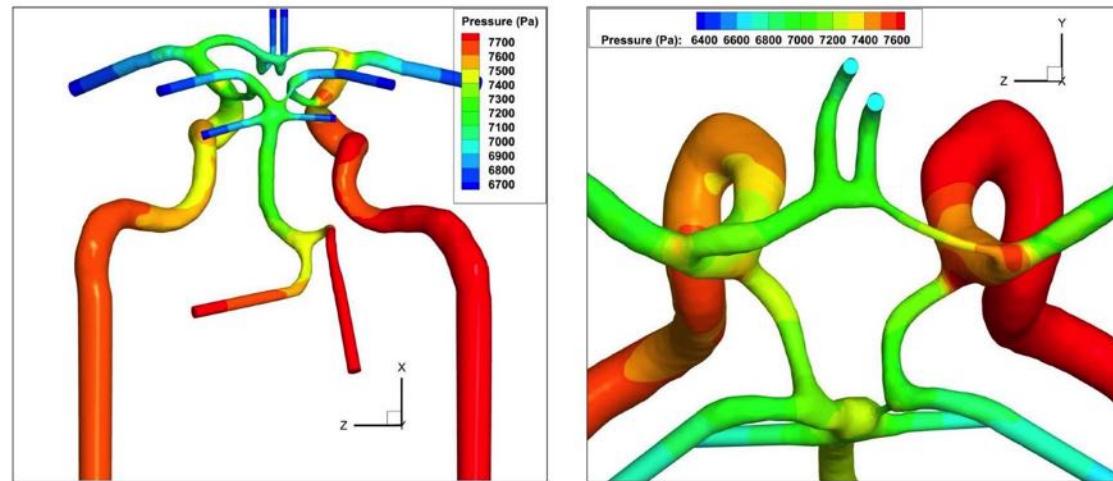


Figura 5.9: Distribuzione delle pressioni nel circolo cerebrale. A sinistra, vista delle pressioni lungo il piano frontale (xz), a destra, particolare delle pressioni lungo il piano trasversale (yz).

Si osserva un aumento della pressione in corrispondenza della punta basilare, con l'aumento della portata nella cerebrale posteriore sinistra. L'ipoplasia del segmento P1 della PCA destra determina un aumento della resistenza fluidodinamica che va ad ostacolare il flusso sanguigno. L'aumento di portata sembrerebbe ridurre la quantità di sangue che transita nella comunicante posteriore sinistra, dove il gradiente di pressione ai suoi capi risulta essere più grande. La riduzione di portata determina di riflesso un maggiore flusso sanguigno nella carotide sinistra. Questa evidenza, in combinazione con l'ipoplasia dell'arteria cerebrale anteriore, fa sì che la corteccia cerebrale frontale dipenda in gran parte dal sangue che fluisce attraverso la carotide sinistra. Sul versante destro del circolo cerebrale si nota un aumento del gradiente pressorio ai capi della comunicante posteriore, la quale, data la compresenza della PCA ipoplastica nel circolo posteriore, costituisce per il sangue la via d'accesso principale alle zone encefaliche posteriori. Si osservano valori alti di pressione anche nella regione terminale della carotide, a livello del punto di biforcazione tra arteria cerebrale media e anteriore.

Questo si può spiegare con una maggiore resistenza fluidodinamica a carico dell'arteria cerebrale anteriore, dato che il calibro ridotto ha prodotto un significativo aumento del gradiente pressorio, che si estende fino a comprendere anche il punto di biforcazione.

La presenza di arterie ipoplastiche espone zone del circolo a valori stazionari di pressione più alti rispetto ad altri; tra queste, le regioni interne dei punti di biforcazione, in cui, secondo la letteratura, è più probabile la formazione di aneurismi cerebrali, sacculari e non [124] [130]. In Figura 5.10 sono mostrate le linee di flusso in alcune particolari regioni di ramificazione arteriosa del circolo. Anche nel modello anatomico derivato si può osservare la presenza delle regioni di separazione del flusso a livello delle curve interne delle biforcazioni, nonostante gli aumenti locali di velocità (Figura 5.10b). Inoltre, l'introduzione delle arterie ipoplastiche sembra favorire l'insorgenza di più ampie regioni di ricircolo e di flusso vorticoso, per effetto della geometria delle giunzioni, che generano gradienti pressori trasversali a livello locale. Ciò è evidente, ad esempio, a livello dell'arteria comunicante anteriore (Figura 5.10a), dove il flusso proveniente dall'ACA sinistra va incontro ad una zona di ricircolo significativa a livello della parete esterna della cerebrale anteriore sinistra.

In Figura 5.11 sono mostrate le grandezze fluidodinamiche oggetto di interesse. Come già visto per il modello paziente-specifico, anche nel modello derivato valori di sforzo di taglio a parete alti si trovano a livello delle zone interne delle ramificazioni arteriose, dei punti di giunzione arteriosa, e in coincidenza delle pareti esterne delle curve delle carotidi (Figura 5.11a). In particolare, in corrispondenza delle arterie ipoplastiche, si osservano modifiche nella distribuzione spaziale del WSS, con la presenza di estese zone dove lo shear stress è al di sopra del livello fisiologico ($\text{WSS} > 150 \text{ dyn/cm}^2$). La riduzione del calibro di alcune arterie ha portato uno squilibrio nella suddivisione del flusso cerebrale, portando con sè significativi aumenti della velocità in altre arterie. Valori elevati si osservano, ad esempio, a livello della cerebrale posteriore (PCA) sinistra, dove scorre tutto il flusso proveniente dalla basilare (BA), andando incontro ad una maggiore accelerazione rispetto a quanto osservato nel modello paziente-specifico (Figura 5.5).

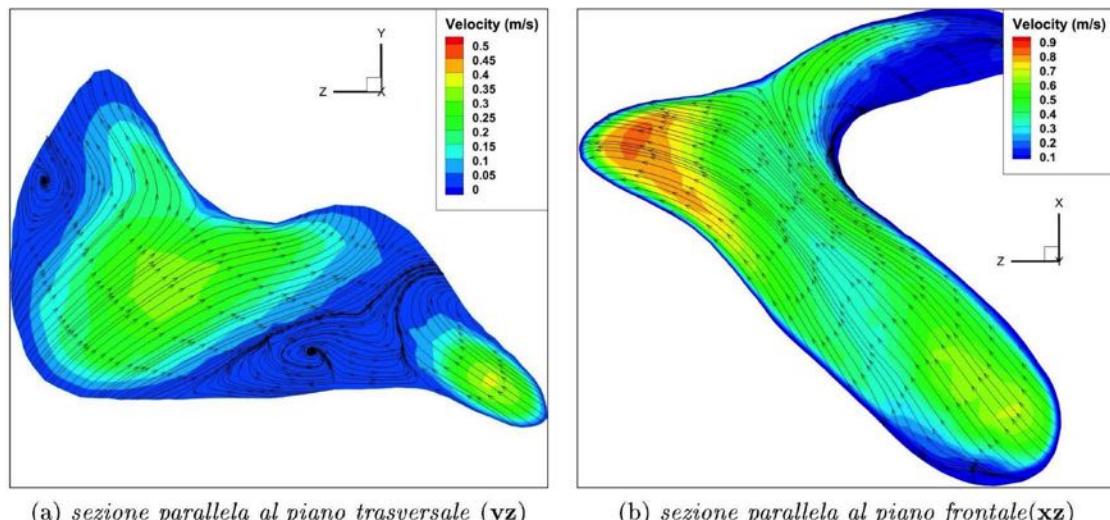
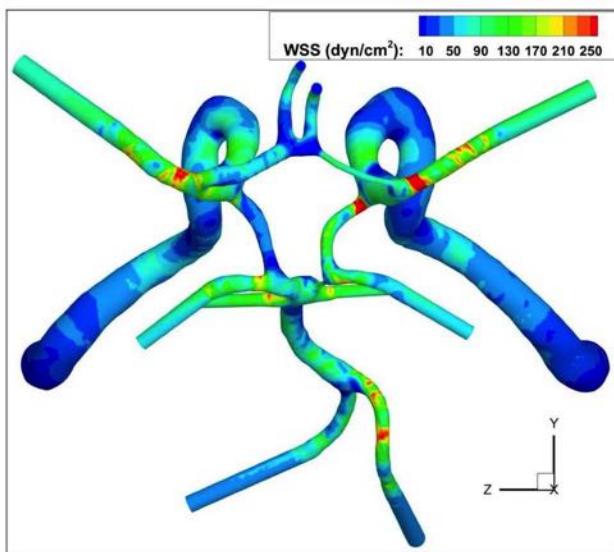


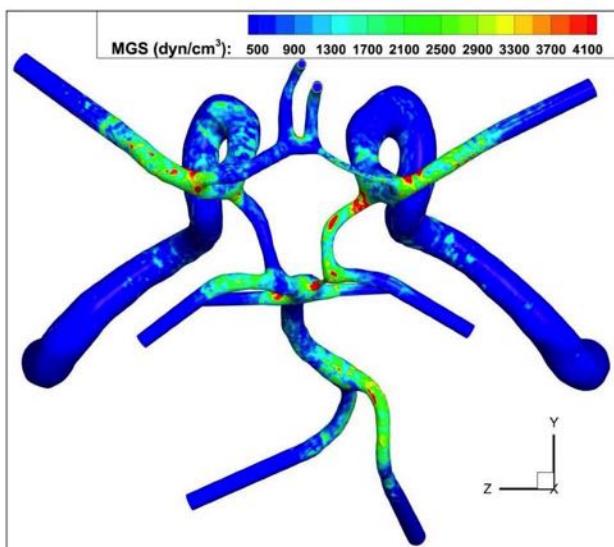
Figura 5.10: Linee di flusso a livello dell'arteria comunicante anteriore (a) e in corrispondenza del segmento terminale della carotide sinistra, nel punto di biforcazione nei suoi rami collaterali (b). Si notano la presenza dei vortici locali e la separazione del flusso a livello della curva interna della cerebrale anteriore.

Wall Sher Stress

Si vede come ad una pressione più elevata corrisponde uno sforzo di taglio più basso.

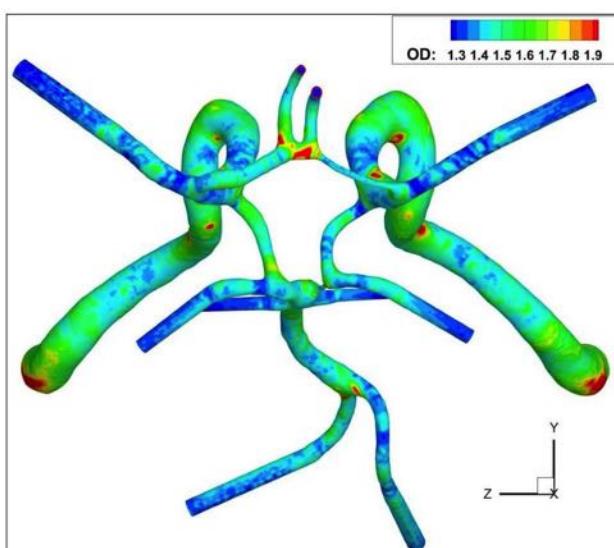


(a) WSS seconda variante <-- variante fetale



(b) MGS seconda variante

Optical density.



(c) OD seconda variante

Figura 5.11: Vista delle grandezze di interesse nella seconda variante anatomica.

Un'altra regione di parete dove lo shear stress è patologicamente alto è il punto di diramazione della comunicante posteriore destra dalla carotide interna, dove si viene a creare una ramificazione collaterale ad angolo acuto. Qui il sangue, arrivando ad alta velocità per le alte pressioni che si hanno nel versante circolatorio destro, subisce netti cambi di direzione del flusso, che si traducono in elevati valori del gradiente spaziale di velocità, ossia dello shear rate $\dot{\gamma}$ [76]. Essendo anche l'unica arteria del circolo che alimenta il lato posteriore destro dell'encefalo - come succede tipicamente nella variante fetale del circolo di Willis [32] -, il sangue fluisce nella PCoA a velocità alta, con i cambi di direzione che spiegano i valori mediamente alti del WSS, e localmente anche soprafisiologici, lungo la PCA destra. Infine, valori soprafisiologici dello sforzo di taglio a parete si notano nei segmenti terminali delle carotidi, in coincidenza con i punti di biforcazione (analogamente a quanto osservato per il modello paziente-specifico). L'introduzione delle arterie ipoplastiche comporta una nuova geometria del circolo, e le modifiche a carico dei calibri vasali determinano una diversa distribuzione dei WSS patologicamente bassi. L'ipoplasia del tratto prossimale della PCA destra determina zone dove i valori di WSS aterogeni sono presenti in regioni limitate. Le zone parietali che presentano valori inferiori al limite ateroprotettivo (WSS $< 10 \text{ dyn/cm}^2$) sono localizzate nelle curve interne dei tratti vasali; zone a basso wall shear stress si hanno anche nelle regioni di ramificazione arteriosa, in cui le variazioni locali del calibro dei singoli vasi provocano ricircoli e separazione del flusso dalle curve esterne determinando bassi shear rate nelle parti esterne del punto di biforcazione (Figura 5.11a). Similmente a quanto già osservato nel modello paziente-specifico, data la geometria in comune a livello di queste zone, bassi valori del WSS si osservano nella giunzione basilare e nel tratto petroso delle carotidi. A livello della giunzione tra PCoA sinistra e PCA sinistra si osserva una regione definita con valori di shear rate più bassi. In generale, nella PCoA sinistra, l'entità della portata sanguigna è relativamente inferiore rispetto alla PCoA controlaterale, e il minore flusso collaterale provoca una generale riduzione delle velocità e degli sforzi di taglio (essendo questi in prima approssimazione proporzionali allo shear rate). La diversa geometria tra le due cerebrali anteriori ha originato zone con WSS aterogeni sulla faccia interna della ACoA. Qui il flusso subisce una separazione dello strato limite fluidodinamico che determina una regione di ricircolo a livello della parete esterna dell'ACA sinistra (come già osservato nella Figura 5.10b).

Esaminando l'andamento del gradiente spaziale MGS, la sua distribuzione è simile a quella del WSS, presentando valori più alti nelle vicinanze delle regioni ad alto shear stress (Figura 5.11b). Il cambiamento nella geometria portato dalle arterie ipoplastiche ha generato, in modo analogo a quanto osservato per il WSS, cambiamenti significativi nel pattern del flusso, che si traducono in più estese zone del gradiente.

L'effetto prodotto dalla diversa geometria si evince in modo particolare sulla superficie dell'arteria comunicante posteriore destra: qui, infatti, la portata sanguigna è maggiore, dovendo lei quasi esclusivamente rifornire tutte le regioni encefaliche posteriori destre. Di conseguenza il flusso subisce rapidi cambi di direzione e di velocità, che si traducono, oltre a valori alti del WSS, in associati elevati valori di MGS. La coesistenza di valori soprafisiologici degli sforzi di taglio a parete e del suo gradiente sono ritenuti fattori importanti nella formazione degli aneurismi cerebrali [51]. Inoltre, le zone in cui si osserva questa coesistenza sono le stesse dove, in accordo con la letteratura, si formano gli aneurismi sacculari [130] [41].

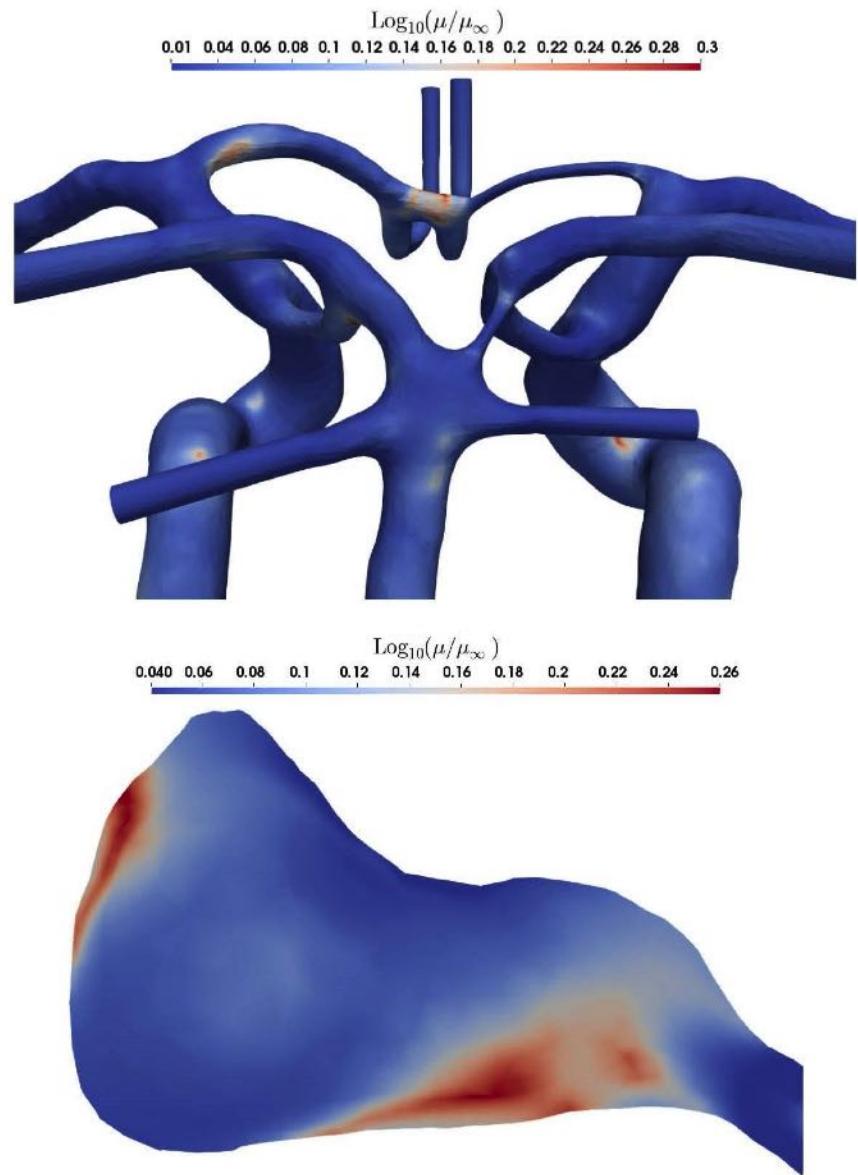


Figura 5.12: In alto, viscosità apparente normalizzata nel circolo; in basso, particolare dell'arteria comunicante anteriore (ACoA) (*Paraview 5.4*)

Tramite il parametro OD si possono quantificare le modifiche apportate dalla geometria ipoplastica sulla permeabilità endoteliale alle macromolecole (Figura 5.11c). La permeabilità aumenta in corrispondenza delle zone esterne delle ramificazioni, dove sono presenti vortici ricircolanti e flusso stagnante, accompagnati da shear rate abbastanza bassi. Queste regioni di ricircolo aumentano il tempo di permanenza di macrofagi e macromolecole sull'endotelio, esponendo il vaso all'insorgere della risposta infiammatoria [39] [51]. L'OD risulta particolarmente alto sulle pareti interne della comunicante anteriore e sulla parete esterna della cerebrale anteriore sinistra, coerentemente con le ampie regioni vorticose e di separazione del flusso già precedentemente osservate. La presenza delle zone di ricircolo influisce anche sull'andamento della viscosità apparente (Figura 5.12). La permeabilità endoteliale e la viscosità apparente aumentano nelle zone dove si hanno i minimi di WSS, coerentemente con il modello di Casson, in cui la viscosità apparente è funzione dello shear rate. In queste regioni, perciò, gli eritrociti e gli elementi corpuscolari stazionano nelle vicinanze della parete, con un aumento del rischio di trombogenesi [44][129].

In Figura 5.13 sono mostrate alcune delle zone del circolo in cui il WSS presenta valori aterogeni. Si notano le ampie aree di parete a livello dell'ACoA, del segmento terminale della carotide sinistra, e nel punto di giunzione tra la PCoA e la PCA sinistra. In particolare, dato che le modifiche apportate al modello paziente-specifico sono relative all'anastomosi arteriosa, le grandezze fluidodinamiche nei sifoni carotidei sono simili a quelle già osservate per la prima variante anatomica (Figura 5.6).

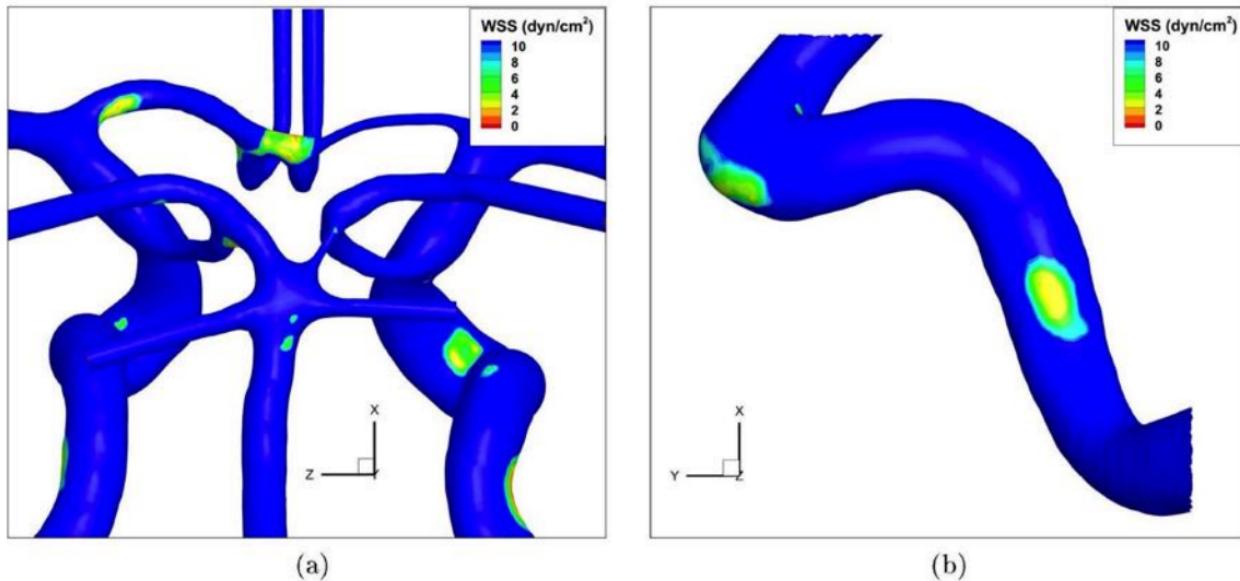


Figura 5.13: (a) Localizzazione delle aree a basso WSS; (b) un dettaglio del sifone della carotide sinistra.

5.1.2 Risultati trasporto di massa

Dall'analisi fluidodinamica emerge come il flusso sanguigno presenta diverse peculiarità rispetto a tanti vasi arteriosi. Questo si riflette sui dati relativi all'OD e alla viscosità apparente, che evidenziano la copresenza nelle stesse regioni vascolari di bassi valori del wall shear stress e di una maggiore infiltrazione delle macromolecole. Si è voluto così analizzare il trasporto di massa di 3 molecole biologiche: l'ossigeno (O_2), il colesterolo, nella sua forma lipoproteica LDL, e il glucosio (Glu).

Si è fatto ricorso all'equazione del trasporto dello scalare passivo 4.14; il termine avvettivo è stato codificato tramite una UDF (App.D). Gli scalari scelti sono le frazioni massiche delle molecole considerate, la cui definizione è stata fornita nella sezione relativa al modello matematico. Nelle simulazioni del trasporto di ossigeno si è tenuto conto della percentuale disciolta, ed è stata imposta all'ingresso una frazione massica 0.002125; per le lipoproteine LDL è stata assegnata una frazione massica di 0.0011, e per il glucosio una frazione massica di 0.002, pari alla glicemia che si presenta in condizioni diabetiche lontano dai pasti, in qualsiasi momento del giorno [3].

Relativamente alle condizioni al bordo, le simulazioni sono state compiute imponendo la condizione di flusso nullo alla parete. Per quanto riguarda il coefficiente di diffusione, si è considerato per l'ossigeno $D_{O_2} = 1.6 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, per le lipoproteine LDL un $D_{LDL} = 2 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$, e per il glucosio $D_{Glu} = 7.5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ [137].

Nell'analisi del trasporto delle suddette specie chimiche si deve tenere in conto sia degli effetti convettivi/avvettivi, legati al pattern del flusso, sia degli effetti diffusivi. Nella valutazione del relativo peso di questi effetti si fa ricorso a due parametri derivati. Uno di questi è il *numero di Schmidt*, usato per caratterizzare il rapporto tra la diffusività della quantità di moto e la diffusività di materia:

$$Sc = \frac{\mu}{\rho \cdot D} = \frac{\nu}{D}$$

Dati i valori di diffusività D delle specie in questione, il trasporto dell'ossigeno, dell'LDL e del glucosio è caratterizzato da alti numeri di Schmidt: ad esempio per l'ossigeno $Sc_{O_2} \sim 2800$ [116], mentre per l'LDL, in un modello animale, $Sc_{LDL} \sim 6.9 \cdot 10^5$ [139].

Un'altra grandezza importante per il trasporto di massa è il *numero di Peclet*, usato per indicare la proporzione tra i fenomeni convettivi rispetto a quelli diffusivi, pari al prodotto tra il numero di Reynolds e il numero di Schmidt:

$$Pe = Re \cdot Sc$$

Dato che il massimo numero di Reynolds che si registra in ingresso è inferiore a 300, e nei restanti segmenti è dell'ordine dei 10^2 , anche i numeri di Peclet delle specie chimiche oggetto di studio sono alti. La presenza di alti valori del numero di Peclet rende la parte iperbolica dell'equazione del trasporto (Eq 4.14) (ovvero il termine avvettivo) dominante. In altre parole, il trasporto di massa delle biomolecole in questione è dominato dagli effetti convettivi, e quindi queste seguono i pattern del flusso sanguigno, e l'equazione del trasporto dello scalare passivo dipende dalla convezione [138].

Per il trasporto di massa si sono definite delle grandezze derivate, tra cui il numero di Sherwood (Sh):

$$Sh = \frac{(\nabla c \cdot n_w) D}{c_0 - c_w} \quad (5.6)$$

dove $\nabla c \cdot n_w$ indica il gradiente spaziale della frazione massica c calcolata alla parete, D il diametro di ingresso della carotide, c_0 la frazione massica in ingresso e c_w quella relativa alla parete. Relativamente alla concentrazione alla parete C_w , sono stati imposti dei valori fissati per le tre specie chimiche, pari a $c_{w,O_2} = 0.0015$ e $c_{w,LDL} = 0$ per ossigeno e LDL, rispettivamente, in base a quanto fornito dalla letteratura [116] [117]; per il glucosio si è imposta una concentrazione a parete c_w nulla. Il numero di Sherwood è un parametro adimensionale che permette di individuare le zone in cui si ha un maggiore flusso di massa alla parete, fornendo indicazioni sulle alterazioni del trasporto delle macromolecole a causa delle condizioni fluidodinamiche. Si analizzano, infine, le distribuzioni delle tre molecole oggetto di studio.

Seconda variante anatomico - configurazione fetale con ACA ipoplastica

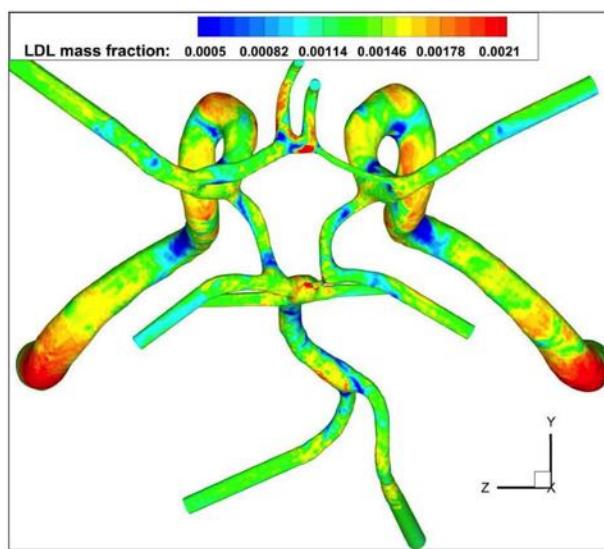
In questa sezione si mostrano i risultati relativi alla variante fetale del circolo, dove si è imposta la condizione di flusso nullo a parete.

Le concentrazioni superficiali delle tre specie chimiche è mostrato nelle Figure 5.26 e 5.27. Anche in questa variante anatomico le caratteristiche del flusso determinano il trasporto delle macromolecole. La distribuzione delle tre specie chimiche è simile a quella già osservata per la variante di tipo transitorio. Si osservano infatti maggiori concentrazioni sulle curve esterne delle carotidi interne, e valori più bassi a livello della giunzione basilare. Ciò nonostante, nella variante fetale, il flusso asimmetrico modifica parzialmente le linee di flusso nelle curve dei sifoni carotidei. Si evince una differenza di concentrazione sulla curva esterna del sifone sinistro rispetto al sifone destro. Questa evidenza suggerisce una situazione di rischio maggiore, confermato dai valori patologici dello sforzo di taglio a parete più bassi (come si osserva in Figura 5.13b, a pagina 127). È chiaro che la differente configurazione geometrica dei due sifoni carotidei è alla base del flusso secondario che influenza per convezione la concentrazione luminale a parete.

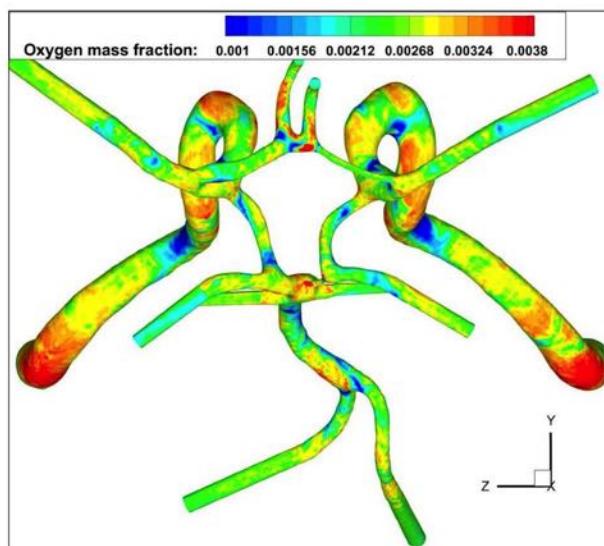
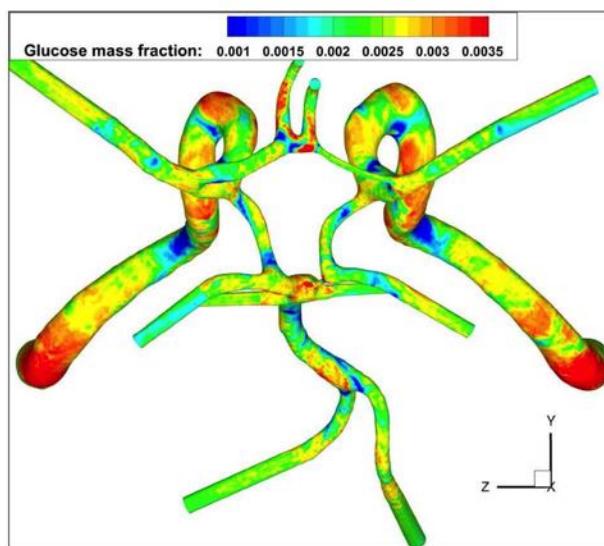
In corrispondenza del circolo cerebrale, la distribuzione delle tre specie segue i pattern del flusso in corrispondenza delle ramificazioni arteriose; l'asimmetria introdotta dalle arterie ipoplastiche produce, inoltre, una diversa distribuzione delle specie chimiche tra i due versanti destro e sinistro. Ad esempio, in corrispondenza del segmento terminale della carotide sinistra, a livello dei rami collaterali MCA e ACA, i valori elevati delle concentrazioni si limitano solamente ad una limitata regione superficiale, mentre si osserva una vasta zona a bassa concentrazione. Ciò è dovuto al maggiore flusso di sangue che fluisce attraverso l'arteria cerebrale anteriore sinistra, facendo sì che l'entità del flusso secondario a livello della biforcazione sia ridotta: i vortici responsabili della concentrazione superficiale - come già osservato in letteratura [78] [81] - tendono ad allontanare le specie chimiche dalla parete verso il lume, perché possa fluire verso le altre arterie.

Le pareti della cerebrale posteriore ipoplastica mostra una non omogenea concentrazione a parete. Ciò causa alti valori di concentrazione sulle pareti della PCoA vicine alla porzione ipoplastica della PCA, e a livello della biforcazione basilare. Gli effetti convettivi del trasporto di massa sono, in queste zone, molto evidenti, per cui le macromolecole seguono le linee di flusso e si addensano in prossimità delle arterie ipoplastiche. Il restringimento del calibro e la ridotta portata, creano zone ad alta concentrazione superficiale, lì dove il flusso trova un imbuto e le sue linee tendono ad addensarsi. L'arteria comunicante posteriore destra presenta zone con concentrazione relativamente alta alternate a zone con bassa concentrazione, a seguito della maggiore velocità del flusso. L'asimmetria nella redistribuzione del flusso cerebrale genera diverse zone a più bassa concentrazione, conseguenza di una portata ridotta che scorre nella cerebrale comunicante posteriore sinistra. Particolare è la distribuzione delle concentrazioni a carico dell'arteria comunicante anteriore e dei tratti distali A2 delle cerebrali anteriori. Le zone di maggiore concentrazione coincidono anche con quelle in cui il WSS è basso e in cui predominano i flussi vorticosi. Questi flussi, che in condizioni fisiologiche garantiscono in qualsiasi arteria una distribuzione omogenea delle macromolecole [81], determinano invece ampie aree dove la concentrazione è molto alta alternate ad zone superficiali dove le specie sono molto basse.

Analizzando la concentrazione dell'LDL, mostrata nelle Figure 5.26a e 5.27a, si notano vaste aree di concentrazioni più alte a livello del sifone carotideo sinistro, dove $\phi_{LDL} \simeq 1.65\phi_{0,LDL}$. Valori di frazione massica $\phi_{LDL} \geq 3\phi_{0,LDL}$ si notano sui tratti petrosi delle carotidi interne, lì dove le dilatazioni del calibro generano ricircoli spiraliformi come conseguenza della separazione del flusso.

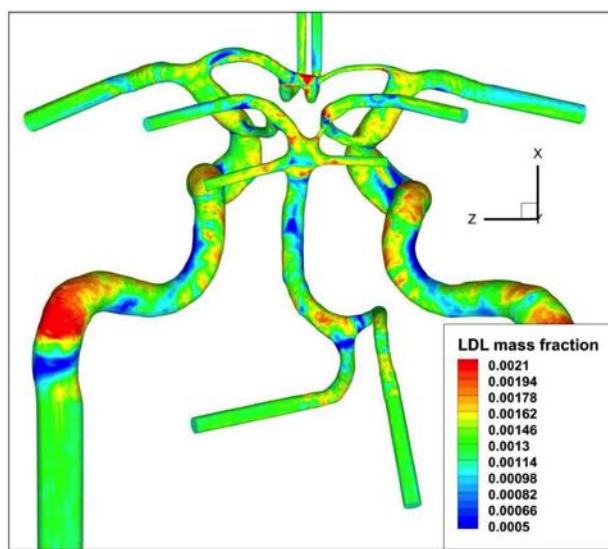


(a) concentrazione di LDL alla parete.

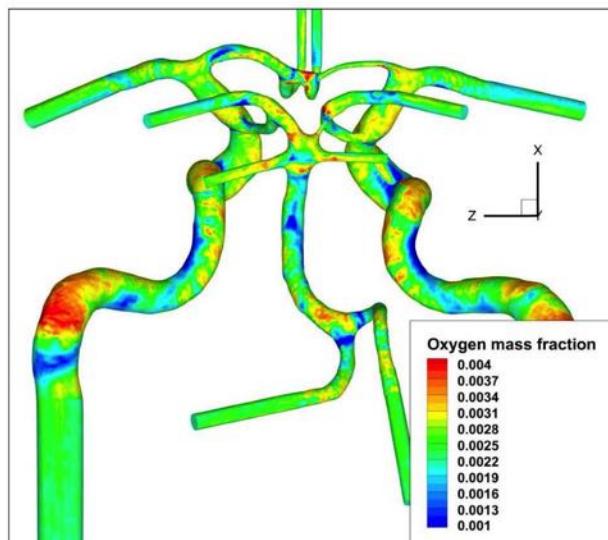
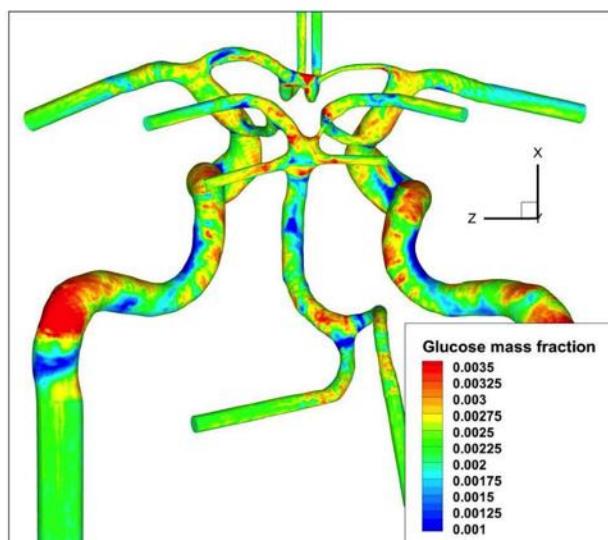
(b) concentrazione di O_2 alla parete.

(c) concentrazione di glucosio alla parete.

Figura 5.26: Vista del trasporto delle tre specie chimiche, rispetto al piano trasversale (yz).



(a) concentrazione di LDL alla parete.

(b) concentrazione di O_2 alla parete.

(c) concentrazione di glucosio alla parete.

Figura 5.27: Vista del trasporto delle tre specie chimiche, rispetto al piano frontale (xz).

Valori simili di concentrazione si possono osservare solo a livello della comunicante anteriore, dove la frazione massica a parete $\phi_{LDL} \simeq 1.8\phi_{0,LDL}$, estendosi ed interessando anche le pareti esterne dell'ACoA e dei tratti distali A2 delle ACA. Da ricordare che la frazione massica di ingresso del colesterolo LDL $\phi_{0,LDL} = 0.0011$. Sempre nell'ACoA, accanto a queste zone ad alta concentrazione, si notano zone a bassa concentrazione, dove addirittura la frazione massica è inferiore a $1 \cdot 10^{-4}$. Zone analoghe di bassa concentrazione si notano anche a livello della biforcazione MCA-ACA sinistra, nella giunzione tra PCoA e PCA sinistra, e in altre piccole aree lungo la PCA fetale destra.

Dall'analisi del trasporto dell'ossigeno (O_2), mostrata nelle Figure 5.26b e 5.27b, questo segue le caratteristiche del flusso, presentando una distribuzione della concentrazione simile a quella del colesterolo LDL. Se alti valori di ossigeno non generano problematiche patologiche, i flussi secondari nelle ramificazioni collaterali creano zone di ipossia (dove la frazione massica spesso scende al di sotto di $1 \cdot 10^{-4}$) molto evidenti a livello della ramificazione MCA-ACA e sulle pareti dell'ACoA e arterie limitrofe.

Infine, le concentrazioni del glucosio (Glu) mostrate nelle Figure 5.26c e 5.27c, mostrano analogie con le distribuzioni delle altre specie chimiche. Infatti, nelle zone in cui il colesterolo LDL è più alto, il glucosio presenta i suoi picchi di concentrazione ($\phi_{glu} \simeq 2\phi_{0,glu}$). Anche nel caso del glucosio, l'arteria comunicante anteriore mostra una concentrazione parietale dove alti valori si alternano a valori estremamente bassi, inferiori a $\phi = 0.001$. Bassi valori di glucosio si osservano infine a livello della biforcazione MCA-ACA, nella giunzione PCoA-PCA sinistra, oltre che sulle pareti interne delle curve arteriose. Si può concludere che, nella variante fetale con ipoplasia dell'ACA, il trasporto di massa è influenzato dagli effetti convettivi, e rispecchia i pattern del flusso sanguigno. Inoltre, i flussi secondari che si originano a seguito delle caratteristiche geometriche determinano la sovrapposizione tra l'andamento del WSS aterogeno con i valori di glucosio e LDL, che risultano più alti nelle zone interessate, e nelle zone di ipossia. Si tratta di situazioni potenzialmente pericolose, in quanto la loro combinazione accresce il rischio di disfunzione endoteliale, alla base del processo di aterosclerosi [54][63][39].

Per una visione più qualitativa del flusso e del modello di trasporto di massa, sono stati analizzati gli andamenti del numero di Sherwood (Sh). Questo, come per la geometria paziente-specifica, mostra un andamento analogo e assume localmente valori più alti nelle zone dove il flusso tende a stagnare, congiuntamente alla riduzione dello strato limite della quantità di moto - l'ACoA e la cerebrale anteriore sinistra, ad esempio -. Sebbene il numero di Sherwood presenti i valori più alti nelle zone dove la concentrazione superficiale è maggiore, suggerendo dunque che in quelle zone vi sia il massimo del trasferimento di massa, nelle regioni di parete in cui le frazioni massiche sono più basse il trasferimento di massa alla parete presenta valori discordanti. Si osservano infatti zone con valori dello Sh bassi ($Sh \leq 10$, per tutte le specie), alternati con valori "medi" dello stesso (compresi tra 10 e 25 per glucosio e LDL, e tra 40 e 70 per l'ossigeno). Si può concludere che, nonostante la sovrapposizione dei numeri di Sherwood più alti in alcune delle zone con la concentrazione più alta, questa corrispondenza non sempre viene rispettata, suggerendo l'esistenza di ulteriori fattori nella formazione delle placche aterosclerotiche, oltre al trasporto di massa verso la parete.

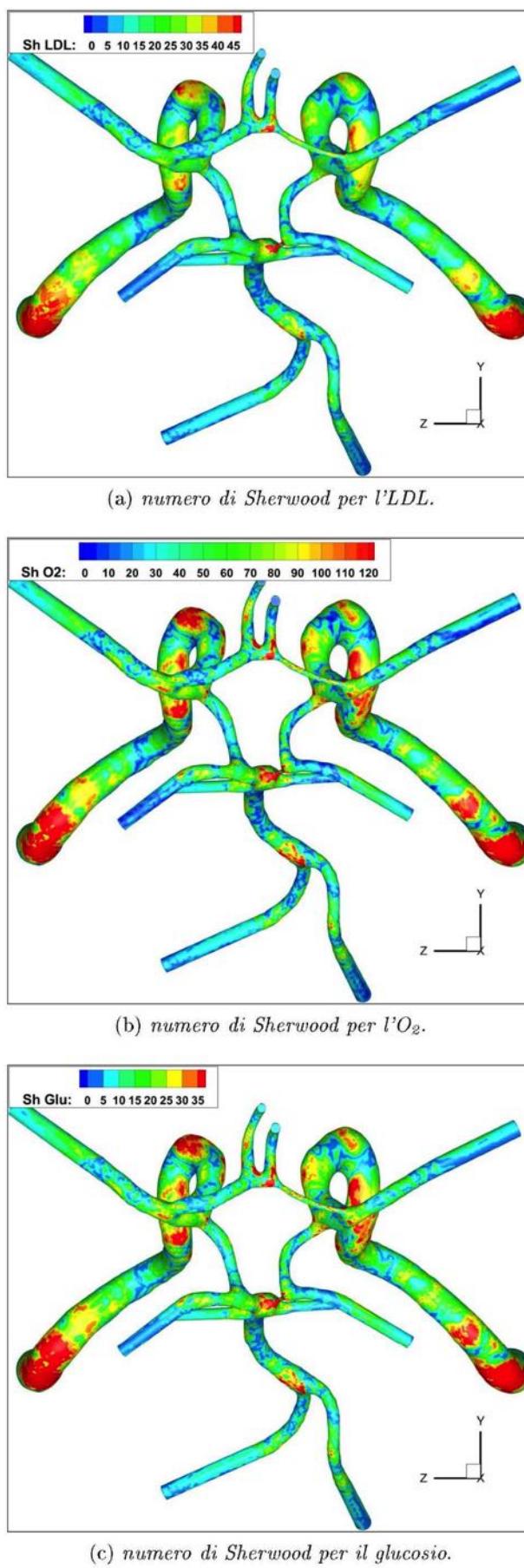


Figura 5.28: Vista del numero di Sherwood delle tre specie chimiche, su un piano parallelo al piano trasversale (yz).

Conclusioni

Nel corso degli ultimi anni, modelli matematici di diverso tipo sono stati elaborati per lo studio e l'analisi numerica dell'emodinamica e delle malattie cerebrovascolari connesse. Le simulazioni numeriche CFD dei flussi emodinamici e del trasporto di massa delle biomolecole stanno acquistando un'importanza sempre maggiore come potenziale strumento diagnostico e di prevenzione, nell'ambito della medicina personalizzata. Infatti, grazie agli sviluppi nelle tecniche di imaging diagnostica e nelle capacità di calcolo dei software numerici, è possibile realizzare modelli vascolari paziente-specifici molto simili alla geometria reale, con una qualità dei risultati cresciuta notevolmente nell'ultimo decennio. Nella tesi sono state illustrate le potenzialità offerte dalle diverse classi di modellazione matematica, che spaziano dall'analisi dell'emodinamica allo studio del trasporto di massa, mostrandone pregi e problematiche. Allo stato attuale, si sta cercando di integrare, nello studio dell'emodinamica cerebrale, gli aspetti relativi ai diversi modelli, in presenza o meno di patologie cardiovascolari. Ciò nonostante, l'analisi numerica condotta fino ad ora si è concentrata su aspetti fluidodinamici generali, realizzando modelli matematici monodimensionali senza tenere conto delle caratteristiche paziente-specifiche; allo stesso tempo, la CFD, sviluppata nell'ambito cerebrovascolare, è stata più di tipo esplorativa che predittiva, finalizzata alla realizzazione di modelli tridimensionali per studiare le peculiarità del flusso in determinate situazioni anatomiche o patologiche, piuttosto che indirizzata alla ricerca degli aspetti comuni e delle differenze tra le varianti esistenti. La letteratura è carente di uno studio approfondito delle dinamiche del trasporto di massa delle specie chimiche all'interno del circolo cerebrale.

Nella prima parte di questo lavoro, sono stati realizzati due modelli monodimensionali, uno in caso di flusso stazionario e l'altro in caso di flusso transitorio, assumendo la simmetria sagittale del circolo cerebrale. In entrambi i modelli matematici, il circolo è stato assunto come un sistema a tubi rigidi con flusso di tipo laminare, trascurando gli effetti di riflessione dovuti alla geometria vascolare. Nella risoluzione numerica sono stati usati codici creati con i software *Fortran 90* e *Matlab*. Le caratteristiche geometriche dei vasi cerebrali sono state prese dalla media dei valori presenti in letteratura, e usati nei codici; successivamente i risultati, per entrambi i casi stazionario e transitorio, vengono confrontati con quelli presenti in letteratura. Il modello stazionario, pur nella sua semplicità, mostra l'esistenza di specifici rapporti tra le portate all'interno del circolo, secondo quanto predetto da alcuni studi; il modello rivela inoltre una determinata redistribuzione del flusso sanguigno cerebrale, in linea con quanto mostrato anche da studi condotti su modelli fluidodinamici tridimensionali. Il modello monodimensionale transitorio si concentra sullo studio dell'onda viaggiante dell'onda sfigmica, nell'ottica della comprensione della redistribuzione del flusso nel corso del ciclo cardiaco. Nonostante il suo aspetto sperimentale, il modello mostra il mantenimento dei rapporti reciprochi tra le portate nel corso del ciclo cardiaco; i valori diastolici, inoltre, mostrano le stesse proporzioni già evidenziate nel caso stazionario,

che sono confermate dai dati presenti in letteratura. Le simulazioni fluidodinamiche sono state svolte tramite il software *Fluent*. Sono state realizzate due geometrie, relative a due differenti configurazioni anatomiche. La geometria di partenza è tratta da immagini di angiografia a risonanza magnetica (MRA); successivamente, la geometria paziente-specifica è stata processata tramite il software *SolidWorks*, per realizzare la seconda variante anatomica. Sono state eseguite simulazioni sia in regime stazionario, con costi computazionali ridotti, sia in regime transitorio, con maggiori costi e complessità. Nelle simulazioni in regime transitorio è stato adottato un profilo di velocità ottenuto secondo la teoria di *Womersley-Evans*. Tramite l'algoritmo della *Fast Fourier Transform (FFT)* si è ricostruita la forma d'onda fisiologica tratta dalla letteratura, usata per il profilo di velocità. Per le proprietà reologiche del sangue, è stato adottato un modello di fluido incomprimibile non-Newtoniano, secondo il modello di *Casson*. Il flusso è stato considerato laminare, dato che il numero di Reynolds è mediamente sotto il valore di transizione a regime turbolento. Sia per il regime stazionario che per quello transitorio sono state analizzate le grandezze fluidodinamiche di interesse, tra cui il Wall Shear Stress (WSS) e il modulo del suo gradiente MGS. Successivamente è stato studiato il trasporto di tre importanti biomolecole: l'ossigeno (O_2), le lipoproteine a bassa densità (LDL), e il glucosio, nella ricerca di un legame con la fluidodinamica, anche nel caso di condizioni patologiche quale il diabete mellito di tipo 2. I dati ottenuti, per le due geometrie, sono stati analizzati prima singolarmente e poi confrontati. Le simulazioni hanno rivelato la presenza di regioni a basso WSS e alto WSS in differenti punti delle biforcazioni e delle ramificazioni arteriose, oltre che in corrispondenza dei sifoni carotidei, in accordo con la letteratura. In queste zone sono presenti flussi secondari specifici in grado di instaurare una disfunzione dell'endotelio, che ne modifica la permeabilità e lo espone a condizioni pericolose, come l'aterosclerosi e la formazione degli aneurismi cerebrali. I risultati mostrano la coesistenza di alti valori del gradiente dello sforzo di taglio a parete (MGS) nelle zone ad alto WSS, che si localizzano a livello dei punti di divisione del flusso, come osservato in letteratura. La presenza di alti MGS e WSS determinano una disfunzione dell'endotelio che diversi studi ritengono possa determinare la formazione degli aneurismi.

I risultati nella seconda variante anatomica sono simili a quelli osservati nella variante paziente-specifica, ma in determinate regioni i valori delle grandezze fluidodinamiche sono patologicamente più intense; la viscosità, ad esempio, è più alta nelle zone di flusso secondario vorticoso, in grado di instaurare possibili condizioni per la formazione di trombi. Per quanto riguarda trasporto di massa, i risultati, in entrambe le varianti anatomiche, mostrano una corrispondenza tra l'andamento del WSS e la concentrazione delle specie chimiche; allo stesso modo, i risultati sembrano rivelare che il numero di Sherwood e la distribuzione del basso WSS siano in relazione tra loro. Per il regime transitorio sono stati esaminati sia gli istanti significativi del ciclo cardiaco sia i valori mediati sul periodo. Tenendo conto degli effetti prodotti dal shear stress sulle cellule endoteliali, si è analizzato l'andamento temporale del wall shear stress nella valutazione delle situazioni potenzialmente patologiche. Dai dati ottenuti si evince che la pulsatilità genera regioni di inversione del flusso, nelle stesse zone dove si riscontrano valori fisiologicamente bassi di WSS nel corso del ciclo cardiaco. Nelle aree con flussi vorticosi, il tessuto tende a disporsi in maniera irregolare, con le cellule endoteliali che perdono la loro orientazione favorendo una maggiore permeabilità alle macromolecole; a ciò si accompagnano aumenti relativi della viscosità, con picchi in corrispondenza dei minimi diastolici. Come conseguenza dei vortici, le zone di ramificazione arteriosa presentano bassi valori del TAWSS e valori relativamente più alti dell'OSI, accompagnati da un aumento del tempo di residenza del fluido (RRT). Il modulo del WSS presenta valori mediamente più alti nelle medesime zone in cui il TAWSS è più alto, lì dove si formano più facilmente gli aneurismi cerebrali. Nella seconda variante anatomica, ritenuta dalla letteratura più esposta al rischio di patologie, le zone dei flussi vorticosi sono maggiormente estese, così come quelle aree in cui coesistono alti valori del WSS e dell'MGS, durante tutto il ciclo cardiaco.

Relativamente al trasporto di massa, la distribuzione parietale delle specie chimiche trova corrispondenza con le regioni caratterizzate dai flussi vorticosi; allo stesso modo, l'andamento del WSS e del numero di Sherwood in queste zone sembrano essere correlati. Questo lavoro ha mostrato sia le capacità che i limiti dei modelli adottato nello studio dell'emodinamica e del trasporto di massa nel circolo cerebrale, fornendo una comprensione del ruolo delle grandezze che intervengono nel problema. I risultati ricavati dalla simulazione numerica rivelano fenomeni e situazioni già documentati e note sperimentalmente, come la distribuzione delle zone critiche dal punto di vista fluidodinamico. I risultati numerici forniti dai due modelli monodimensionali confermano le evidenze sperimentali, e forniscono informazioni sulle dinamiche del flusso sanguigno nelle diverse variazioni anatomiche. La presente tesi può essere ritenuta un primo passo nell'elaborazione di un modello comprensivo emodinamico e di trasporto di massa, per individuare le caratteristiche emodinamiche e di trasporto di massa generali riscontrabili nelle diverse varianti anatomiche, in presenza o meno di patologie. I risultati attuali sono soggetti alle limitazioni del modello e ulteriori indagini sono necessari per la loro conferma.

6.2 Sviluppi futuri

A partire dal lavoro condotto in questa tesi sono possibili diversi sviluppi, che attuino modelli più sofisticati. In particolare:

- nei modelli monodimensionali sono imposti valori provenienti da una specifica geometria. Si potrebbero modificare alcuni parametri geometrici per simulare altre varianti anatomiche e/o condizioni patologiche, e confrontare i risultati con le simulazioni fluidodinamiche relative;
- in uscita dai vasi dei modelli monodimensionali, invece di una pressione costante, si potrebbe tenere conto dell'impedenza fluidodinamica dovuta alle arterie terminali, escluse dallo schema matematico, e ricorrere a modelli a parametri concentrati e/o monodimesionali, capaci di simulare i fenomeni di autoregolazione cerebrale;
- in ingresso ai vasi afferenti del dominio computazionale fluidodinamico, sono stati utilizzati andamenti temporali semplificati della velocità usati in altri studi, e non riferiti allo stesso paziente. Per una migliore approssimazione temporale e spaziale, si potrebbe ricorrere a profili di velocità paziente-specifici, misurati tramite risonanza magnetica;
- in uscita dai vasi efferenti, invece della condizione di pressione costante, si potrebbe ricorrere all'approccio multiscala, con il ricorso ad impedenze dinamiche che simulano le resistenze periferiche;
- per avere risultati più accurati nella valutazione dello sforzo di taglio alla parete e della propagazione dell'onda di polso, diventa indispensabile lo studio dell'interazione fluido-struttura, dove si tiene conto della distensibilità della parete vasale [67].
- per uno studio approfondito della diffusione delle specie chimiche attraverso l'endotelio nel corso del tempo, diventa utile introdurre lo spessore della parete, con le caratteristiche specifiche di ogni tonaca [140] [141] [147];
- per convalidare i risultati fluidodinamici raggiunti, si potrebbe seguire il paziente nel corso degli anni e, tramite le analisi, verificare l'esistenza o meno delle patologie cerebrovascolari nelle zone indicate come a rischio;
- avendo individuato differenze significative tra le due varianti anatomiche esaminate, si potrebbero analizzare i risultati forniti dai modelli anatomici creati tramite software CAD e verificare la loro validità con i dati ottenuti da modelli paziente-specifici con la medesima geometria.

La comprensione del grado di rischio legato alla configurazione geometrica e degli aspetti generali che lo determinano potrebbe rappresentare un punto di partenza per ulteriori studi. Contemporaneamente, la realizzazione di un modello predittivo capace di simulare e prevedere le potenziali situazioni di rischio per l'insorgenza di ictus rappresenta, per ingegneri e clinici, una sfida aperta. Ciò consentirebbe di avere uno importante strumento nella prevenzione delle problematiche vascolari legate all'ictus, che rappresenta ad oggi una delle principali cause di disabilità e morte.