

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA



FACOLTA' DI INGEGNERIA

**ANALISI DEL COMPORTAMENTO  
BIOMECCANICO DI TESSUTI DEL  
TRATTO GASTROINTESTINALE  
MEDIANTE UN APPROCCIO  
COMBINATO DI TIPO  
SPERIMENTALE E  
COMPUTAZIONALE**

Relatore: Ch.mo Prof. Arturo N. Natali  
Correlatore: Ing. Emanuele L. Carniel  
Laureando: Alessandro Frigo

**Corso di laurea magistrale in Bioingegneria**

Anno Accademico 2011-2012



## ABSTRACT

In questo elaborato è descritto uno studio finalizzato all'analisi biomeccanica di organi cavi, con particolare riferimento al tratto gastrointestinale.

Per caratterizzare la risposta meccanica di tessuti e strutture biologiche, nonché analizzare i processi di interazione tra tessuti ed elementi chirurgici e/o diagnostici (come ad esempio il meccanismo di locomozione di una sonda endoscopica intestinale), risulta possibile fare ricorso ad una procedura combinata di tipo sperimentale e numerico, al fine di definire strumenti computazionali rappresentativi la funzionalità meccanica del sistema oggetto di studio. A tal proposito, un punto fondamentale consiste nella definizione e calibrazione di modelli costitutivi dei tessuti biologici costituenti, ossia modelli matematici in grado di descrivere la correlazione tra stato tensionale e storia deformativa.

L'obiettivo ultimo di questo studio è proprio quello di definire una procedura finalizzata alla formulazione e validazione di un modello costitutivo caratterizzante il comportamento meccanico dei tessuti biologici costituenti le pareti di organi cavi. Una specifica applicazione viene fornita nel caso dei tessuti dell'intestino tenue, seguendo un percorso di tipo sperimentale e numerico. In prima istanza sono state pianificate ed eseguite prove sperimentali di insufflazione su campioni di intestino tenue di *Rattus Norvegicus Albino*. I risultati delle prove sperimentali sono stati elaborati ed interpretati mediante uno specifico modello fisio-meccanico al fine di conseguire gli input necessari alla successiva calibrazione del modello costitutivo. Si è quindi proceduto alla formulazione matematica del modello costitutivo ed allo sviluppo di un modello analitico, interpretativo, in forma semplificata, le prove di insufflazione, finalizzato alla individuazione dei parametri costitutivi mediante confronto con i risultati sperimentali precedentemente elaborati attraverso il modello fisio-meccanico. In ultima istanza è stato costruito un modello ad elementi finiti effettivamente rappresentativo le prove di insufflazione in tutta la loro complessità, al fine di sviluppare analisi numeriche per la validazione di modello e parametri costitutivi.



## INTRODUZIONE

Il presente lavoro di tesi mira alla definizione di una procedura per l'analisi costitutiva dei tessuti biologici costituenti le pareti di organi cavi, con particolare riferimento al tratto gastrointestinale. Tali modelli risultano essenziali ai fini dello sviluppo di strumenti computazionali in grado di descrivere il comportamento meccanico di tessuti e strutture del tratto gastrointestinale. Questi strumenti permettono una valutazione di funzionalità delle strutture, in relazione ad esempio ai carichi fisiologici a cui sono sottoposte, ma anche in relazione all'analisi di processi di interazione tra tessuti ed elementi biomedicali diagnostici o chirurgici.

L'analisi è stata eseguita seguendo un approccio fortemente multi- ed interdisciplinare, facendo riferimento ad ambiti di studio diversi, quali ingegneria, anatomia e fisiopatologia. Le metodologie di lavoro sono state altresì eterogenee, affrontando il problema mediante un approccio combinato di tipo sperimentale e computazionale, al fine di garantire una maggiore affidabilità dei risultati ottenuti. Nello specifico, le attività prevedono una prima indagine sperimentale del comportamento meccanico dei tessuti. I risultati sperimentali trovano interpretazione ed elaborazione mediante uno specifico modello fisio-meccanico. Sulla base degli output di tale modello, si procede alla definizione del modello costitutivo ed alla individuazione dei parametri associati, la cui validazione ha luogo mediante successive analisi numeriche.

Lo studio si suddivide complessivamente in sei sezioni principali, ciascuna corrispondente ad un capitolo.

Il primo capitolo consiste nello studio approfondito della fisiologia dell'intestino. La complessa conformazione dei tessuti a livello macro e micro strutturale conferisce al tubo digerente una caratterizzazione meccanica assai efficiente, ma altrettanto difficile da descrivere matematicamente. E' pertanto necessario svolgere uno studio istologico e morfometrico dell'intestino per poter essere pienamente coscienti dei modelli matematici che si andranno a proporre e validare.

Il secondo capitolo riporta il risultato di una ricerca bibliografica sulla casistica delle principali patologie intestinali, sui rischi presenti e sullo stato dell'arte della

diagnostica per la loro prevenzione. Si è ritenuto infatti necessario indagare su quali fossero le principali tecniche endoscopiche disponibili in commercio, al fine di comprendere pienamente i vantaggi garantiti dal prototipo in fase di progettazione.

Il terzo capitolo contiene la descrizione dell'attività sperimentale svolta. E' riportata nel dettaglio la metodologia di prelievo dei campioni e la modalità di esecuzione delle prove di insufflazione.

Il quarto capitolo illustra nel dettaglio la composizione del modello fisio-meccanico messo a punto, spiegando passo passo la natura fisica delle componenti che entrano in gioco. Viene quindi riportata l'attività post-sperimentale di estrazione dei parametri di modello, eseguita elaborando i dati sperimentali raccolti in laboratorio.

Nel quinto capitolo continua la descrizione dell'attività post-sperimentale. Verrà infatti discussa la definizione di un modello costitutivo rappresentativo la risposta meccanica dei tessuti costituenti l'intestino tenue e più in generale tutte le strutture cave costituenti il tratto gastrointestinale. I parametri di modello vengono individuati mediante la definizione di un modello meccanico di tipo analitico espressivo, in forma semplificata, le condizioni sperimentali. La minimizzazione della discrepanza tra risultati del modello fisio-meccanico e modello analitico permette la stima dei parametri costitutivi. L'affidabilità dei parametri ottenuti è infine valutata mediante la costruzione di un modello numerico in grado di simulare realisticamente il fenomeno osservato in laboratorio.

Il sesto capitolo contiene le conclusioni del lavoro e i possibili sviluppi futuri.

In appendice è riportato il processo di ricerca e definizione dei modelli matematici che sono stati utilizzati per la descrizione della relazione pressione-volume relativa a prove di insufflazione. In questa sezione sono contenute inoltre le nozioni teoriche della modellistica, dell'analisi, della simulazione e del processo di identificazione dei parametri che sono state utilizzate per lo svolgimento delle prove sperimentali.

## INDICE

Abstract.....	3
Introduzione.....	5
Indice.....	7
1 Analisi istologica e morfometrica dell'intestino.....	11
1.1 Caratteristiche comuni.....	12
1.1.1 Mucosa.....	13
1.1.2 Submucosa.....	13
1.1.3 Muscularis externa.....	14
1.2 Intestino tenue.....	14
1.2.1 Villi.....	16
1.2.2 Ghiandole intestinali o cripte di Lieberkühn.....	17
1.2.3 Lamina propria.....	18
1.2.4 Mucosa muscolare.....	18
1.2.5 Epitelio mucosale.....	18
1.2.6 Microvilli.....	20
1.2.7 Assorbimento di nutrienti.....	20
1.2.8 Enterociti.....	22
1.2.9 Cellule caliciformi e ghiandole intestinali.....	23
1.2.10 Cellule di Paneth.....	25
1.2.11 Cellule enteroendocrine.....	26
1.2.12 Cellule M.....	27
1.2.13 Cellule intermedie.....	27
1.2.14 GALT.....	28
1.2.15 Sistema immunitario.....	28
1.2.16 Submucosa.....	29

1.2.17	Muscularis externa.....	30
1.2.18	Serosa .....	31
1.2.19	Rinnovo delle cellule epiteliali nell'intestino tenue .....	32
1.3	Intestino crasso .....	32
1.3.1	Mucosa .....	33
1.3.2	Lamina propria .....	36
1.3.3	Muscularis externa.....	37
1.3.4	Submucosa e serosa .....	38
2	Patologie del tratto gastrointestinale, profilassi e modalità diagnostiche .....	39
2.1	Il cancro del colon.....	39
2.1.1	Epidemiologia.....	39
2.1.2	Il rischio.....	39
2.1.3	Da adenoma a carcinoma.....	40
2.1.4	Prevenzione .....	40
2.2	La capsula endoscopica .....	41
2.3	La colonscopia virtuale .....	43
2.4	La colonscopia tradizionale .....	44
2.5	La capsula endoscopica con apparato autonomo di locomozione .....	45
3	Analisi sperimentale .....	47
3.1	Strumenti utilizzati.....	47
3.2	Anestesia .....	48
3.3	Popolazione di ratti .....	48
3.4	Prassi sperimentale .....	48
3.5	Digitalizzazione dei dati .....	51
3.6	Pre-elaborazione .....	53
3.7	Serie temporali.....	54

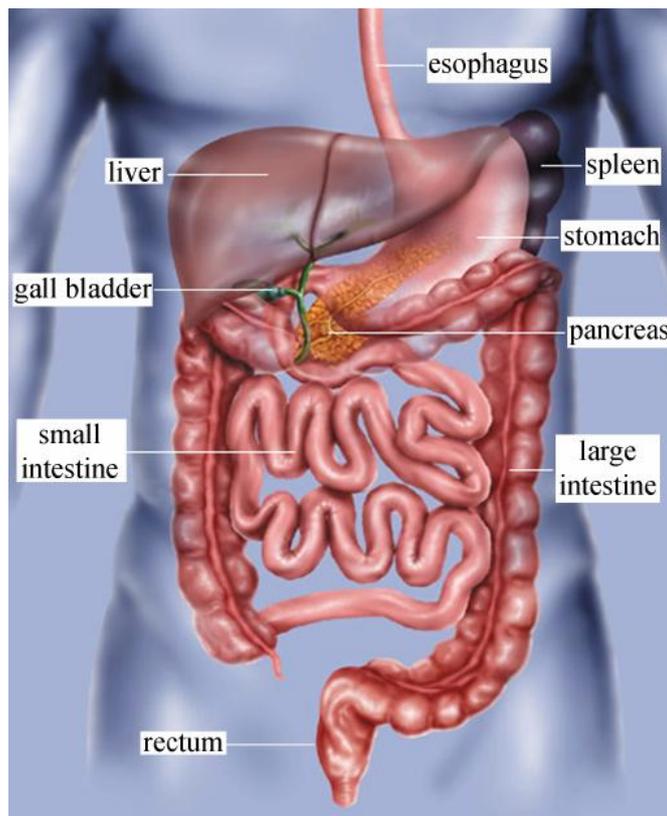
4	Modello fisio-meccanico .....	57
4.1	Relazione pressione-volume .....	57
4.2	Formulazione di un modello rappresentativo di una prova di insufflazione in un campione di intestino .....	57
4.2.1	Modello fisio-meccanico ad integrazione numerica.....	58
4.2.2	Modello fisio-meccanico ad integrazione analitica .....	60
4.3	Analisi della risposta istantanea .....	62
4.3.1	Identificazione dei parametri istantanei del modello fisio-meccanico	64
4.4	Analisi della risposta differita nel tempo .....	66
4.5	Stima dei parametri viscosi .....	69
4.5.1	Scelta del numero di rami viscosi: criterio di parsimonia .....	71
5	Modelli costitutivi .....	73
5.1	Modello costitutivo .....	73
5.2	Modello analitico interpretativo le prove sperimentali .....	76
5.2.1	Identificazione dei parametri costitutivi .....	77
5.3	Modello numerico interpretativo le prove sperimentali.....	80
5.3.1	Validazione dei parametri costitutivi .....	81
6	Conclusioni.....	85
6.1	Possibili sviluppi .....	85
7	Appendice.....	87
7.1	Fase preparatoria .....	87
7.1.1	Generazione di curve virtuali.....	87
7.1.2	Identificazione dei parametri .....	90
7.1.3	Identificazione basata sulla perdita di pressione.....	92
7.1.4	Modalità di insufflazione .....	92
7.2	Trascurabilità degli effetti resistivi .....	96
7.3	Metodo di integrazione numerica a passo implicito di Simo-Hughes .....	98

7.4	Algoritmo di Newton Raphson .....	101
7.4.1	Interpretazione grafica .....	104
7.4.2	Problema della convergenza a punti di minimo locale.....	104
7.4.3	Metodo di Newton-Raphson esteso al contesto pluridimensionale....	105
7.4.4	Complessità computazionale .....	106
	Bibliografia.....	107

# 1 ANALISI ISTOLOGICA E MORFOMETRICA DELL'INTESTINO

Fondamentale per la definizione di strumenti computazionali descrittivi la meccanica dei tessuti biologici e per lo svolgimento di uno studio approfondito della loro interazione con strumenti chirurgici e/o diagnostici, è la conoscenza dettagliata della caratterizzazione meccanica dei tessuti con cui essi dovranno interagire. Questo tipo di informazione da sola tuttavia non è sufficiente per uno studio completo; deve essere infatti integrata con lo studio della complessa organizzazione strutturale, morfologica e istologica dei tessuti costitutivi il tubo digerente, in particolare l'intestino tenue e crasso.

Il tratto gastrointestinale consiste nella cavità orale, bocca, esofago, stomaco, intestino tenue, intestino crasso, retto e ano (Figura 1).



*Figura 1 Rappresentazione dell'apparato gastrointestinale all'interno del corpo umano.*

La sua funzione è quella di ottenere dal cibo ingerito i metaboliti necessari per la crescita e le energie necessarie al corpo. Il primo passo della digestione avviene nella

bocca e nello stomaco, a livello di trasformazione del cibo in componenti semplici. Nell'intestino tenue vengono assorbiti aminoacidi, monosaccaridi ed altre componenti. L'assorbimento di acqua avviene invece nell'intestino crasso, di conseguenza il chimo non digerito diviene semisolido.

### 1.1 Caratteristiche comuni

L'intero tratto gastrointestinale presenta alcune caratteristiche strutturali comuni. Esso consiste cioè in un tubo cavo formato da un lume di diametro variabile circondato da una parete composta da cinque strati principali: la *mucosa* (spessore 395-603  $\mu\text{m}$ ), la *submucosa* (spessore 415-847  $\mu\text{m}$ ), le fasce muscolari circonferenziale e longitudinale (*muscularis externa*) e la *serosa* (Figura 2).

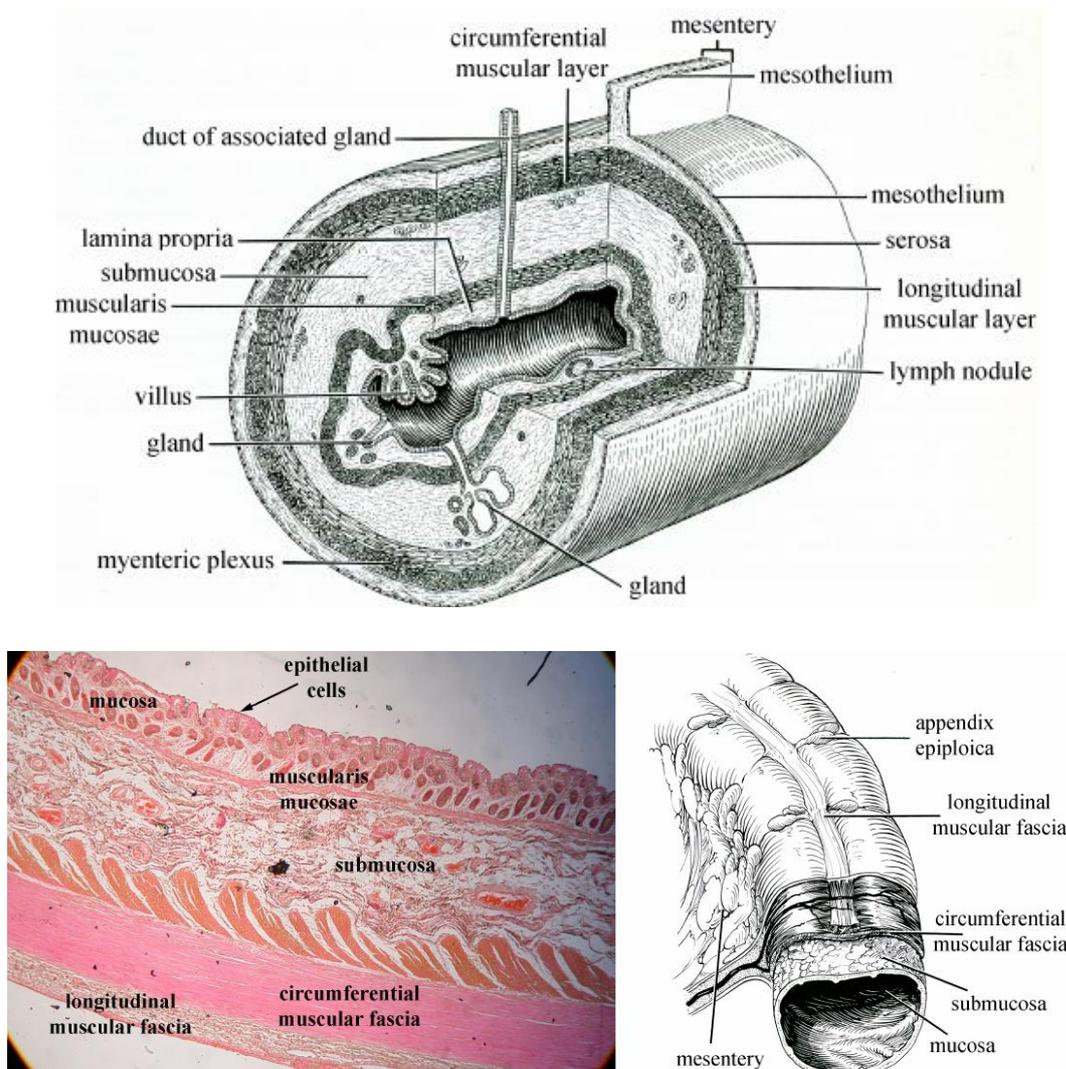


Figura 2 Illustrazioni e immagini al microscopio ottico relative alle diverse stratificazioni del tessuto del tratto gastrointestinale.

### 1.1.1 Mucosa

La mucosa è composta da uno strato epiteliale, una *lamina propria* di tessuto connettivo lasso ricca di vasi linfatici e sanguigni e cellule muscolari lisce, alle volte contenente anche ghiandole e tessuto linfatico. E' inoltre composta da una mucosa muscolare, che consiste in uno strato interno circolare ed uno esterno longitudinale di cellule muscolari lisce che separano la mucosa dalla submucosa.

### 1.1.2 Submucosa

Questo strato è composto principalmente da una fitta rete di fibre di collagene e vasi sanguigni. L'analisi istologica della submucosa è un passo fondamentale nella valutazione della meccanica del colon; essa infatti dà il contributo più significativo tra i vari strati, offrendo una forte resistenza ad una trazione eccessiva della parete intestinale. Come già detto, la componente principale della submucosa è il collagene (in particolare di tipo I e III): la stima della sua frazione in volume è di circa 15-60%. Al contrario della mucosa, che presenta fibrille di collagene molto sottili, nella submucosa si trovano fibrille di collagene organizzate in fibre di diametro variabile tra 1 e 6  $\mu\text{m}$ . Queste fibre di collagene sono disposte seguendo uno schema incrociato in cui possono essere identificati due famiglie: una che si avvolge in senso orario lungo l'intestino e l'altra che si avvolge in senso antiorario (Figura 3).

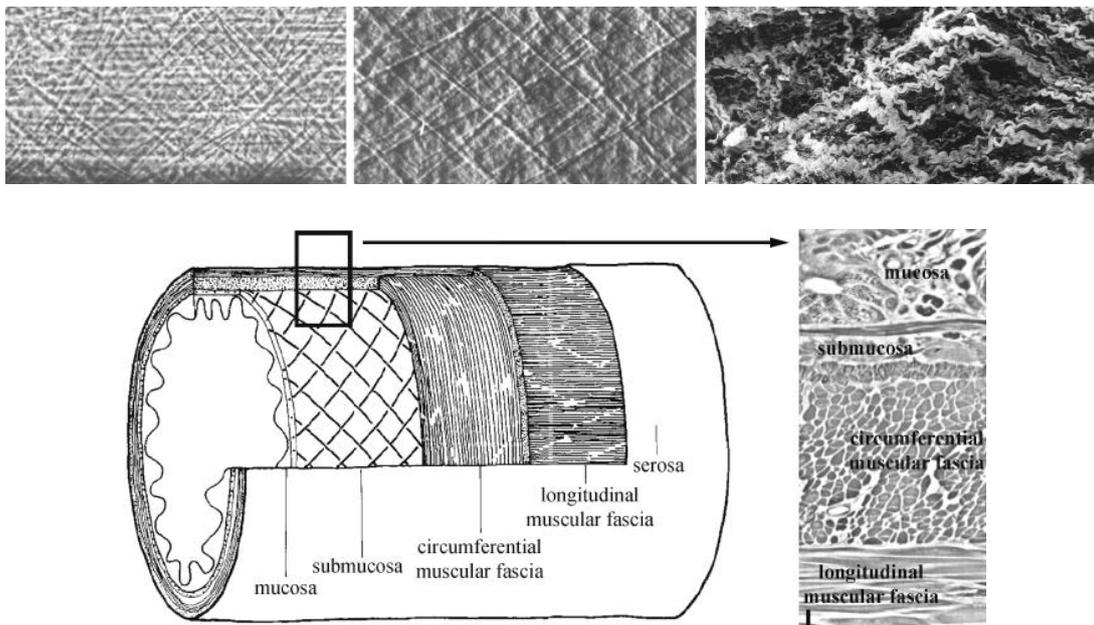


Figura 3 Disposizione a "criss-cross pattern" delle fibre di collagene costitutive il tessuto intestinale.

In letteratura sono stati trovati diversi valori relativamente all'angolo che ogni famiglia di fibre forma rispetto alla direzione longitudinale: Gabella G. (1987) e Yu J et al. (2004) pubblicano  $50-55^\circ$  e  $30^\circ$  rispettivamente. La differenza tra i due valori riportati può essere data dalla distensione del colon effettuata prima della misura. Le fibre delle due famiglie non giacciono in piani differenti, ma si intersecano e si incrociano vicendevolmente.

### **1.1.3 Muscularis externa**

Lo spessore della muscularis externa varia tra 600 e 1010  $\mu\text{m}$ . A causa delle orientazioni preferenziali caratterizzanti la distribuzione di fibre muscolari, è solitamente assunta una configurazione anisotropica per le fasce longitudinale e circonferenziale.

## **1.2 Intestino tenue**

L'intestino tenue è la componente più lunga del tratto intestinale: misura 6 m e si divide in tre porzioni anatomiche:

- Duodeno (~25 cm): è la prima, la più breve e la più ampia parte dell'intestino tenue. Si estende dal piloro alla giunzione duodeno-digiunale.
- Digiuno (~2.5 m): comincia in corrispondenza della giunzione duodeno-digiunale e costituisce i due quinti superiori dell'intestino tenue. Muta gradualmente le sue caratteristiche morfologiche sino a diventare ileo.
- Ileo (~3.5 m): è la continuazione del digiuno e costituisce i tre quinti dell'intestino tenue. Termina con la giunzione ileo-cecale, cioè il punto in cui si uniscono la parte distale dell'ileo e l'intestino cieco.

L'intestino tenue è la porzione principale del tubo digerente in cui avviene la digestione del cibo e l'assorbimento di nutrienti.

Il chimo dallo stomaco entra nel duodeno, dove vengono secreti gli enzimi del pancreas e la bile del fegato per continuare la solubilizzazione e il processo di digestione. Nel glicocalice dei microvilli degli enterociti (ovvero le cellule assorbenti intestinali) sono infatti secreti enzimi, in particolare disaccaridasi e di peptidasi; questi enzimi contribuiscono alla digestione completando la scissione di zuccheri e proteine in monosaccaridi e amminoacidi che vengono poi assorbiti. Vengono inoltre

assorbiti (soprattutto nella sezione distale) anche acqua ed elettroliti che raggiungono l'intestino tenue provenendo dal chimo e da secrezioni pancreatiche ed epatiche.

Pieghe circolari, villi e microvilli aumentano la superficie assorbente dell'intestino tenue.

L'estensione della superficie assorbente dell'intestino tenue è amplificata di molto dalla specializzazione di cellule e tessuti della mucosa e submucosa.

- *Pieghe circolari*, conosciute anche come “valvole di Jerckring” (Figura 4), sono pieghe trasversali permanenti che contengono un nucleo di submucosa. Hanno forma circolare e si estendono per più di metà della circonferenza del lume.

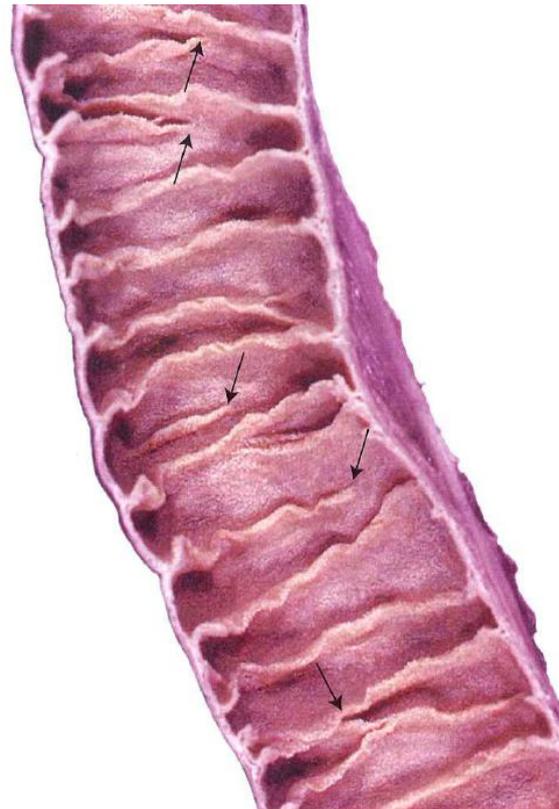


Figura 4 Le frecce indicano le pieghe circolari presenti nell'intestino tenue.

Le pieghe cominciano ad apparire da 5-6 cm sotto il piloro e sono più numerose nella parte distale del duodeno o nella parte iniziale del digiuno. Sono invece più piccole e meno frequenti nella parte centrale dell'ileo.

- I *villi* sono protrusioni (uniche, digitiformi o a foglia) della mucosa che si estendono dalla superficie teorica mucosale per 0.5-1.5 mm nel lume (Figura 5).

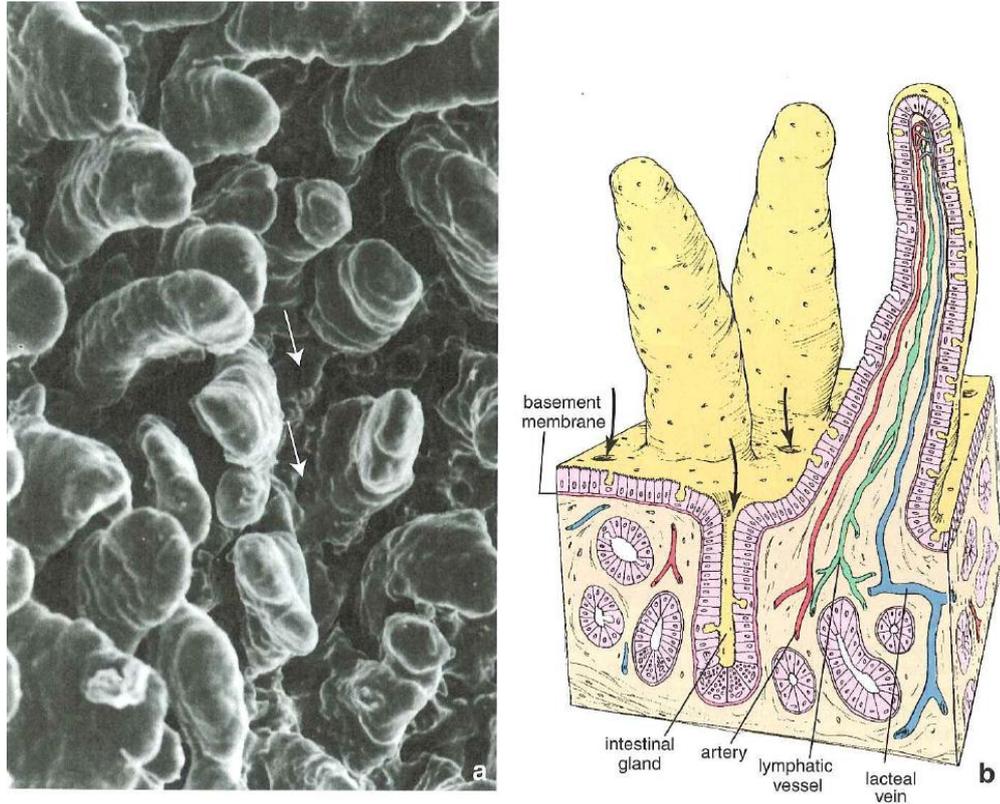


Figura 5 Immagine da microscopio elettronico e schematizzazione grafica dei villi intestinali presenti nell'intestino tenue.

Essi coprono completamente la superficie dell'intestino tenue, conferendogli un aspetto vellutato.

- I *microvilli* degli *enterociti* forniscono la maggiore amplificazione alla superficie luminale. Ogni cellula possiede infatti svariate migliaia di microvilli ravvicinati. Essi sono visibili tramite microscopio ottico e conferiscono alla regione apicale della cellula un'aspetto striato meglio conosciuto come "bordo striato". Gli enterociti e i rispettivi microvilli sono descritti nel seguito.

I villi, le ghiandole intestinali, assieme alla lamina propria, il *tessuto linfoide intestinale* (GALT) e la mucosa muscolare costituiscono le caratteristiche essenziali della mucosa dell'intestino tenue.

### 1.2.1 Villi

Come accennato i villi sono sporgenze della mucosa. Consistono in un nucleo di tessuto connettivo lasso coperto da un semplice strato di epitelio colonnare. Il nucleo dei villi è un'estensione della lamina propria, la quale contiene numerosi fibroblasti,

cellule muscolari lisce, linfociti, cellule plasmatiche, eosinofili, macrofagi e una rete di capillari fenestrati, posti appena sotto la lamina basale dell'epitelio. La lamina propria dei villi contiene un capillare linfatico chiuso detto *vaso linfatico latteale* (Figura 6).

Le cellule muscolari lisce derivano dall'estensione della mucosa muscolare nei villi e accompagnano il latteale; esse possono essere ritenute responsabili della contrazione intermittente dei villi, azione che potrebbe indurre la linfa al trasferimento nella rete di vasi linfatici che circonda la mucosa muscolare.

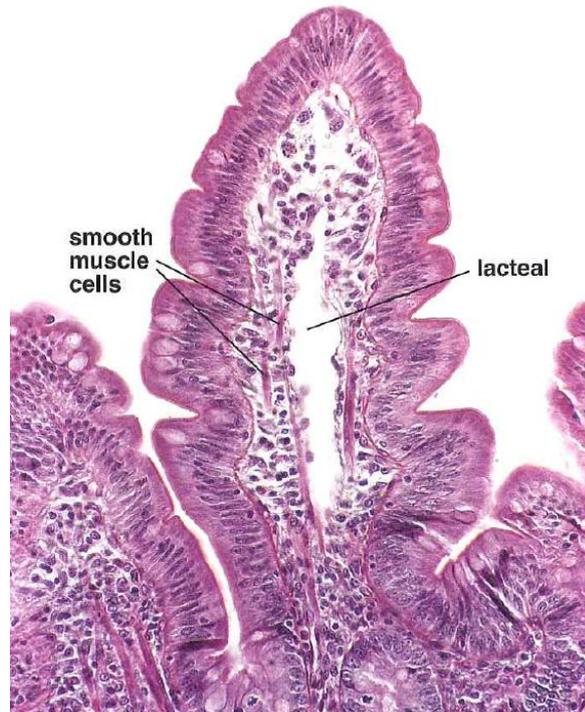


Figura 6 Sezione trasversale di un villo, in cui sono ben visibili vasi linfatici latteali e cellule muscolari lisce

### 1.2.2 Ghiandole intestinali o cripte di Lieberkühn

Le ghiandole intestinali sono semplici strutture tubolari che si estendono dalla mucosa muscolare attraverso lo spessore della lamina propria, dove si aprono sulla superficie luminale dell'intestino alla base dei villi (Figura 7).

Le ghiandole sono composte di un semplice strato di epitelio colonnare che continua dall'epitelio dei villi.

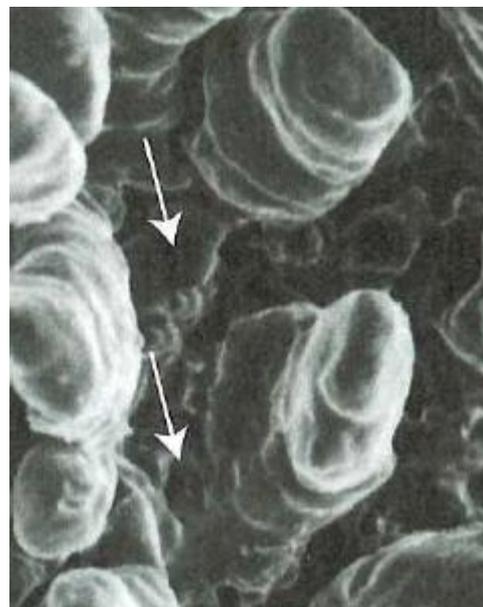


Figura 7 Immagine da microscopia elettronica. Le frecce indicano le ghiandole intestinali presenti nella superficie interna del tessuto epiteliale dell'intestino tenue.

### 1.2.3 Lamina propria

Come nello stomaco, la lamina propria circonda le ghiandole intestinali e contiene numerose cellule del GALT (linfociti, cellule plasmatiche, mastociti, macrofagi ed eosinofili); contiene altresì numerosi noduli di tessuto linfatico che rappresentano la componente principale del sistema immunitario intestinale. I noduli sono particolarmente grandi e frequenti nell'ileo, dove sono posti preferibilmente sul lato dell'intestino opposto al fissaggio mesenterico. Queste aggregazioni nodulari sono note anche con il nome di *noduli aggregati* o *placche di Peyer* (Figura 8).

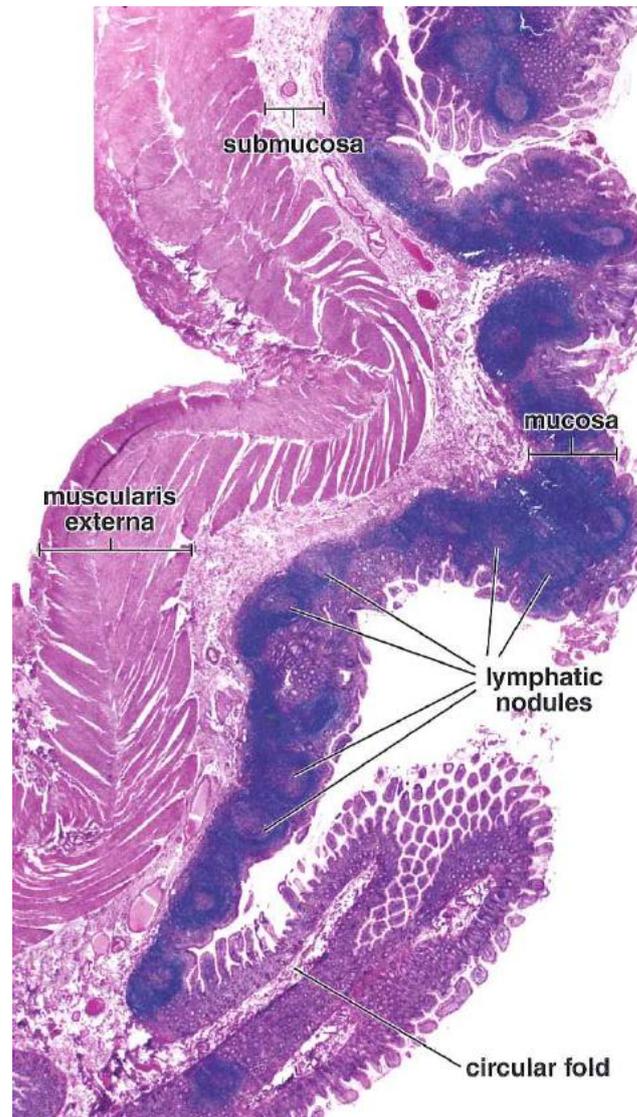


Figura 8 Sezione longitudinale della parete intestinale dell'intestino ileo, in cui sono ben visibili le placche di Peyer.

### 1.2.4 Mucosa muscolare

La mucosa muscolare è composta da due strati sottili di cellule muscolari lisce: uno strato interno circolare ed uno esterno longitudinale. Come menzionato in precedenza, filamenti di cellule muscolari lisce si estendono dalla mucosa muscolare nella lamina propria dei villi.

### 1.2.5 Epitelio mucosale

Nell'epitelio mucosale intestinale sono stati trovati almeno cinque tipi di cellule; esse si trovano sia nelle ghiandole intestinali che sulla superficie dei villi. I principali tipi sono:

- Analisi istologica e morfometrica dell'intestino -

- *Enterociti* (Figura 9), sono specializzati per il trasporto di sostanze dal lume intestinale al sistema circolatorio, sono lunghe cellule colonnari con nucleo posto alla base, la cui funzione principale è l'assorbimento di nutrienti;

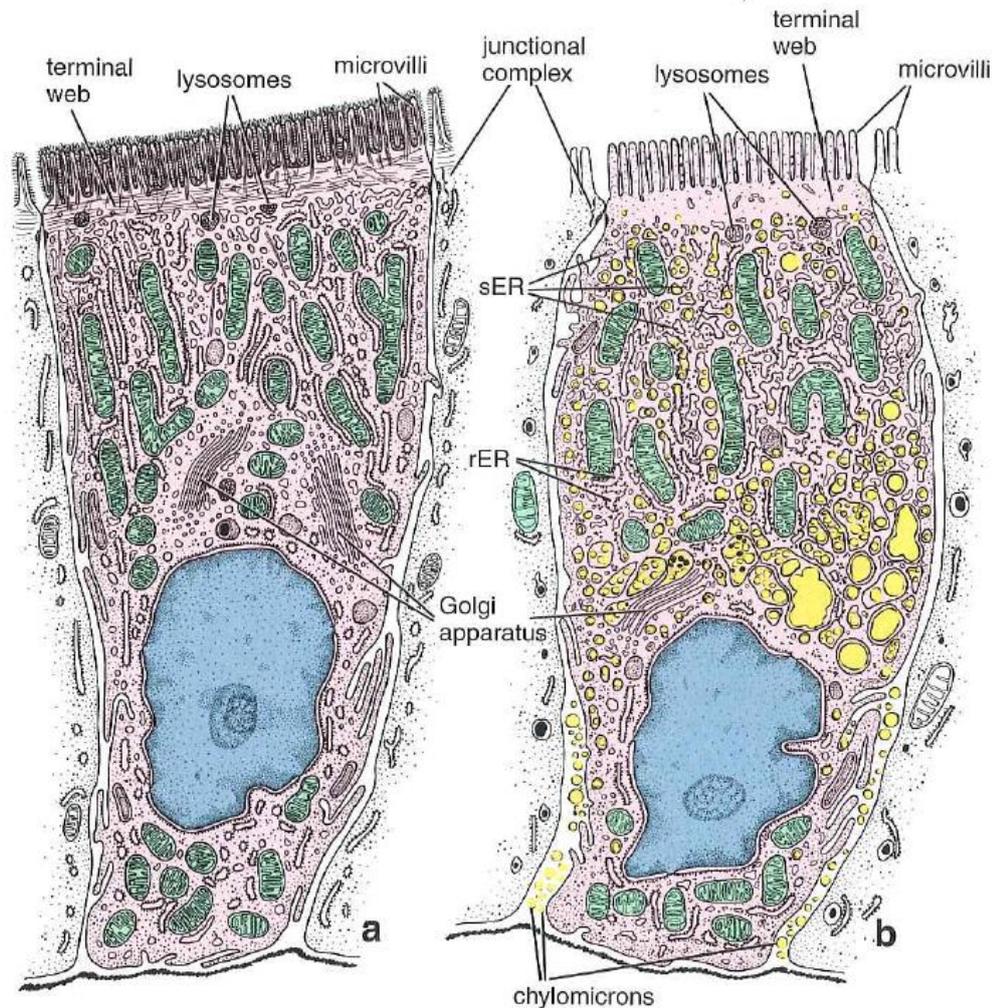


Figura 9 Rappresentazione di enterociti durante diverse fasi dell'assorbimento.

- *Cellule caliciformi*, ghiandole unicellulari secernenti di mucina;
- *Cellule di Paneth*, la cui funzione principale è di mantenere l'immunità mucosale secernendo sostanze antimicrobiche;
- *Cellule enteroendocrine*, le quali producono vari ormoni paracrini ed endocrini;
- *Cellule M*, enterociti modificati che coprono noduli linfatici ingranditi nella lamina propria.

### **1.2.6 Microvilli**

I microvilli aumentano la superficie apicale di circa 600 volte e sono riconoscibili al microscopio ottico formando il tipico bordo striato sulla superficie luminale. Ogni microvillo ha un nucleo orientato verticalmente formato da microfilamenti di actina ancorati da una parte alla villina presente all'estremità del microvillo e dall'altra alla membrana plasmatica tramite molecole di miosina I. I filamenti di actina si estendono nel citoplasma apicale e si inseriscono nella *rete terminale*: una rete di microfilamenti contrattili orizzontali che forma uno strato nel citoplasma apicale e che si attacca alla densità intracellulare associata alla zonula aderente. La contrazione della rete terminale causa la separazione dei microvilli che, distanziandosi, aumentano la superficie esposta disponibile per l'assorbimento. La contrazione della rete terminale può inoltre aiutare la chiusura dei buchi nel foglio epiteliale esfoliando le cellule invecchiate. Gli enterociti sono legati l'uno all'altro e alle cellule caliciformi, enteroendocrine e altre cellule dell'epitelio tramite complessi di giunzione.

### **1.2.7 Assorbimento di nutrienti**

Giunzioni con rigidità variabile costituiscono una barriera tra il lume intestinale e il compartimento epiteliale intercellulare. Queste giunzioni situate tra il lume e il compartimento di tessuto connettivo del corpo, consentono una ritenzione selettiva delle sostanze assorbite dagli enterociti.

Nelle giunzioni relativamente impermeabili, come nell'ileo e nel colon, è necessario un trasporto attivo per spostare i soluti attraverso la barriera. Più semplicemente, meccanismi di trasporto attivo (es: pompa sodio-potassio) posti nella membrana plasmatica laterale, riducono gradualmente la concentrazione di ioni  $\text{Na}^+$  trasportandoli attraverso la membrana, nello spazio oltre la giunzione. Questo trasporto genera un'alta concentrazione di ioni  $\text{Na}^+$  nello spazio intercellulare, provocando l'entrata di acqua dalla cellula allo spazio intracellulare, riducendo la concentrazione d'acqua e di sodio all'interno della cellula. Di conseguenza, l'acqua e gli ioni sodio entrano nella cellula in corrispondenza della superficie apicale, passando attraverso la cellula ed uscendo dalla membrana plasmatica laterale finché la pompa sodio-potassio continua a funzionare. L'osmolarità aumentata nello spazio

intercellulare preleva l'acqua presente, generando una pressione idrostatica che trasporta sodio e acqua attraverso la lamina basale nel tessuto connettivo.

Nell'epitelio con giunzioni più permeabili, come nel duodeno e nel digiuno, una pompa di sodio stabilisce una bassa concentrazione di ioni sodio nello spazio intracellulare. Quando i contenuti che passano nel duodeno/digiuno sono ipotonici, comunque, ha luogo un considerevole assorbimento d'acqua, assieme a ioni  $\text{Na}^+$  e altri soluti direttamente attraverso le giunzioni degli enterociti nello spazio intercellulare. Questo meccanismo di assorbimento è chiamato trasporto a solvente.

Oltre a quelli descritti, esistono altri meccanismi di trasporto che aumentano la concentrazione di sostanze specifiche come zuccheri, amminoacidi e altri soluti nello spazio intercellulare. Queste sostanze si diffondono nello spazio intercellulare per

attraversare la lamina epiteliale basale ed entrare nei capillari fenestrati della lamina propria situata immediatamente sotto l'epitelio. Le sostanze che sono troppo grandi per entrare nei vasi sanguigni (come le lipoproteine) entrano nel vaso linfatico latteale.



*Figura 10 Accostamento di due eritrociti in cui è ben visibile l'interdigitazione delle pareti laterali.*

La superficie laterale degli enterociti mostra delle pieghe elaborate e appiattite che si interdigitano con quelle delle cellule adiacenti (Figura 10).

Queste pieghe aumentano la superficie laterale della cellula e quindi aumentano la quantità di membrana plasmatica contenente enzimi di trasporto. Durante l'assorbimento attivo (specialmente di soluti, acqua e lipidi) queste pieghe laterali si separano, allargando il compartimento intercellulare, la pressione idrostatica aumenta e causa un flusso attraverso la lamina basale, verso la lamina propria (Figura 11).

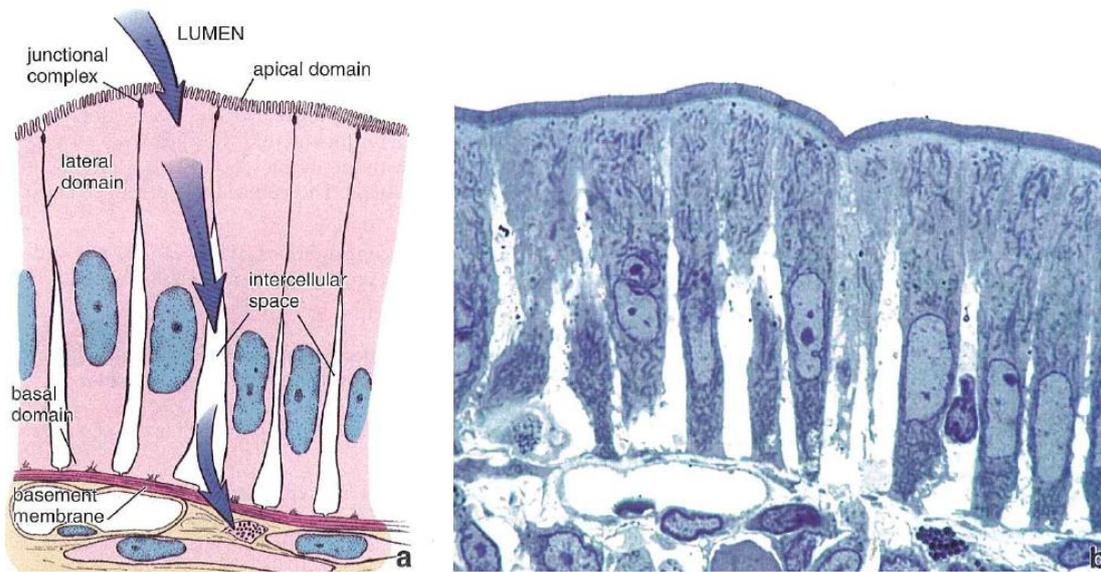


Figura 11 Aumento della superficie laterale della cellula grazie alla separazione delle pieghe laterali.

### 1.2.8 Enterociti

Oltre alle specializzazioni della membrana associate all'assorbimento e al trasporto, gli enterociti sono anche specializzati in altre funzioni. I mitocondri allungati che forniscono energia per il trasporto sono concentrati nel citoplasma apicale tra la rete terminale e il nucleo. Tubuli e cisterne del reticolo endoplasmatico liscio (che sono direttamente coinvolti nell'assorbimento di acidi grassi e gliceroli e nella sintesi di grassi neutri) si trovano nel citoplasma apicale, sotto la rete terminale.

Gli enterociti sono anche cellule secrete, producendo enzimi (necessari per la digestione terminale e l'assorbimento) e secernendo acqua ed elettroliti.

La funzione secretoria degli enterociti (cioè la sintesi di enzimi glicoproteici che saranno inseriti nella membrana plasmatica apicale) è rappresentata

morfologicamente da una pila di cisterne di Golgi allineate nella regione immediatamente superiore al nucleo e dalla presenza di ribosomi liberi e reticolo endoplasmatico rugoso sull'apparato di Golgi. Subito sotto la rete terminale, e lungo la membrana plasmatica laterale, sono disposte piccole vescicole secretorie contenenti glicoproteine destinate alla superficie cellulare. Queste vescicole sono particolarmente difficili da individuare, in quanto sono necessari metodi istochimici o autoradiografici per distinguerle da vescicole endocitotiche o da piccoli lisosomi.

### 1.2.9 Cellule caliciformi e ghiandole intestinali

L'intestino tenue secerne anche acqua ed elettroliti. Questa attività avviene prevalentemente in cellule all'interno di ghiandole intestinali. Si pensa che la secrezione che avviene in queste ghiandole assista il processo di digestione e assorbimento, mantenendo un appropriato stato liquido del chimo intestinale. In condizioni normali, l'assorbimento di fluido da parte degli enterociti dei villi è bilanciato dalla secrezione di fluido delle ghiandole.

Le cellule caliciformi rappresentano le ghiandole unicellulari che sono alternate alle altre cellule dell'epitelio intestinale.

Come negli altri epitelii, le cellule caliciformi producono muco. Nell'intestino tenue, le cellule caliciformi aumentano in numero dal duodeno alla parte terminale

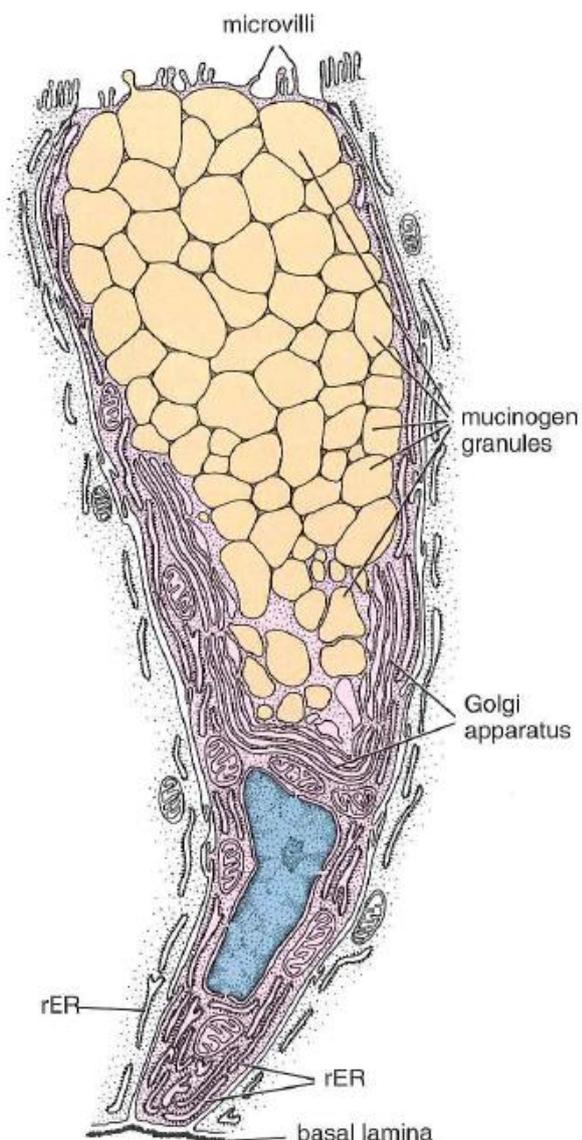
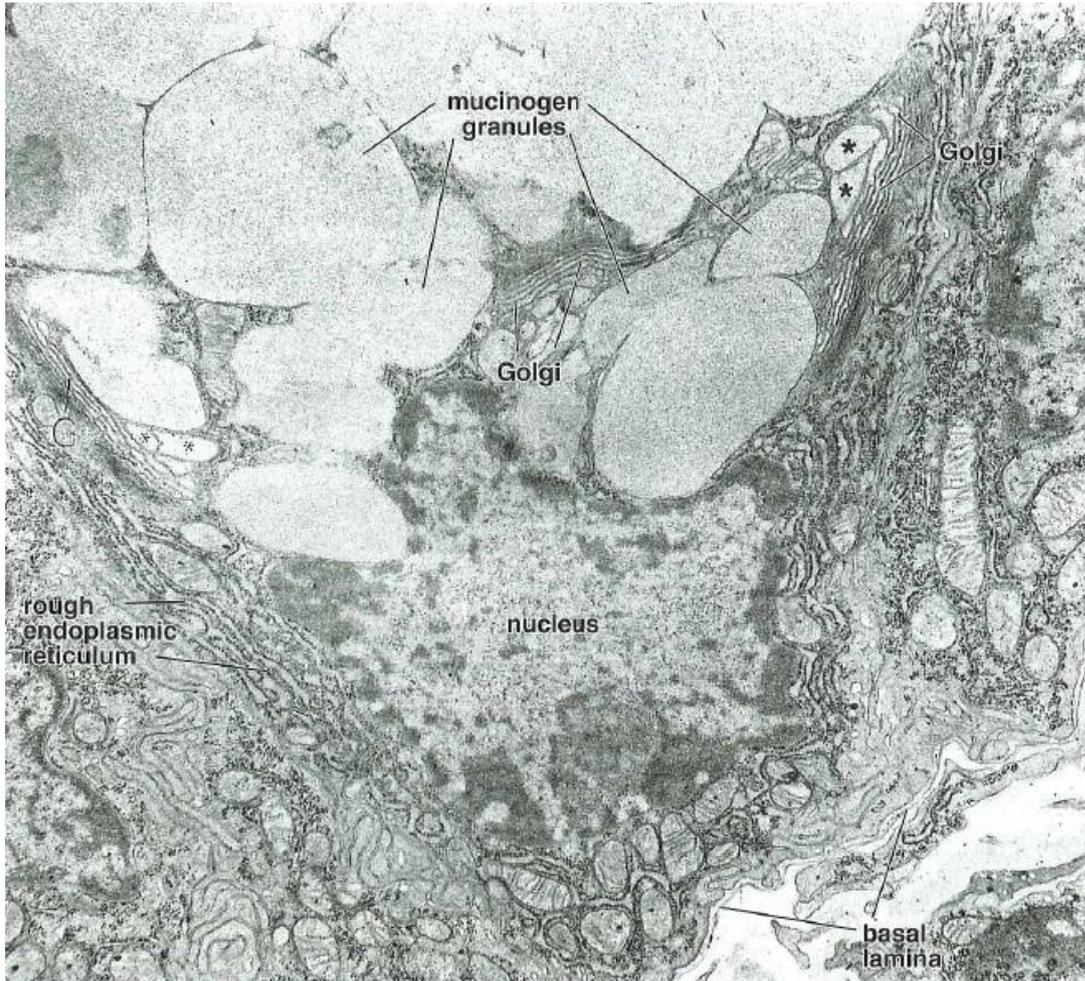


Figura 12 Schematizzazione di una cellula caliciforme.

dell'ileo. Come negli altri epitelii, siccome il mucinogeno è stato perso durante la preparazione di sezioni EE (Ematossilina Eosina), la parte di cellula che normalmente contiene granuli di mucinogeno appare vuota. Le immagini da microscopio a trasmissione di elettroni (TEM, Figura 13) mostrano un accumulo di granuli di mucinogeno nel citoplasma apicale che distende l'apice delle cellule e distorce la forma delle cellule vicine.



*Figura 13 Immagine da microscopio a trasmissione di elettroni (TEM) rappresentativa una cellula caliciforme.*

Mentre l'apice della cellula contiene molti granuli di mucinogeno, la porzione basale della cellula assomiglia ad uno stelo stretto (Figura 12). Questa porzione basale è basofila nelle preparazioni istologiche, in quanto è occupata da nuclei eterocromatici, un vasto reticolo endoplasmatico rugoso e ribosomi liberi. Anche i mitocondri sono concentrati nel citoplasma basale. La forma caratteristica, con l'accumulo apicale di granuli e lo stelo stretto alla base, conferiscono appunto il

nome “caliciforme” alla cellula. Una vasta schiera di cisterne di Golgi appiattite va a formare una coppa attorno ai granuli di mucinogeno neo-formati adiacenti alla base della cellula.

I microvilli delle cellule caliciformi sono confinati ad un sottile cerchio di citoplasma (la *teca*) che circonda la porzione apicale-laterale dei granuli di mucinogeno. I microvilli sono più evidenti sulle cellule caliciformi immature nella metà inferiore delle ghiandole intestinali.

### 1.2.10 Cellule di Paneth

Le cellule di Paneth giocano un ruolo fondamentale nella regolazione della flora batterica dell'intestino tenue. Si trovano alla base delle ghiandole intestinali (Figura 14), hanno un citoplasma basale basofilico, un apparato di Golgi soprannucleare e un grosso granulo secretorio apicale acidofilico. Questi granuli sono facilmente riconoscibili in sezioni istologiche ordinarie.

I granuli secretori contengono enzimi

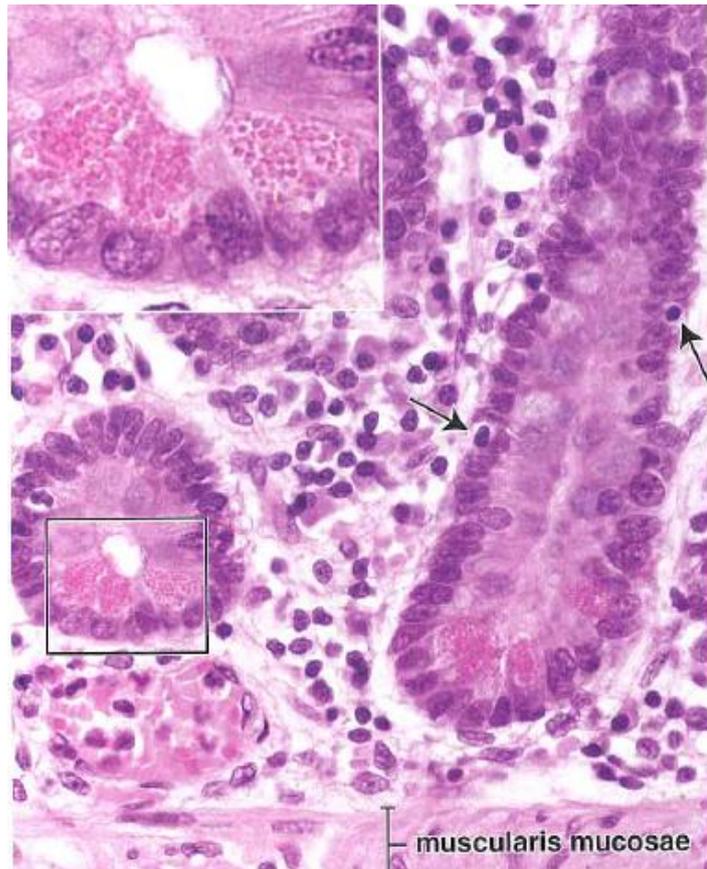


Figura 14 Sezione istologica di due ghiandole intestinali: trasversale (a sinistra) e longitudinale (a destra). Nel riquadro e nella parte inferiore della ghiandola di destra si possono notare le cellule di Paneth con un pigmento diverso.

antibatterici, lisozimi,  $\alpha$ -defensine, altre glicoproteine, proteine ricche di arginina (probabilmente responsabili dell'acidofilia) e zinco. I lisozimi digeriscono le pareti cellulari di alcuni tipi di batteri. Le  $\alpha$ -defensine sono omologhe a peptidi che funzionano da mediatori in linfociti CD8<sup>+</sup> T. Questa azione antibatterica delle cellule di Paneth e la loro capacità di fagocitare alcuni tipi di batteri e protozoi, suggerisce

che esse giocano un ruolo fondamentale nel regolare la naturale flora batterica intestinale dell'intestino tenue.

### 1.2.11 Cellule enteroendocrine

Le cellule enteroendocrine nell'intestino tenue svolgono la stessa funzione che avevano nello stomaco, producendo in gran parte gli stessi ormoni peptidici.

Le cellule enteroendocrine (Figura 15) nell'intestino tenue assomigliano a quelle dello stomaco. Sono concentrate nella porzione inferiore della ghiandola intestinale, ma si spostano lentamente e possono essere trovate a tutti i livelli di ogni villo.

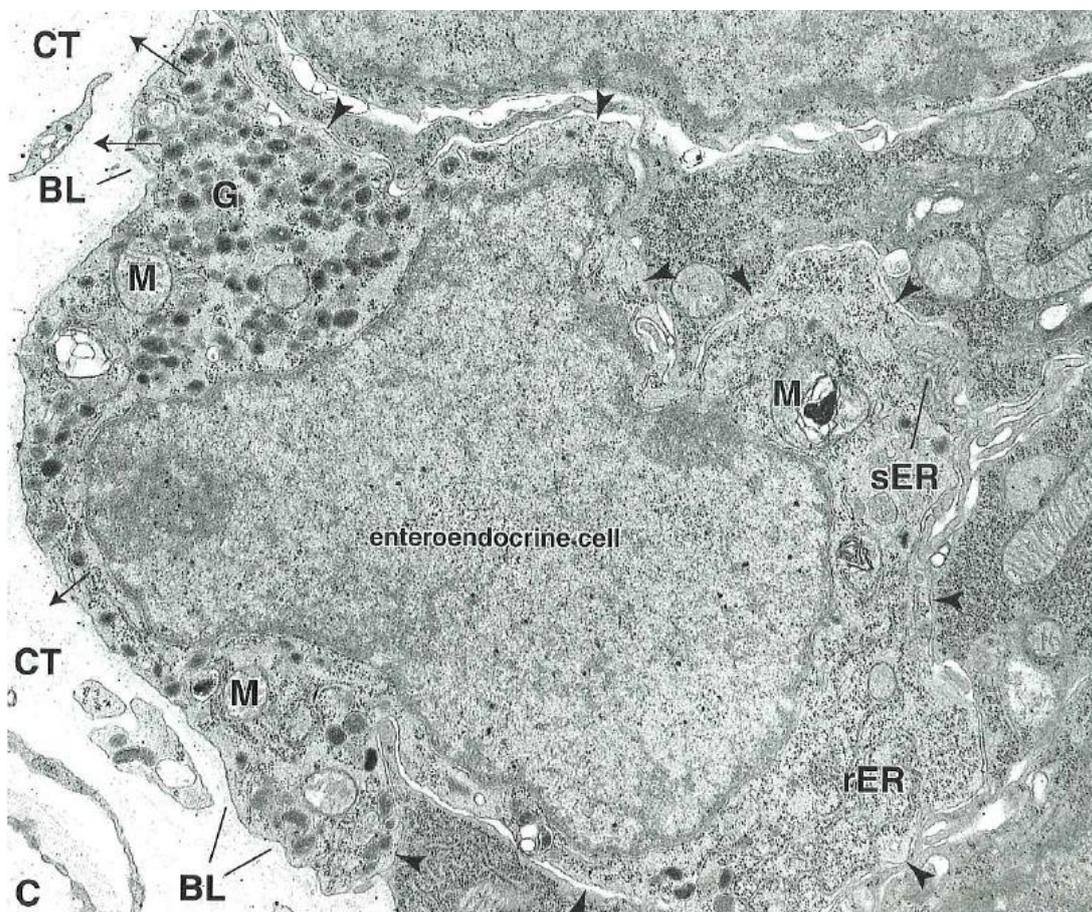


Figura 15 Micrografia elettronica di una cellula enteroendocrina del colon. Si possono distinguere: lamina basale (BL), granuli (G), tessuto connettivo (CT), capillari (C), mitocondri (M), reticolo endoplasmatico rugoso (rER) e reticolo endoplasmatico liscio (sER).

I regolatori più attivi della fisiologia gastrointestinale che sono rilasciati in questo tratto di intestino sono *colecistochina* (CCK), *secretina*, *peptide inibitorio gastrico* (GIP) e *motilina*. CCK e secretina aumentano l'attività del pancreas e della

cistifellea, mentre inibiscono la secrezione di succhi gastrici e la loro motilità. GIP stimola la secrezione di insulina nel pancreas e la motilina è alla base della motilità gastrica ed intestinale. Sebbene siano stati isolati altri peptidi prodotti dalle cellule enteroendocrine, essi non sono considerati ormoni e vengono quindi chiamati *ormoni candidati*. Le cellule enteroendocrine producono almeno due ormoni: *somatostatina* e *istamina*. Essi fungono da ormoni paracrini, cioè ormoni che hanno un effetto locale e non circolano nel flusso sanguigno. Le cellule nervose situate nella submucosa e nella muscularis externa producono inoltre svariati peptidi. Questi peptidi, chiamati *ormoni neurocrini*, sono rappresentati da *peptide intestinale vasoattivo* (VIP), *bombesina* e le *encefaline*.

### **1.2.12 Cellule M**

Le cellule M trasmettono microorganismi e altre macromolecole dal lume intestinale alle placche di Peyer.

Le cellule M sono cellule epiteliali che si sovrappongono alle placche di Peyer e ad altri grandi noduli linfatici; differiscono sostanzialmente dalle cellule epiteliali intestinali circostanti. Esse sono infatti prive di microvilli: sono dotate piuttosto di micropieghe sulla superficie apicale, e catturano microorganismi e macromolecole dal lume in vescicole endocitotiche. Queste vescicole sono trasportate alla membrana baso-laterale dove scaricano il proprio contenuto nello spazio intercellulare nelle vicinanze di linfociti CD4<sup>+</sup> T. Così, le sostanze che hanno accesso al corpo dal lume intestinale attraverso le cellule M vengono a contatto con le cellule del sistema immunitario non appena raggiungono la superficie basolaterale. Antigeni che raggiungono i linfociti in questo modo, stimolano una risposta del GALT che verrà descritta più avanti.

### **1.2.13 Cellule intermedie**

Le cellule intermedie hanno caratteristiche comuni alle cellule immature assorbenti e caliciformi.

Le cellule intermedie costituiscono la maggior parte delle cellule nella metà inferiore delle ghiandole intestinali. Queste cellule sono ancora in grado di dividersi e solitamente subiscono una o due divisioni prima di differenziarsi in cellule assorbenti o caliciformi. Esse hanno microvilli corti ed irregolari con lunghi filamenti che si

estendono in profondità nel citoplasma apicale e molte giunzioni maculari desmosomiche con le cellule adiacenti. Al centro del citoplasma soprannucleare, piccoli granuli secretori formano una colonna. Le cellule intermedie che si differenzieranno in cellule caliciformi sviluppano un piccolo insieme di granuli secretori appena sotto la membrana plasmatica apicale; quelle che invece sono destinate a differenziarsi in cellule assorbenti perdono i granuli secretori e cominciano a mostrare delle concentrazioni di mitocondri, reticoli endoplasmatici rugosi e ribosomi nel citoplasma apicale.

#### **1.2.14 GALT**

Il GALT è evidente nella lamina propria dell'intestino tenue.

Come menzionato sopra, la lamina propria del tratto intestinale è densamente popolata da elementi del sistema immunitario; circa un quarto della mucosa è infatti formata da uno strato disorganizzato di noduli linfatici, linfociti, macrofagi, cellule plasmatiche, eosinofili nella lamina propria. I linfociti sono inoltre posti fra le cellule epiteliali. Il GALT ha la funzione di barriera immunitaria lungo il tratto intestinale. Assieme alle cellule epiteliali sovrapposte (in particolare M cellule), il tessuto linfatico campiona gli antigeni negli spazi intracellulari epiteliali. I linfociti assieme ad altre cellule dotate di antigeni, elaborano gli antigeni e migrano ai noduli linfatici nella lamina propria dove subiscono attivazione che conduce alla secrezione di anticorpi da parte delle cellule plasmatiche neo-differenziate.

#### **1.2.15 Sistema immunitario**

La maggior parte delle cellule plasmatiche nella lamina propria intestinale secernono immunoglobulina dimerica A (dIgA) piuttosto che la più comune immunoglobulina G (IgG); altre cellule plasmatiche producono IgM e IgE. L'IgA è trasportata attraverso l'epitelio, collegata ad una componente glicoproteica secretoria che è sintetizzata dagli enterociti e inserita nella membrana plasmatica basale come recettore per IgA. Il complesso di IgA e componente secretoria entra nelle cellule epiteliali per endocitosi a livello della membrana plasmatica basale e viene quindi rilasciata dalla cellula nel lume intestinale per esocitosi in corrispondenza della membrana plasmatica apicale.

Nel lume l'IgA lega con gli antigeni, le tossine e i microorganismi. L'IgA secretoria (sIgA) è la molecola principale di immunità mucosale ed è l'unico isotipo immunoglobulinico che può essere passato selettivamente attraverso la parete mucosale per raggiungere il lume intestinale. Alcune delle IgE legano con la membrana plasmatica dei mastociti nella lamina propria, sensibilizzandola selettivamente a specifici antigeni derivati dal lume.

### 1.2.16 Submucosa

Una caratteristica distintiva del duodeno è la presenza di ghiandole submucosali.

La submucosa consiste in uno strato di un denso tessuto connettivo lasso, con zone contenenti aggregati di cellule adipose. Una caratteristica evidente nel duodeno è la presenza di ghiandole submucosali, dette anche ghiandole di Brunner (Figura 17).

Le ghiandole tubolari ramificate della submucosa hanno cellule che secernono muco e zimogeno.

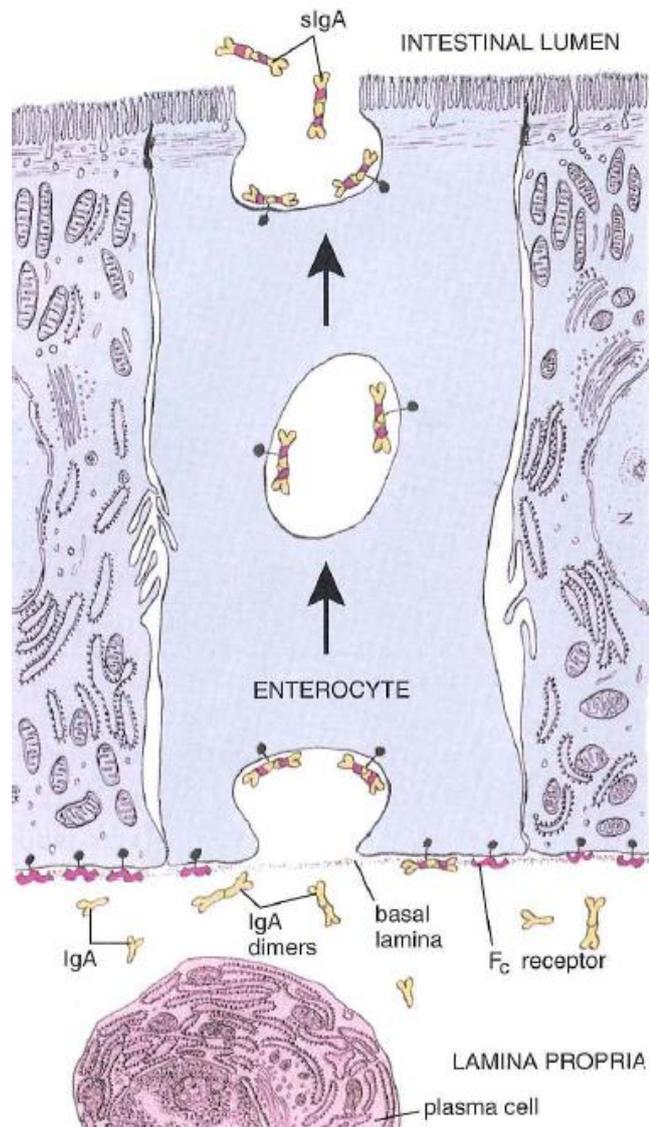


Figura 16 Diagramma di secrezione e trasporto dell'IgA.

Il secreto di queste ghiandole ha un pH compreso tra 8.1 e 9.3 e contiene glicoproteine neutre, glicoproteine alcaline e ioni bicarbonato. Questa soluzione altamente alcalina probabilmente ha lo scopo di proteggere la parete prossimale dell'intestino, neutralizzando il chimo acido che riceve; il suo compito è infatti quello di portare i contenuti intestinali al pH ottimale per gli enzimi pancreatici che vengono secreti nel duodeno.

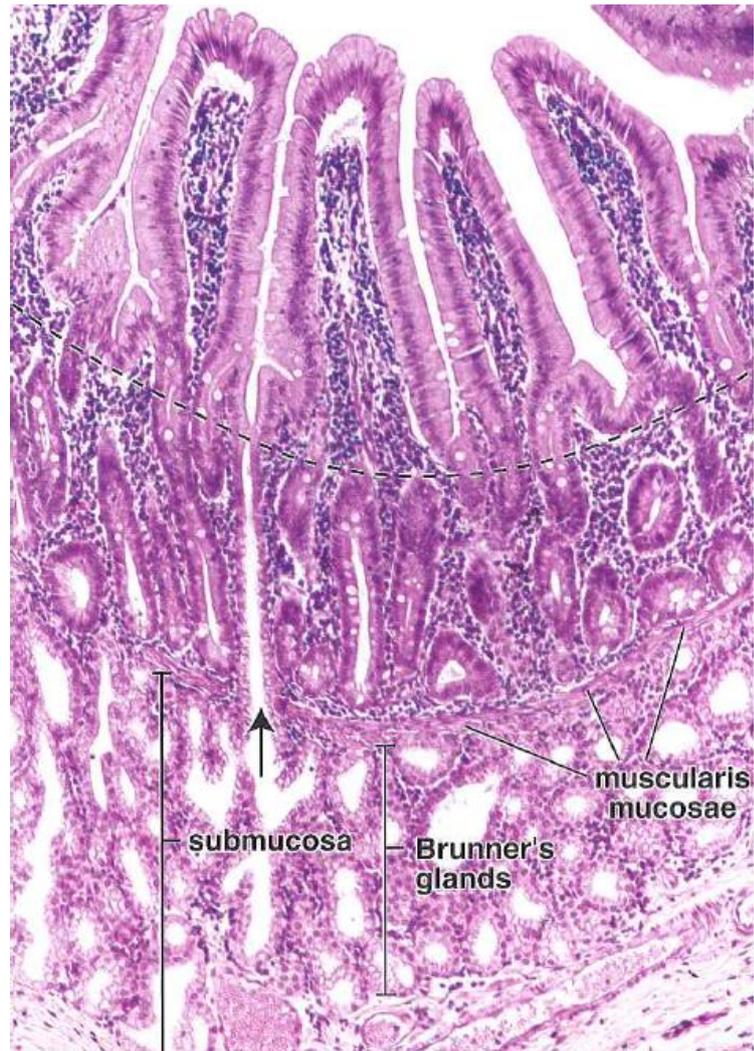


Figura 17 Ghiandole di Brunner presenti nel duodeno.

### 1.2.17 Muscularis externa

La muscularis externa consiste in due strati di cellule muscolari lisce: uno interno con cellule disposte circolarmente ed uno esterno con cellule muscolari lisce longitudinalmente. La componente principale del plesso mioenterico (o plesso di Auerbach, rappresentato in Figura 18) è posta tra questi due strati muscolari.

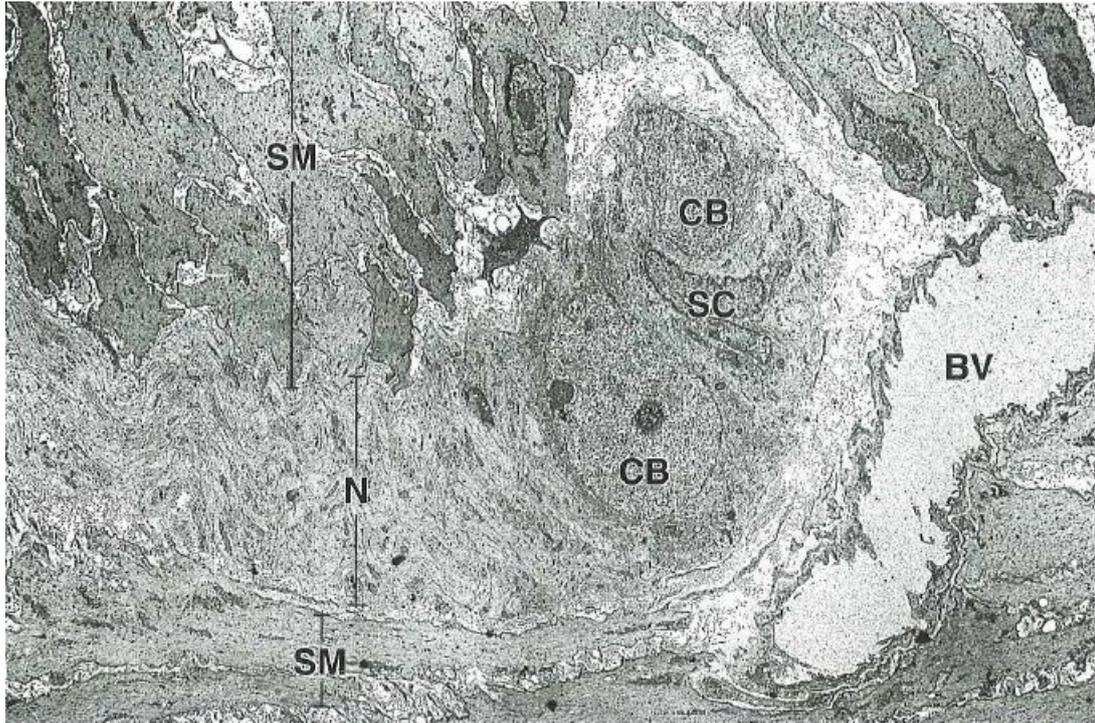


Figura 18 Micrografia elettronica del plesso mioenterico. Si possono distinguere: muscolo liscio (SM), corpi di cellule nervose (CB), fibre nervose (N), una cellula satellite (SC), vasi sanguigni (BV).

Si verificano due tipi di contrazione nell'intestino tenue. Le contrazioni locali spostano il contenuto intestinale sia in direzione prossimale che distale, questo tipo di contrazione è chiamata *segmentazione*; queste contrazioni coinvolgono principalmente lo strato muscolare circolare e servono a diffondere il chimo localmente, mescolandolo con i succhi gastrici e spostandolo a contatto con la mucosa per l'assorbimento. La *peristalsi*, il secondo tipo di contrazione, coinvolge lo strato muscolare longitudinale e sposta il contenuto intestinale prevalentemente in direzione distale.

### 1.2.18 Serosa

La serosa è la parte dell'intestino tenue disposta intraperitonealmente nella cavità addominale. Essa secreta il fluido sieroso, che lubrifica la superficie esterna dell'intera struttura tubolare riducendo considerevolmente gli attriti tra le diverse anse del tubo digerente e tra il tubo digerente e la parete addominale.

### **1.2.19 Rinnovo delle cellule epiteliali nell'intestino tenue**

Tutte le cellule mature dell'epitelio intestinale derivano da un'unica popolazione di cellule staminali.

Le cellule staminali sono poste alla base della ghiandola intestinale. La zona di replicazione cellulare è confinata alla metà inferiore della ghiandola. Una cellula destinata a diventare una cellula caliciforme o assorbente solitamente subisce molte suddivisioni dopo aver lasciato il gruppo di cellule staminali. Le cellule epiteliali migrano verso l'alto nella ghiandola intestinale fino al villo e si staccano sulla punta del villo. Studi autoradiografici hanno mostrato che il tempo di rinnovo per le cellule assorbenti e caliciformi nell'intestino umano sono di 5-6 giorni.

Anche le cellule enteroendocrine e le cellule di Paneth provengono dalle cellule staminali alla base delle ghiandole intestinali. Le cellule enteroendocrine sembrano dividersi solo una volta prima di differenziarsi. Migrano come le cellule assorbenti e quelle caliciformi, ma ad una velocità inferiore. Le cellule di Paneth, invece, non migrano; rimangono alla base della ghiandola intestinale, vicino alle cellule staminali dalle quali derivano. Vivono circa quattro settimane e poi vengono rimpiazzate dalla differenziazione di un'altra cellula della ghiandola intestinale senza dividersi ulteriormente.

### **1.3 Intestino crasso**

L'intestino crasso, o colon, è l'ultima porzione del tratto gastrointestinale. La sua funzione principale è quella di estrarre dal cibo ingerito i metaboliti necessari per la crescita e l'energia necessaria al corpo. Esso comprende l'*intestino cieco*, l'*appendice*, il *colon*, il *retto* e il *canale anale*. Il colon si suddivide ulteriormente in base alle sue caratteristiche anatomiche in *colon ascendente*, *colon trasverso*, *colon discendente* e *colon sigmoide*. I quattro strati del canale alimentare sono presenti in ognuno di questi tratti. Esistono tuttavia alcune caratteristiche distintive per ogni tratto:

- Escludendo il retto, il canale anale e l'appendice, lo strato longitudinale esterno della *muscularis externa* mostra tre bande spesse equispaziate conosciute come *tenia coli*.

- La superficie esterna del ceco e il colon mostrano pieghe trasversali conosciute come haustra che sono visibili tra le tenie. La mucosa ha una superficie liscia, senza pieghe circolari o villi.
- Sono visibili sulla superficie intestinale esterna alcune sporgenze di grasso chiamate appendici omentali.

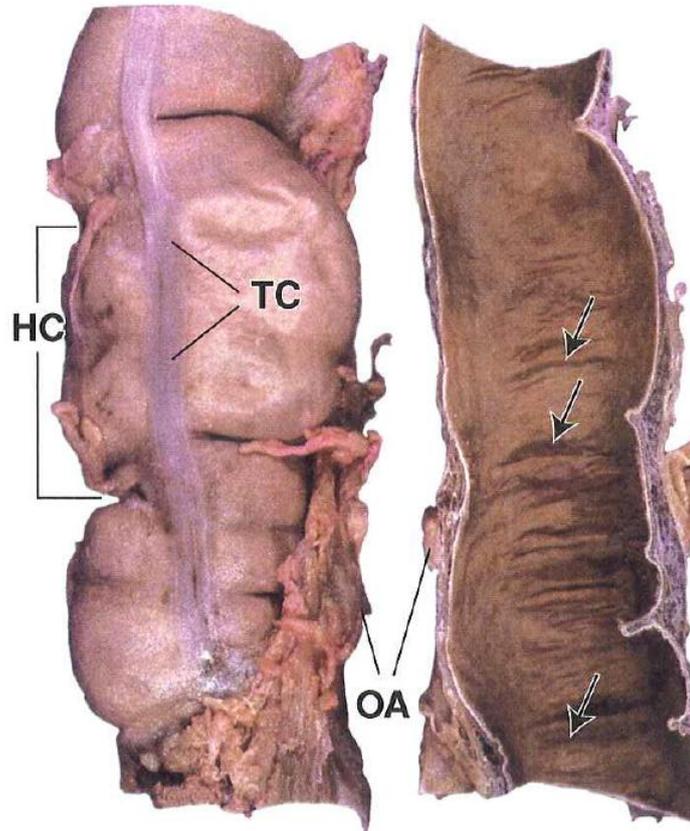


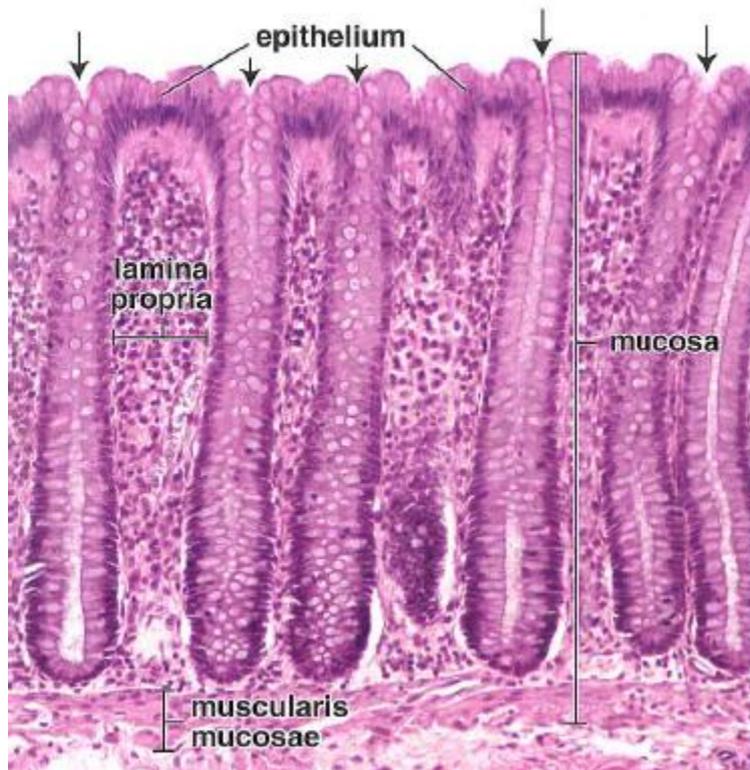
Figura 19 Intestino crasso. Si possono notare la tenia coli (TC), l'austra coli (HC), le appendici omentali (OA). Le frecce indicano pieghe semilunari.

### 1.3.1 Mucosa

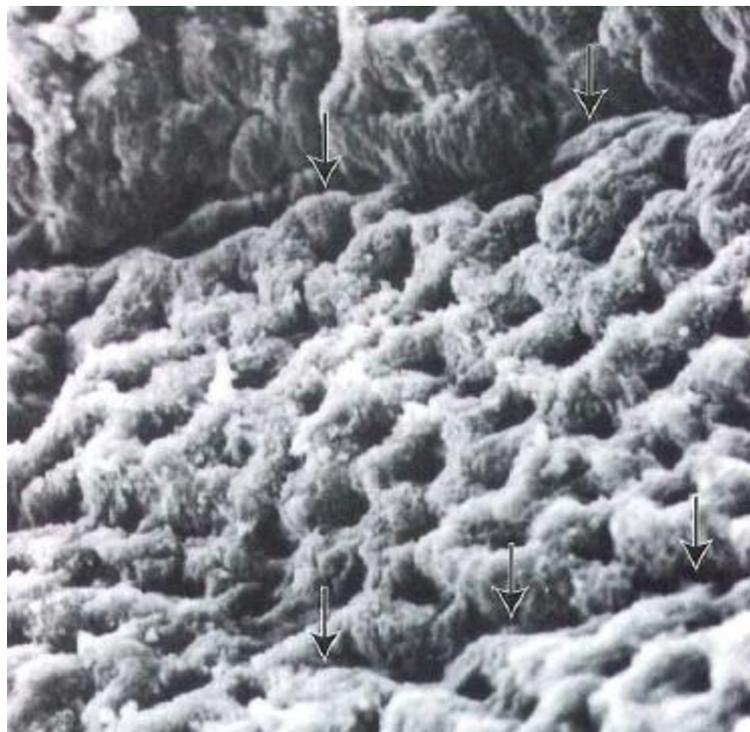
La mucosa dell'intestino crasso

contiene numerose ghiandole intestinali tubolari (cripte di Lieberkühn, in Figura 20) che si estendono attraverso l'intero spessore della mucosa.

Le ghiandole consistono in semplice epitelio colonnare, come del resto la superficie intestinale in cui sono inserite. Una disamina a livello microscopico della superficie luminale dell'intestino crasso mostra le aperture delle ghiandole, che sono disposte secondo un pattern ordinato (Figura 21).



*Figura 20 Sezione longitudinale della mucosa intestinale, in cui sono ben visibili le cripte di Lieberkühn.*



*Figura 21 Superficie luminale della mucosa, la quale mostra le aperture delle cripte di Lieberkühn disposte secondo un pattern ordinato.*

La funzione principale dell'intestino crasso è il riassorbimento di elettroliti ed acqua e l'eliminazione di cibo non digerito e altri rifiuti.

La funzione principale delle *cellule assorbenti colonnari* è appunto quella di riassorbire acqua ed elettroliti. La morfologia di queste cellule è essenzialmente identica a quella degli enterociti dell'intestino tenue; il riassorbimento avviene infatti tramite lo stesso meccanismo di trasporto. Come nell'intestino tenue, infatti, sono presenti numerose pompe sodio-potassio, soprattutto nelle membrane plasmatiche laterali delle cellule assorbenti. Lo spazio intracellulare è spesso dilatato, il che indica la presenza di trasporto attivo di fluidi.

L'eliminazione di materiali di scarto è facilitata dalle grandi quantità di muco secrete dalle numerose cellule caliciformi delle ghiandole intestinali. Le cellule caliciformi sono infatti più frequenti nell'intestino crasso rispetto al tenue e producono mucina che è secreta continuamente per lubrificare il bolo, facilitando il passaggio dei contenuti che solidificano durante il tragitto.

La mucosa epiteliale dell'intestino crasso contiene gli stessi tipi di cellule dell'intestino tenue, tranne cellule di Paneth, che sono assenti negli umani.

Le cellule colonnari assorbenti predominano numericamente (di quattro volte) sulle cellule caliciformi nella maggior parte del colon. Anche se le cellule assorbenti secernono glicocalici ad elevata velocità (16-24 ore per il completo ricambio), non è stato provato che la mucosa contenga enzimi digestivi a livello del colon.

Le cellule caliciformi possono maturare in profondità nella ghiandola intestinale, anche nella zona di replicazione. Esse secernono muco continuamente, anche quando raggiungono la superficie luminare. Qui, in superficie, la velocità di secrezione supera la velocità di sintesi e le cellule caliciformi "esauste" appaiono nell'epitelio. Queste cellule sono alte e strette e hanno pochi granuli di mucinogeno nel citoplasma apicale centrale. E' stato inoltre osservato nell'epitelio colonico un raro tipo di cellula, la cellula ciuffo: questa cellula potrebbe essere una forma di cellula caliciforme esausta.

### 1.3.2 Lamina propria

Sebbene la lamina propria dell'intestino crasso contenga le stesse componenti del resto del tratto intestinale, esso mostra alcune caratteristiche aggiuntive e ne sviluppa di nuove:

- Uno spesso strato di *collagene* e *proteoglicani* giace tra la lamina basale dell'epitelio e quella dei capillari fenestrati assorbenti. Questo strato è spesso circa  $5\mu\text{m}$  nel colon umano e può triplicare la propria dimensione in polipi colonici iperelastici. Il collagene partecipa alla regolarizzazione dell'acqua e al trasporto degli elettroliti dal compartimento intercellulare dell'epitelio al compartimento vascolare.
- Un GALT molto sviluppato. Nell'intestino crasso, grossi noduli linfatici distorcono la spaziatura regolare delle ghiandole intestinali e si estendono nella submucosa. Lo sviluppo estensivo del sistema immunitario probabilmente riflette in grande numero di microorganismi e prodotti nocivi del metabolismo normalmente presenti nel lume.
- Una *guaina pericriptica* di fibroblasti. Essi si suddividono subito sotto la base della ghiandola intestinale, adiacente alle cellule staminali dell'epitelio (come nell'intestino tenue). I fibroblasti allora si differenziano e migrano verso

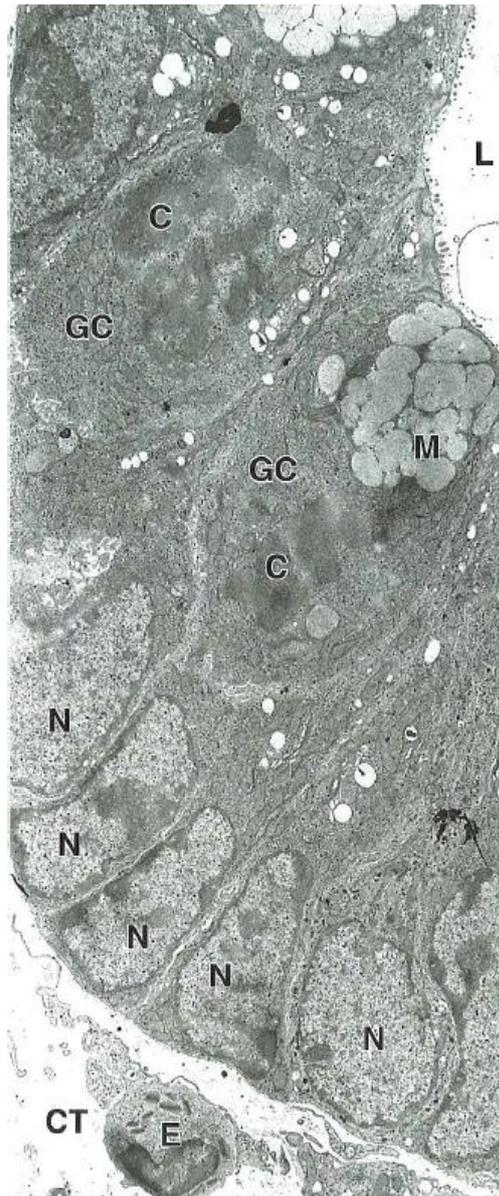


Figura 22 Micrografia elettronica in cui è mostrato che alcune cellule caliciformi sono in grado di dividersi anche dopo la differenziazione. Si possono distinguere due cellule caliciformi (GC), granuli di mucinogeno (G), coriosomi (C), nuclei delle cellule epiteliali (N), lume della ghiandola (L), tessuto connettivo (CT), eosinofili (E).

l'alto assieme alle cellule epiteliali. Sebbene il destino ultimo dei fibroblasti pericriptici sia sconosciuto, la maggior parte di queste cellule, dopo aver raggiunto la superficie luminale, assumono le caratteristiche morfologiche ed istochimiche dei macrofagi. Alcune prove suggeriscono che i macrofagi del nucleo della lamina propria nell'intestino crasso potrebbero nascere come ultima differenziazione dei fibroblasti.

- Assenza di vasi linfatici nella lamina propria. I vasi linfatici formano una rete attorno alla mucosa muscolare, come fanno nell'intestino tenue, ma non si trovano cellule lisce o vasi linfatici che si estendono fino alla superficie libera. L'assenza di vasi linfatici dalla lamina propria è importante per capire la bassa velocità di metastasi di alcuni tumori al colon. Alcuni di essi, infatti, si sviluppano in polipi adenomatosi e possono crescere ampiamente nell'epitelio e nella lamina propria prima che abbiano accesso ai vasi linfatici della mucosa muscolare. I vasi linfatici si trovano nella submucosa e attorno alla muscularis externa.

### **1.3.3 Muscularis externa**

Come anticipato, nell'intestino cieco e nel colon, lo strato esterno della muscularis externa è in parte condensato in fasce muscolari sporgenti chiamate tenie coli, visibili ad occhio nudo. Tra queste fasce lo strato longitudinale forma un foglio molto sottile. Nel retto, nel canale anale e nell'appendice, lo strato di muscolo liscio longitudinale è spesso e uniforme, come nell'intestino tenue.

Fasce muscolari dalla tenia coli penetrano lo strato muscolare interno e circolare ad intervalli irregolari. Queste apparenti discontinuità nella muscularis externa permettono ai segmenti di colon di contrarsi indipendentemente, portando alla formazione di "sacche" nella parete del colon.

Anche la muscularis externa dell'intestino crasso produce due tipi di contrazione: segmentazione e peristalsi. La segmentazione è locale e non dà risultati nella propulsione del contenuto intestinale; la peristalsi invece genera il movimento in direzione distale del contenuto del colon. I movimenti peristaltici avvengono circa una volta al giorno per vuotare la parte distale del colon.

#### **1.3.4 Submucosa e serosa**

La submucosa dell'intestino crasso corrisponde alla descrizione generale fatta in precedenza. Quando l'intestino crasso è a diretto contatto con altre strutture (come sulla sua superficie posteriore), il suo strato esterno è instabile, mentre altrove è fatto come la normale serosa.

## **2 PATOLOGIE DEL TRATTO GASTROINTESTINALE, PROFILASSI E MODALITÀ DIAGNOSTICHE**

Prima di inoltrarsi nell'effettiva descrizione del comportamento meccanico di tessuti o di costruire qualsiasi modello matematico, è necessario indagare su quali siano le principali tecniche endoscopiche disponibili in commercio, al fine di comprendere pienamente i vantaggi garantiti dal prototipo in fase di progettazione. E' imprescindibile inoltre la conoscenza dello scopo principale per cui queste apparecchiature sono state progettate: la diagnosi e la prevenzione di tumori all'intestino crasso.

### **2.1 Il cancro del colon**

#### **2.1.1 Epidemiologia**

Il cancro del colon retto è il terzo tumore maligno per frequenza e la seconda causa di mortalità per tumore in Europa con circa 210000 decessi (Ferlay J, Ann Oncol). Nel nostro Paese, le statistiche indicano ogni anno circa 20000 nuovi casi di cancro del colon retto tra i maschi e 17000 tra le femmine; circa una persona su due muore per la malattia.

#### **2.1.2 Il rischio**

La probabilità di contrarre questo tipo di tumore nel corso della vita è di 5.1% fra i maschi e di 3.1% fra le femmine e dipende dall'età, dalla storia familiare e personale.

Una storia familiare è la diagnosi di cancro del colon o di adenomi in uno o più parenti, escludendo le sindromi ereditarie come le poliposi adenomatose familiari (FAP) ed i carcinomi ereditari non polipoidi (HNCC). Soggetti di età minore di 60 anni con familiarità di primo grado per cancro del colon presentano un rischio aumentato da 2 a 4 volte rispetto alla popolazione generale; è stato inoltre notato un progressivo aumento del rischio al ridursi dell'età di diagnosi nel nucleo familiare (Winawer SE, Cancer).

Con il termine storia personale ci si riferisce a pazienti che hanno eseguito una polipectomia od un intervento chirurgico per cancro del colon. Questi soggetti

presentano un rischio aumentato di sviluppare successivamente altri adenomi o tumori del colon rispetto alla popolazione generale. In particolare, è stato osservato un aumento del rischio di sviluppare cancro del colon da 2 a 4 volte in pazienti in cui l'adenoma indice era avanzato, ed un aumento del rischio da 5 a 6 volte in pazienti che avevano adenomi multipli (Winawer SJ, CA Cancer J Clin). Pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali appartengono alla categoria di soggetti ad alto rischio.

### **2.1.3 Da adenoma a carcinoma**

Le attuali conoscenze indicano che oltre il 90% delle lesioni maligne ha origine da un precursore benigno (adenoma o polipo adenomatoso) mediante una serie di mutazioni genetiche definite sequenza adenoma-carcinoma (Winawer SE, Cancer). Solo nel 5%-10% dei casi il carcinoma non sembra essere preceduto da lesioni adenomatose e per questo si parla di carcinoma "de novo". Nella sequenza adenoma-carcinoma la progressione verso la forma invasiva è lenta; stime indirette e casistiche anatomo-patologiche indicano in 5 anni la trasformazione da mucosa normale ad adenoma; in ulteriori 5 anni lo sviluppo di una forma di carcinoma invasivo o maligno (Winawer SE, N Engl J Med). La caratteristica di lenta crescita rende questo tipo di tumore un candidato ideale per programmi di prevenzione.

### **2.1.4 Prevenzione**

Come intuibile, l'obiettivo di un programma di screening è quello di identificare precocemente le forme di cancro invasive o possibili loro precursori. La scelta del tipo di esame più idoneo deve tenere conto di numerosi fattori, fra cui la sensibilità diagnostica, i test disponibili nell'area geografica in questione, il rapporto costo/beneficio e la collaborazione del paziente.

I programmi offerti in Italia utilizzano per la maggior parte un test immunologico per la ricerca del sangue occulto fecale (FOBT); in Piemonte e nella provincia di Verona è invece offerta la sigmoidoscopia flessibile. In entrambi i casi i pazienti positivi al test di primo livello sono invitati a eseguire la colonoscopia convenzionale per avere una conferma della diagnosi ed eventualmente per la rimozione dei polipi.

## 2.2 La capsula endoscopica

La capsula endoscopica nota anche con il nome di *wireless endoscopy* o *capsula enteroscopica*, rappresenta uno dei più recenti sviluppi tecnologici in endoscopia. È stata ideata nel 1981 da un ingegnere israeliano, Gavriel Iddan, il quale pensò di costruire un piccolo vettore in grado di attraversare tutto l'apparato gastrointestinale, trasportato dai naturali movimenti peristaltici dell'intestino trasmettendo in tempo reale le immagini del suo percorso. Un ulteriore miglioramento del prototipo ha permesso la riduzione delle dimensioni della capsula, un aumento della capacità di trasmissione, un aumento della durata di registrazione e una maggiore risoluzione delle immagini. Nel 2001 ha ricevuto l'approvazione della FDA (Food and Drug Administration) statunitense ed è stata approvata per uso clinico.

La tecnica viene indicata per patologie infiammatorie, malassorbimento, diarrea cronica, neoplasie, emorragie cosiddette occulte, malattia di Crohn con localizzazioni nell'intestino tenue, qualora le altre metodiche diagnostiche abbiano fallito.

Le dimensioni della capsula sono 11 mm x 26 mm, peso 4 gr. All'interno è contenuto un sensore d'immagini a colori, un sistema di illuminazione, due batterie, un trasmettitore miniaturizzato e un'antenna. Durante il passaggio attraverso il tratto gastrointestinale l'endocapsula trasmette segnali video (due immagini ogni secondo per otto ore) che rendono il sistema anche in grado di tracciare il percorso fisico di avanzamento della capsula. Le immagini, raccolte da sensori disposti sull'addome e sullo stomaco vengono trasmesse ad un registratore collocato con una cintura intorno alla vita del paziente. Un software per l'analisi dei dati registrati restituisce le immagini su un monitor.

Mentre la sonda si muove naturalmente attraverso il tratto digestivo, il paziente può svolgere la sua normale attività. Circa otto ore dopo l'ingestione, il paziente restituisce il registratore al suo dottore o infermiere in modo che le immagini possano essere trasferite su un computer e valutate.

Come per l'endoscopia virtuale, anche per questo tipo di indagine è necessario il digiuno almeno per otto ore prima dell'assunzione della capsula e solo due ore dopo possono essere assunti liquidi (non latte né antiacidi in quanto possono oscurare la

ripresa). Uno spuntino leggero può essere consumato dopo altre due ore e solo 8 ore dopo l'igestione della capsula può essere ripresa l'alimentazione normale.

Le immagini fornite dalla videocapsula sono ristrette alla diagnostica dell'intestino tenue, che attualmente non è completamente raggiungibile con l'endoscopia. La capsula endoscopica non può essere usata per eseguire biopsie o trattamenti locali e al momento non è idonea per esplorare lo stomaco o l'intestino crasso (per questi settori l'endoscopia tradizionale resta l'unica alternativa); il loro calibro infatti è troppo grande per garantire una sufficiente illuminazione ed una visione ottimale: la capsula si muove disordinatamente registrando in direzioni casuali e permettendo un'esplorazione solo parziale. Al contrario, nell'intestino tenue è garantita una completa visione delle pareti, riprendendole in avanti o indietro a seconda dell'orientamento d'ingresso.

I vantaggi di questo sistema diagnostico sono notevoli.

- Un sistema che percorre da solo le vie intestinali permette di esplorare alcune sezioni finora poco accessibili: la terza porzione del duodeno e l'intestino tenue fino al confine con il colon. L'alternativa per scrutare le pareti dell'intestino tenue è l'utilizzo di endoscopi molto lunghi, che vengono introdotti per bocca e fatti progredire per un metro o due dopo il duodeno. L'esame è comunque incompleto e comporta forti disagi al paziente, tanto da richiedere l'anestesia generale.

- Un secondo vantaggio è la maggior compliance: per quanto l'endoscopia tradizionale sia quasi sempre ben tollerata, la semplice ingestione di una capsula è sicuramente preferibile.

- Sebbene la capsula sia a perdere, la spesa per ogni esame non è molto maggiore di quella di un'endoscopia tradizionale.

Per il momento le applicazioni di questa tecnica sono limitate: le patologie dell'intestino tenue non devono essere occlusive. Si escludono per esempio il morbo di Crohn e i tumori potenzialmente stenosi. Sostanzialmente a trarre vantaggio da questo nuovo strumento sono soprattutto le lesioni intestinali non rivelate dall'endoscopia convenzionale.



Figura 23 Capsula endoscopica. Si possono distinguere: 1) cupola ottica, 2) fermo per la lente, 3) Lente, 4) illuminazione a LED, 5) acquisizione immagini a CMOS, 6) batterie, 7) trasmettitore ASIC, 8) antenna

(Ell, Remke, & May, 2002), (Iddan, 2000)

### 2.3 La colonscopia virtuale

La colonscopia virtuale è un esame di tomografia assiale computerizzata (TAC) dell'addome eseguito dopo aver disteso il colon con aria o anidride carbonica. L'indagine richiede una preparazione dell'intestino mediante l'utilizzo di lassativi e/o con l'assunzione per bocca di una soluzione a base di iodio (per marcare le feci e il liquido presente nel lume intestinale). L'esame dura circa 20 minuti e una volta completato le immagini TAC sono inviate a un computer ed elaborate da un software dedicato che consente la visualizzazione della superficie interna del colon in 2 e 3 dimensioni. Il medico può navigare virtualmente all'interno del lume intestinale e vedere le pareti del grosso intestino proprio come se fosse stata posizionata una telecamera sulla punta di un endoscopio. Con l'esame è possibile indagare non solo l'intestino ma anche i restanti organi addominali. In caso di riscontro di polipi o tumori il soggetto dovrà eseguire una colonscopia tradizionale per la biopsia o una polipectomia.

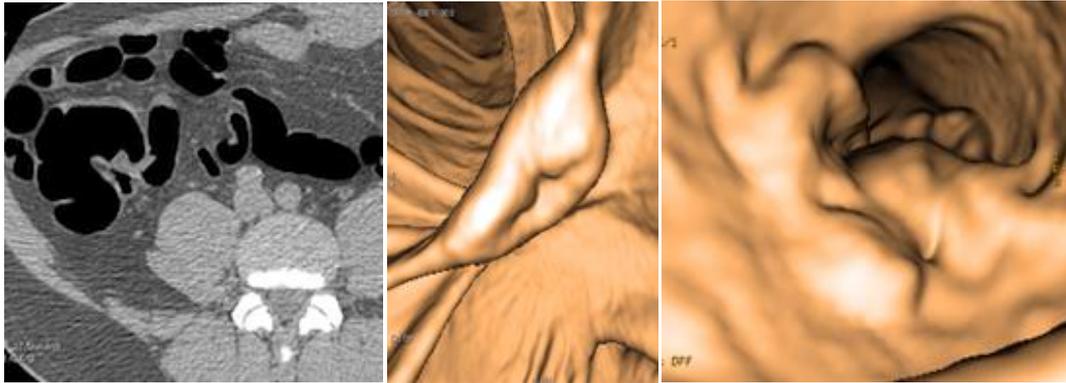


Figura 24 Immagini da colonscopia virtuale: sezioni di partenza (a) e ricostruzioni tridimensionali (b, c)

## 2.4 La colonscopia tradizionale

La colonscopia tradizionale (Figura 25) è più efficace della sigmoidoscopia: il suo utilizzo riduce l'incidenza del carcinoma del colon retto di circa il 90% e il suo effetto protettivo è di 10 anni. È indicata nei programmi di prevenzione per soggetti con sindrome neoplastica ereditaria e per familiari di primo grado di soggetti che hanno sviluppato cancro del colon o adenomi avanzati prima dei 60 anni.

I limiti della colonscopia sono i suoi costi elevati, la necessità di una preparazione intestinale e l'invasività. La procedura diagnostica presenta il rischio non trascurabile di complicazioni anche gravi quali l'emorragia e la perforazione del colon; per questi motivi i medici hanno tutt'oggi opinioni divergenti riguardo la sua adozione come strumento di prevenzione nei soggetti che hanno un rischio limitato di sviluppare un cancro del colon retto.

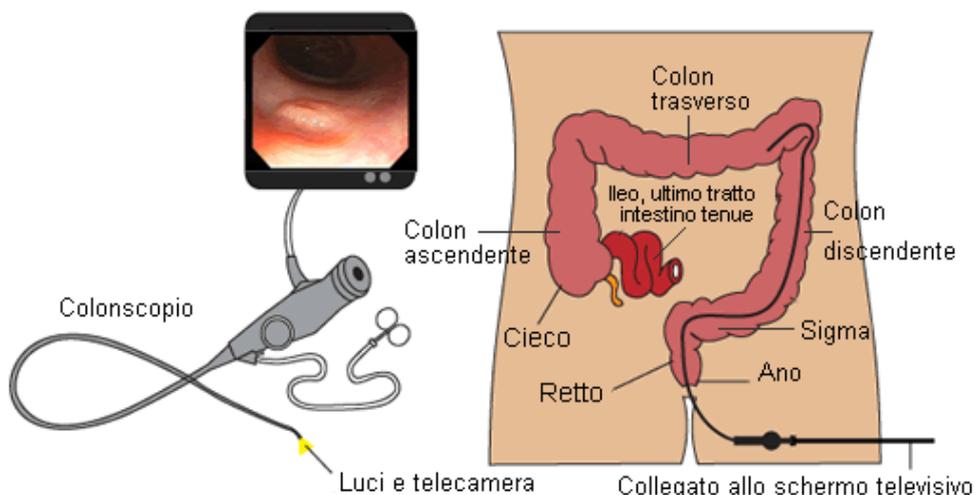


Figura 25 Schematizzazione della colonscopia classica

### **2.5 La capsula endoscopica con apparato autonomo di locomozione**

La capsula endoscopica è stata certamente un grosso passo in avanti per quanto riguarda l'invasività di un esame frequente come l'endoscopia, ma ha un grosso limite. Mentre la colonscopia classica permette al medico di ispezionare l'intestino crasso con relativa libertà, la capsula endoscopica trasmette informazioni visive catturate dal tratto di intestino in cui si trova. Il suo movimento, comandato dalla peristalsi intestinale, dipende unicamente dal movimento delle viscere e ha quindi una sola direzione. Un miglioramento della capsula endoscopica è costituito dal prototipo proposto dall'Istituto Superiore di Pisa. Esso consiste in una sonda simile a quella descritta precedentemente, ma dotata di un sistema di locomozione autonomo in grado di far muovere l'apparecchio lungo l'intestino, in particolare nella direzione opposta a quella della digestione. L'apporto di questa modifica ha notevoli vantaggi, primo fra tutti quello di consentire per più volte la visualizzazione di un tratto di intestino che poteva essere risultato poco chiaro a causa di disturbi al segnale o a causa di una errata orientazione della sonda.

(Intestine, 2012) (Colonscopia Virtuale, 2009) (Capsule Hi-Tech, 2011)



### 3 ANALISI SPERIMENTALE

In questo capitolo sarà descritta l'attività sperimentale svolta. Sarà descritta nel dettaglio la prassi sperimentale del prelievo dei campioni e dell'esecuzione dei test pneumatici di insufflazione in campioni di intestino di ratto (*Rattus Norvegicus Albino*) e verranno presentate le serie temporali di pressione raccolte.

Come già detto, per poter effettuare una precisa descrizione meccanica del tessuto al fine di caratterizzare i processi biomeccanici di interazione tra strumenti diagnostici/chirurgici e tessuti biologici gastrointestinali, è necessario eseguire alcuni test pneumatici su campioni di intestino crasso. Purtroppo, data la scarsa disponibilità e reperibilità di campioni provenienti da essere umano o suino, sono stati usati ratti di allevamento. All'interno dell'organismo del roditore, l'accessibilità dell'intestino crasso è chirurgicamente difficile, quindi il modello è stato validato utilizzando la porzione di intestino tenue consecutiva allo stomaco. Si ritiene che ai fini della validazione del modello, ai fini di una descrizione complessiva della risposta biomeccanica dei vari strati biologici costituenti il tubo digerente e limitatamente per quanto riguarda l'acquisizione dei parametri costitutivi, l'utilizzo di questa porzione di intestino non alteri i risultati ottenuti. Sono state effettuate prove di insufflazione di gas (aria) all'interno di tratti di intestino tenue. Per ottenere dati omogenei e ridurre al minimo l'influenza degli errori umani sui dati raccolti, si è deciso di standardizzare la procedura di raccolta dei dati. Al fine di chiarire la prassi operativa e di rendere ripetibili i risultati ottenuti, si riporta di seguito la procedura seguita per l'esecuzione delle prove.

#### 3.1 Strumenti utilizzati

- Attrezzatura chirurgica sterile (bisturi, forbici, pinze, filo per sutura)
- Siringa da 10mL
- Misuratore di pressione
- Bilancia
- Calibro
- Calcolatore

### 3.2 Anestesia

E' bene precisare che tutte le prove eseguite, sono state svolte in accordo con le normative previste dal D.L. n. 116 del 27/1/1992: attuazione della direttiva n. 86/609/CEE in materia di protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici.

Prima dell'esecuzione delle prove sperimentali, ogni cavia è stata anestetizzata con una dose intraperitonea di Cloralio Idrato, seguita da un breve massaggio addominale per un'assunzione più completa e rapida. Su ogni soggetto, prima dell'acquisizione dei dati relativi all'intestino, è stato eseguito un esperimento sulla visco-elasticità dei polmoni; il decesso dell'animale avviene per asfissia, dopo il distacco del respiratore automatico al termine di questa pratica, ancora sotto l'effetto dell'anestetico iniettato. Si ritiene che il processo sopra descritto non alteri la condizione meccanica della porzione di tubo digerente che verrà sottoposta ai test.

### 3.3 Popolazione di ratti

Per ogni cavia sono state osservate le caratteristiche riportate in Tabella 1.

Numero soggetto	Sesso	Peso [g]	Lunghezza tratto intestinale prelevato [mm]
1	Femmina	249	23
2	Maschio	?	27
3	Femmina	218	39
4	Maschio	413	33
5	Femmina	245	29
6	Femmina	240	45
7	Maschio	382	43
8	Maschio	381	48
9	Femmina	270	39
10	Femmina	223	55

*Tabella 1 Tabella riassuntiva i ratti analizzati nella fase di sperimentazione.*

### 3.4 Prassi sperimentale

- 1) Esecuzione di un'incisione addominale sul ratto deceduto per accedere alla porzione di intestino desiderata (Figura 26).



*Figura 26 Fase di incisione addominale per il prelievo della porzione intestino desiderata.*

- 2) Prelievo del tratto di circa 4 cm di intestino anatomicamente consecutivo al piloro.
- 3) Usando la siringa contenente soluzione fisiologica, esecuzione del risciacquo del campione prelevato per eliminare il chimo in esso contenuto; esso potrebbe costituire infatti un elemento di disturbo ai fini dell'acquisizione dei valori di pressione.
- 4) Inserimento della cannula scabra ( $\varnothing = 3\text{mm}$ ) in una estremità del campione, fissaggio della stessa tramite filo per suture e connessione alla pompa e al misuratore di pressione (Figura 27).



*Figura 27 Fase di fissaggio del campione alla cannula proveniente dalla pompa (a), panoramica della strumentazione utilizzata (b).*

- 5) Occlusione dell'estremità libera del campione tramite filo per suture.
- 6) Annotazione della misura della lunghezza del campione compresa tra le estremità legate del campione (Figura 28).



*Figura 28 Fase di misura delle caratteristiche morfologiche del campione prelevato.*

- 7) Insufflazione a flusso costante del volume d'aria desiderato (velocità di insufflazione: 4 ml/s) e successiva osservazione del decadimento del valore di pressione (Figura 29).



*Figura 29 Fase di avvio della pompa (a) e campione insufflato (b).*

- 8) Dopo aver raggiunto una ragionevole stabilità della pressione (2-4 minuti), apertura della valvola della pompa al fine di tornare allo stato di riposo con pressione atmosferica all'interno del campione.

- 9) Attesa di 2 minuti per permettere il recupero dei processi viscosi. Questo processo corrisponde al recupero della distribuzione naturale della matrice extracellulare. Contemporanea idratazione del campione con soluzione fisiologica allo scopo di mantenere (per quanto possibile) la condizione dell'intestino asportato simile a quella presente all'interno dell'organismo.
- 10) Reiterazione dal punto 7 con volumi crescenti, fino al quasi raggiungimento del valore di fondo scala del misuratore di pressione.

### 3.5 Digitalizzazione dei dati

Lo strumento utilizzato per la registrazione delle pressioni in funzione del tempo fornisce un output stampato su carta; per l'analisi al computer quindi, si è resa necessaria la scansione degli stampati per ottenere immagini digitali e la successiva estrazione di serie numeriche (Figura 30). Per quest'ultima fase è stato utilizzato il software GetData Graph Digitizer il quale permette di identificare manualmente gli assi cartesiani, di specificare le unità di misura e di selezionare i punti appartenenti alla curva, restituendo su file di testo le serie temporali desiderate.

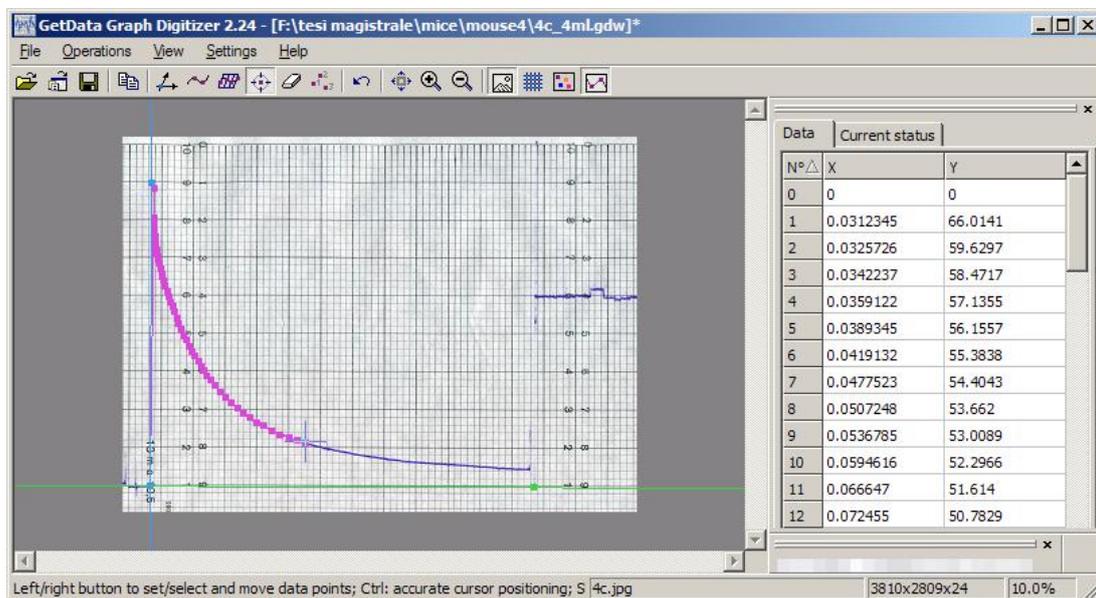


Figura 30 Fase di digitalizzazione dei risultati stampati.

Una prima difficoltà durante questa fase è stata l'acquisizione delle ultime curve stampate con inchiostro rosso; essendo difficile il riconoscimento dei pixel appartenenti al tratto del pennino dai punti riconosciuti con il mouse (evidenziati in rosa), si è deciso di effettuare l'analisi sul negativo dell'immagine stessa (Figura 31).

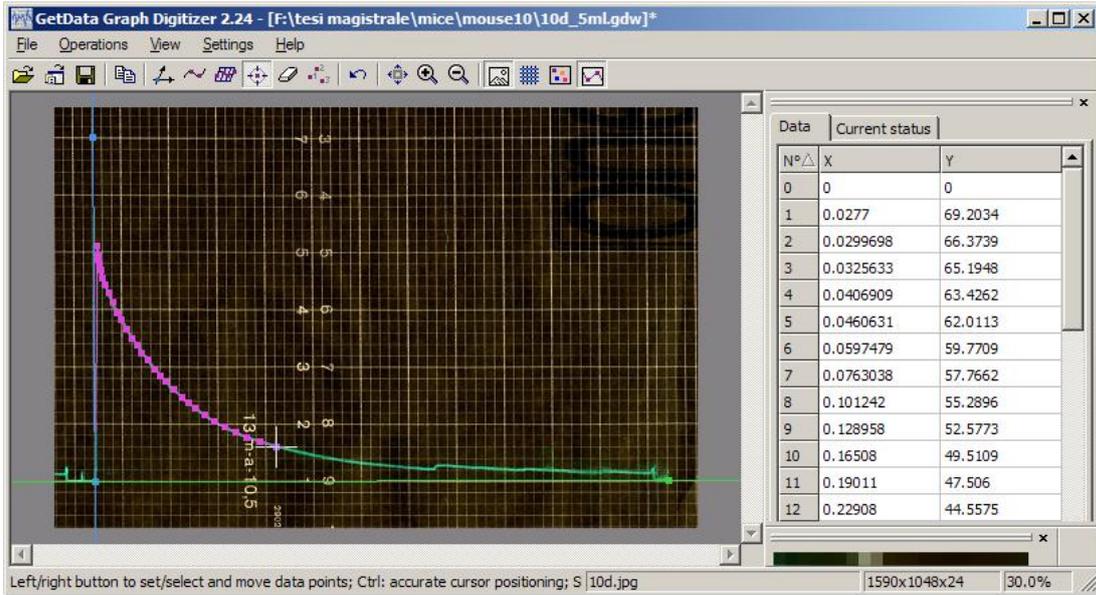


Figura 31 Digitalizzazione su immagini invertite.

Una prima difficoltà incontrata in fase di acquisizione dei dati sperimentali è consistita nell'interpretazione degli artefatti. Per alcuni campioni infatti, si è notato un andamento discontinuo della pressione dato probabilmente da attività nervosa residua o spasmi muscolari involontari post-mortem. In corrispondenza dei punti di discontinuità sullo stampato si notava infatti sul campione prelevato una distensione improvvisa del tratto di intestino (Figura 33). Nella fase di acquisizione dei dati è stato quindi deciso di considerare un punto in corrispondenza della metà di ogni tratto continuo, cercando di minimizzare l'errore commesso (Figura 32).

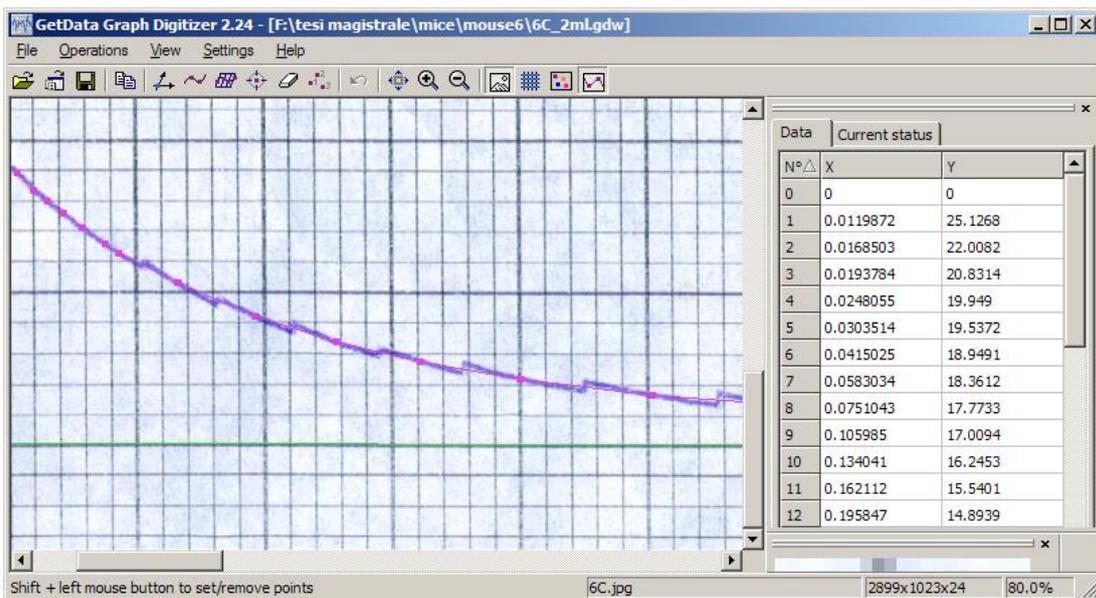
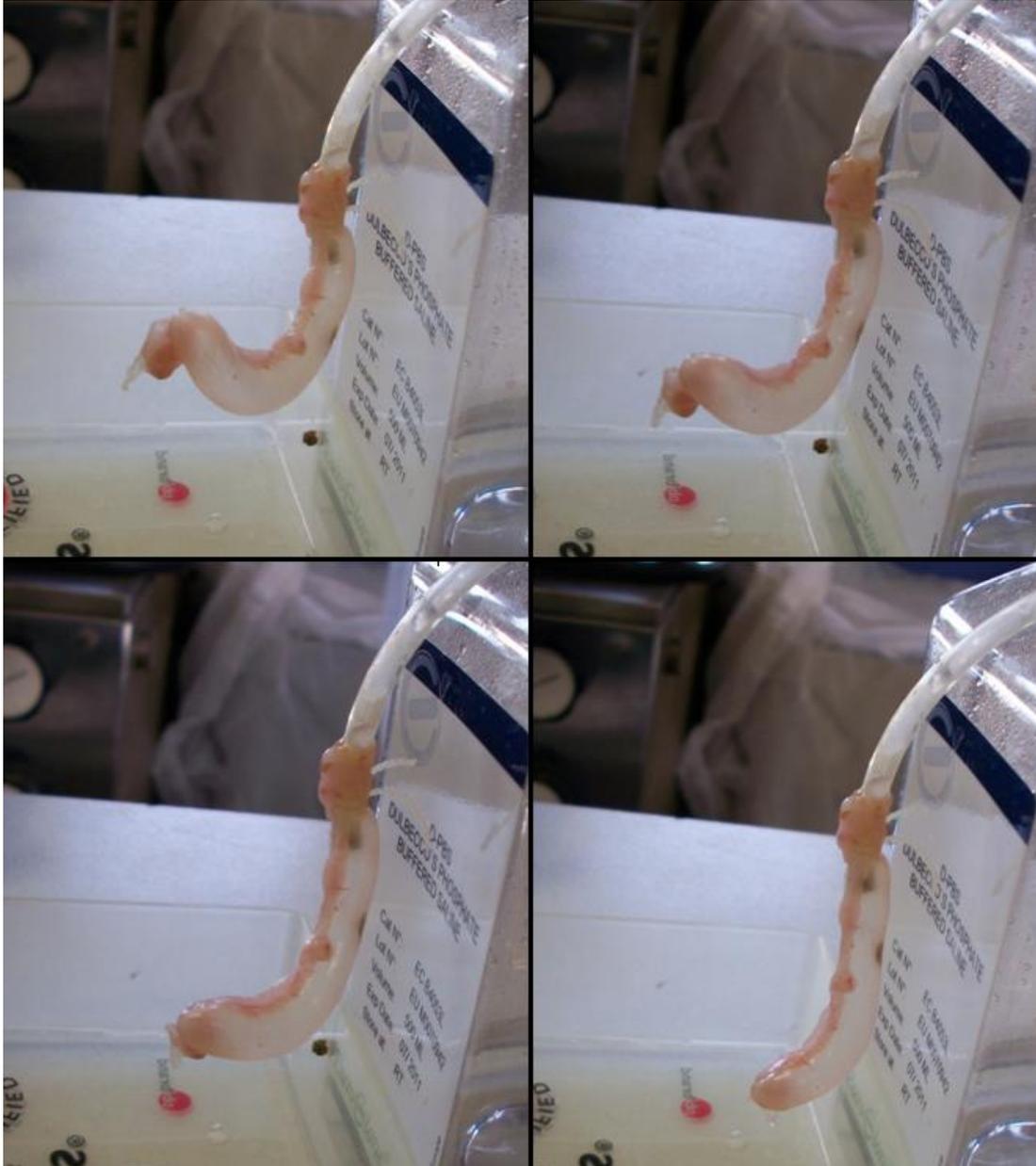


Figura 32 Fase di digitalizzazione delle curve in presenza di artefatti.



*Figura 33 Distensioni improvvise dei campioni*

### **3.6 Pre-elaborazione**

Per comodità successiva e senza perdere informazione, è stato deciso di interpolare linearmente i dati a disposizione, ri-campionandoli in modo da ottenere una griglia temporale a passo costante. Tutte le curve sono state sovra campionate alla frequenza di 100Hz; questa soluzione si è rivelata molto conveniente nella post-elaborazione, in quanto l'indice della posizione dell'array in cui sono state memorizzate le pressioni di ogni prova, corrispondeva ai centesimi di secondo trascorsi dall'inizio della prova.

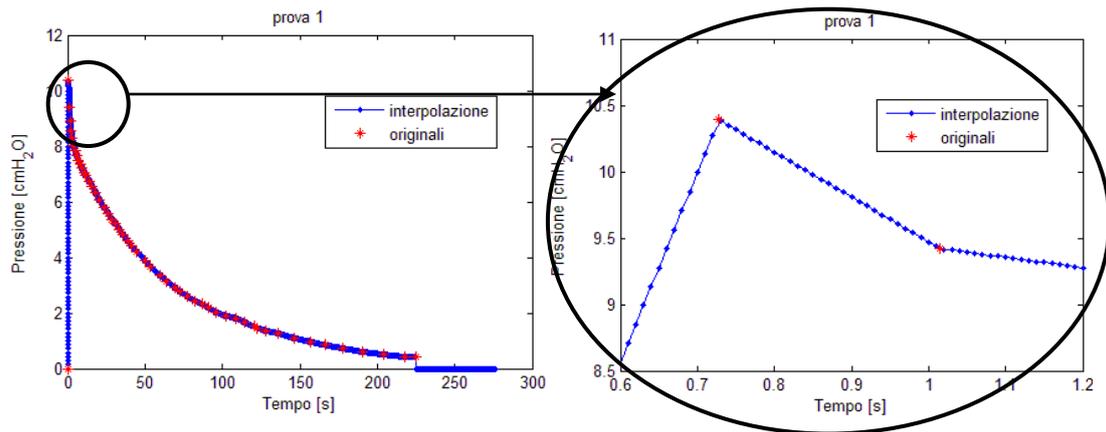
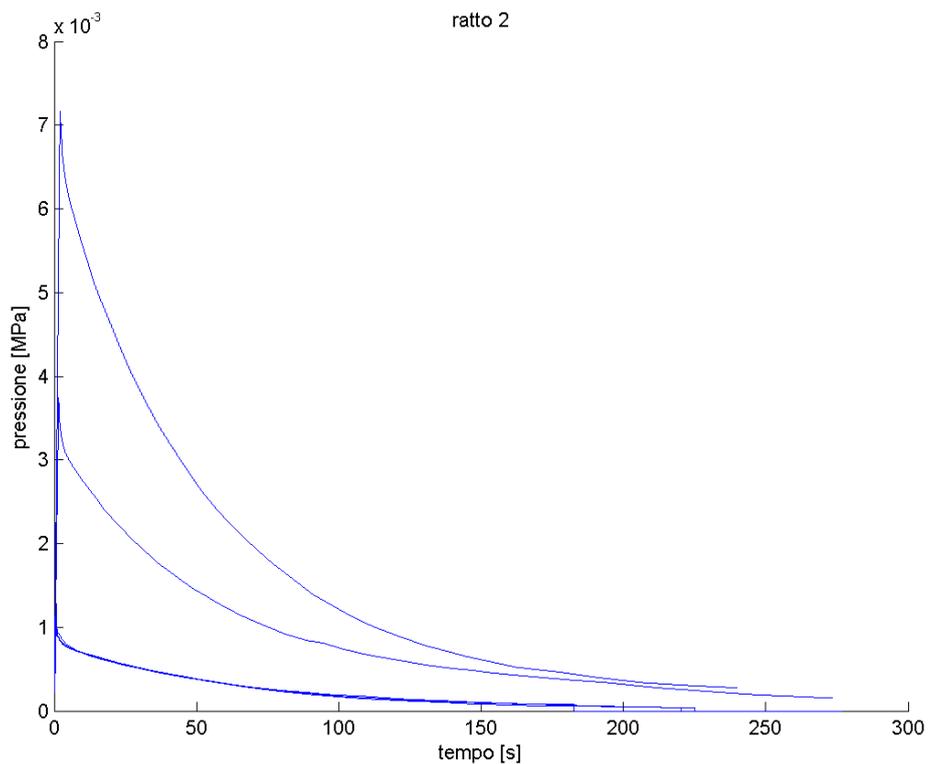


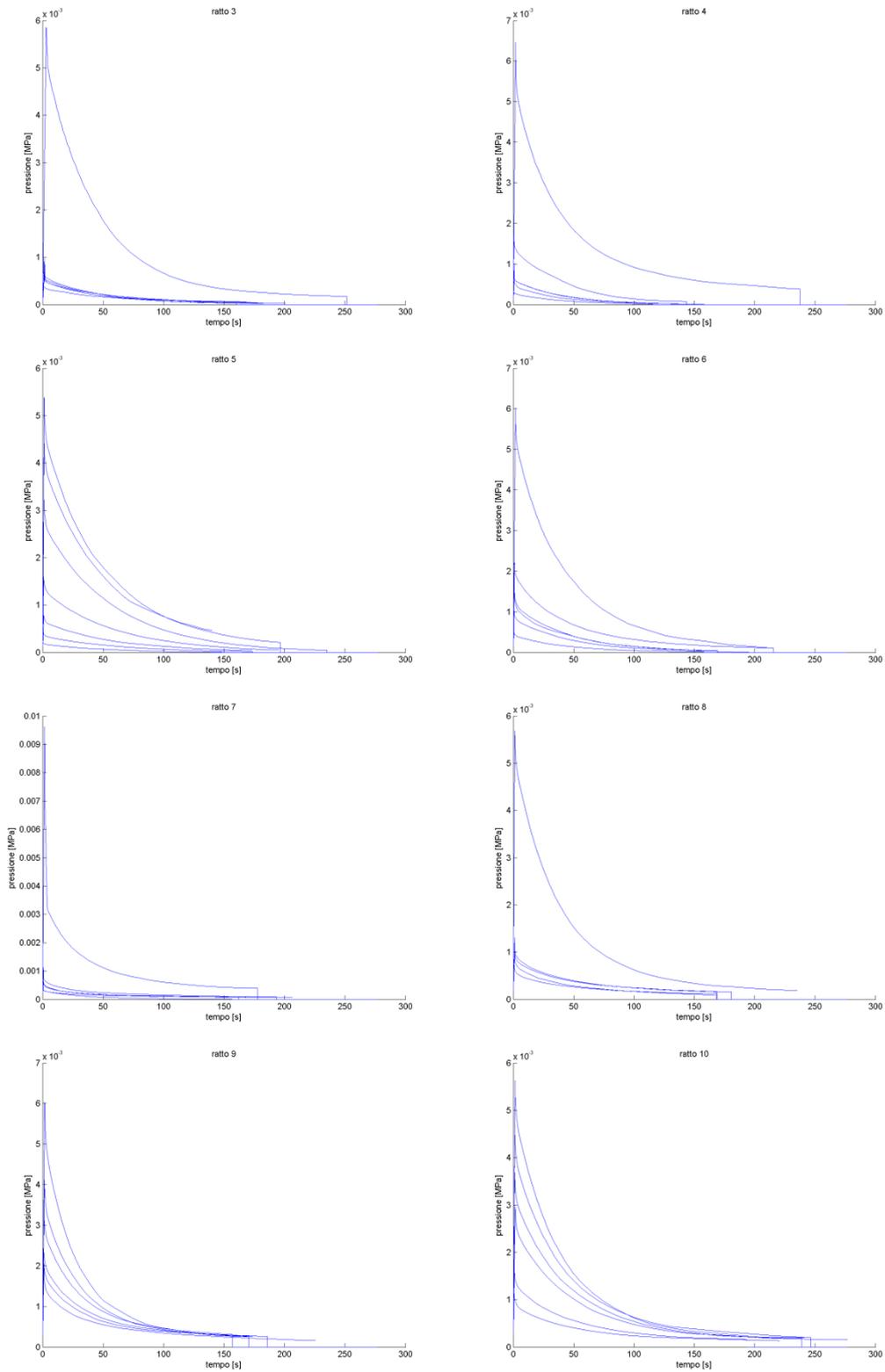
Figura 34 Ricampionamento a passo costante delle curve digitalizzate.

### 3.7 Serie temporali

Si riportano di seguito le serie temporali acquisite e pre-elaborate.



- Analisi sperimentale -





## 4 MODELLO FISIO-MECCANICO

### 4.1 Relazione pressione-volume

Per conoscere con precisione la caratterizzazione meccanica dell'intestino, nel complesso di tutte le stratificazioni anatomiche che lo contraddistinguono, si è resa necessaria una descrizione fisio-meccanica ad integrazione numerica (e successivamente anche in forma chiusa) della relazione tra il volume insufflato e l'evoluzione temporale della pressione esterna misurata. Questa relazione costituisce l'essenza della complicata risposta visco-elastica di una porzione del tubo digerente e consente di interpretare in modo globale l'evoluzione temporale della resistenza opposta all'aumento di volume.

Per avere la possibilità di confrontare le prove sperimentali ottenute da campioni di dimensione diversa non ha senso parlare di volume insufflato, quanto piuttosto di *volume insufflato relativo*. D'ora in avanti infatti il simbolo  $V$ , indicherà la quantità adimensionale

$$V = \frac{V_{iniziale} + V_{insufflato}}{V_{iniziale}}$$

dove  $V_{iniziale}$  è calcolato a partire dalle misure effettuate sui campioni:

$$V_{iniziale} = l_{tubo} * \pi * r_{canula}^2.$$

### 4.2 Formulazione di un modello rappresentativo di una prova di insufflazione in un campione di intestino

Per la descrizione fisio-meccanica della relazione pressione-volume, è stato adottato un modello precedentemente utilizzato per la descrizione delle stesse variabili (pressione e volume, appunto), in esperimenti su polmoni di ratto (*Rattus Norvegicus Albino*) anziché su tratti di intestino (Carniel, Formulazione di un modello rappresentativo il sistema respiratorio). Come il sistema respiratorio, inteso nel suo complesso di vie aeree e polmoni, anche il fenomeno rappresentato dall'insufflazione di gas all'interno di un tratto di tubo digerente può venire schematizzato attraverso un modello fisico costituito da un elemento resistivo collegato in serie ad un elemento volumetrico (Figura 35).

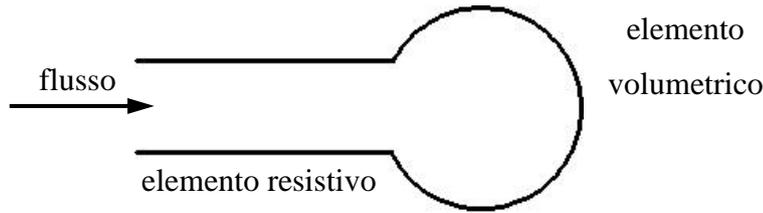


Figura 35 Schematizzazione della prova di insufflazione

L'elemento volumetrico è la pressione effettiva all'interno del campione ed è rappresentativa dei processi di variazione volumetrica che si verificano nel campione di intestino testato in conseguenza a processi di flusso di gas, mentre l'elemento resistivo rappresenta l'azione determinata dall'insieme dei fattori che stanno alla base delle perdite di carico che si verificano durante il flusso di gas attraverso i condotti che collegano pompa, misuratore di pressione e campione. Quest'ultima componente dipende dalla velocità di insufflazione imposta, ma la sua influenza rispetto alla pressione esterna risulta trascurabile<sup>1</sup>; per questo motivo verrà omessa la sua formulazione esatta.

#### 4.2.1 Modello fisio-meccanico ad integrazione numerica

Vengono anzitutto richiamate le principali grandezze coinvolte nella definizione del modello:

- $t$  tempo;
- $P_{EXT}(t)$  pressione esterna, presente alla bocca dell'elemento resistivo;
- $P(t)$  pressione interna, presente all'interno dell'elemento volumetrico;
- $V(t)$  volume relativo dell'elemento volumetrico;
- $\dot{V}(t)$  aumento di volume relativo, positivo se in ingresso entro l'elemento resistivo.

Al fine di evitare complicazioni nella simbologia adottata e nel formalismo matematico, nel seguito le pressioni, sia esterna che interna, vengono ipotizzate al netto della pressione atmosferica.

---

<sup>1</sup> la giustificazione di questa affermazione è in appendice, al paragrafo 7.2

La pressione misurata dallo strumento viene sondata esternamente al campione e, come già detto, è data dalla somma delle due componenti volumetrica e resistiva:

$$P_{EXT}(t, V, \dot{V}) = P(V, t) + F(\dot{V}).$$

Mentre  $F(\dot{v})$  è ragionevolmente associabile ad un comportamento tempo-invariante, la pressione interna al campione di intestino  $P(V, t)$  ha un andamento viscoelastico che dipende fortemente dal tempo. Questo tipo di risposta è dovuto al riarrangiamento fisiologico delle fibre di collagene della parete intestinale e allo spostamento della componente liquida della ECM ivi contenuta; ciò complica notevolmente la sua descrizione matematica.

Nel dettaglio  $P(V, t)$  è esprimibile come somma di una componente iperelastica istantanea e una componente puramente viscosa. Si può scrivere cioè:

$$P(V, t) = \gamma^\infty P^0(V, t) + \sum_{i=1}^n \gamma_i h^{(i)}(t)$$

dove  $\gamma_i$  sono i pesi relativi degli  $n$  processi viscosi che caratterizzano il processo, metre

$$h^{(i)}(t) := \int_0^t \exp\left(-\frac{t-s}{\tau_i}\right) \frac{d}{ds} P^0 ds$$

sono le  $n$  variabili di stato a cui sono associati i tempi di rilassamento  $\tau_i$ . L'integrazione di  $h^{(i)}(t)$  può essere eseguita numericamente con il metodo a passo implicito di Simo-Hughes<sup>2</sup>, secondo il quale alla  $k$ -esima iterazione si ha una formulazione compatta dell'aggiornamento delle variabili di stato:

$$h_{k+1}^{(i)} = h_k^{(i)} e^{-\frac{t_{k+1}-t_k}{\tau_i}} + e^{-\frac{t_{k+1}-t_k}{2\tau_i}} [P^0(t_{k+1}) - P^0(t_k)].$$

Nella formulazione della componente volumetrica della pressione esterna,

$$P^0(V, t) = a_0 (e^{b_0(V(t)-1)} - 1)$$

---

<sup>2</sup> Dettagli in appendice, al paragrafo 7.3.

è una possibile implementazione della componente istantanea, caratterizzata dai parametri  $a_0$  e  $b_0$  che dipende esclusivamente dal volume relativo insufflato. Una porzione di intestino tenue sottoposta ad insufflazione ha un comportamento irrigidente rispetto a  $V = \frac{V_{iniziale} + V_{insufflato}}{V_{iniziale}}$  (Figura 36) coerente con la conformazione morfologica micro e macro strutturale che lo caratterizza. Si noti infatti che al raddoppiare del volume insufflato, la pressione istantanea ha un aumento superiore del 200% e la curva mostra una concavità verso l'alto.

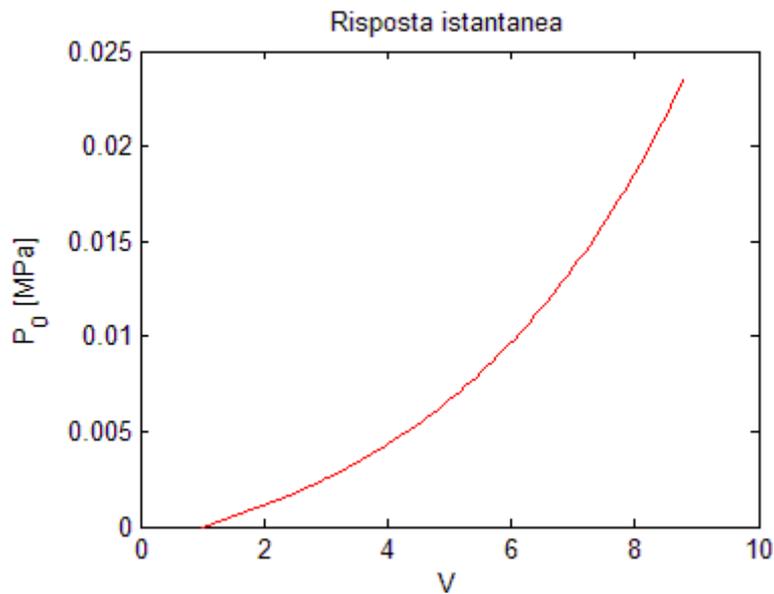


Figura 36 Modello espressivo la relazione tra volume relativo insufflato e pressione istantanea misurata.

#### 4.2.2 Modello fisio-meccanico ad integrazione analitica

Al modello ad integrazione numerica sopra descritto è stata affiancata un'implementazione in forma chiusa per avere un ulteriore riscontro sulle prove eseguite. Il modello fisio-meccanico ad integrazione numerica che descrive la pressione interna  $P(V, t)$  (gli effetti resistivi saranno aggiunti in seguito) può essere riscritto equivalentemente come

$$P(V, t) = \gamma^\infty P^0(V, t) + \sum_{i=1}^n \gamma_i h^{(i)}(t) = P^0(V, t) - \sum_{i=1}^n q_i(t)$$

dove  $P^0$  rappresenta la risposta istantanea, mentre le  $q_i$  sono variabili associate agli  $n$  processi viscosi necessari per la caratterizzazione dei processi tempo-dipendenti che

si sviluppano in conseguenza a variazioni di volume. L'evoluzione delle variabili viscoso è definita, in accordo con la teoria della visco-elasticità, mediante equazioni differenziali:

$$\dot{q}_i + \frac{1}{\tau_i} q_i = \frac{\gamma_i}{\tau_i} P^0(t)$$

dove  $\tau_i$  e  $\gamma_i$  sono parametri caratterizzanti il processo viscoso  $i$ -esimo. Il parametro  $\tau_i$  ha le dimensioni di un tempo ed è legato alla rapidità di svolgimento del processo viscoso, mentre  $\gamma_i$  è adimensionale e descrive il contributo relativo del processo viscoso all'elastanza dell'elemento volumetrico. Più in dettaglio, se  $P^0$  esprime la pressione istantanea, è possibile definire anche una risposta di equilibrio termodinamico,  $P^\infty$ , rappresentativa la risposta dell'elemento volumetrico nell'ipotesi di variazione di volume eseguita in un tempo infinito. Le elastanze istantanea e di equilibrio sono tra di loro legate attraverso i parametri  $\gamma_i$ , secondo la relazione

$$P^\infty = \left( 1 - \sum_{i=1}^n \gamma_i \right) P^0.$$

Le equazioni differenziali  $\dot{q}_i + \frac{1}{\tau_i} q_i = \frac{\gamma_i}{\tau_i} P^0(t)$  per  $i = 1, \dots, n$  trovano soluzione nelle forme integrali

$$q_i(t) = \frac{\gamma_i}{\tau_i} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{t-s}{\tau_i}} P^0(s) ds$$

dove è stato ipotizzato che per  $t \rightarrow -\infty$  le variabili viscoso assumano valore nullo. La forma integrale può essere risolta analiticamente qualora il volume  $V$  presenti dipendenza dal tempo secondo formulazione adeguatamente semplice (es.: dipendenza lineare, come nella fase di insufflazione a velocità costante o valore costante, nella fase di mantenimento del volume per osservare il decadimento della pressione). Nella trattazione di questo paragrafo sarà eseguita l'integrazione analitica della sola funzione contenuta nella formulazione di  $q_i(t)$ ; per la formulazione completa di  $P(V, t)$  sarà sufficiente sostituire il risultato qui proposto, all'interno dell'espressione.

Come descritto nel paragrafo 3.4, tutte le prove sperimentali sono state condotte imponendo un profilo di volume formato da una prima fase di insufflazione a velocità costante per un tempo  $t_L$  e una seconda fase a volume costante; per questo motivo anche il calcolo dell'integrale dovrà essere suddiviso in due parti:

1) per  $t < t_L$

Si ha  $V = kt$  dove  $k$  è la velocità di insufflazione, quindi

$$\begin{aligned} q_i(t) &= \frac{\gamma_i}{\tau_i} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{t-s}{\tau_i}} P^0(s) ds = \frac{\gamma_i}{\tau_i} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{t-s}{\tau_i}} a(e^{bks} - 1) ds \\ &= a\gamma_i \left( \frac{e^{bkt}}{bkt + 1} - 1 \right) \end{aligned}$$

2) per  $t > t_L$

Si ha  $V = kt_L$ , quindi

$$\begin{aligned} q_i(t) &= q_i(t_L) e^{-\frac{t-t_L}{\tau_i}} + \frac{\gamma_i}{\tau_i} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{t-s}{\tau_i}} a(e^{bkt_L} - 1) ds \\ &= a\gamma_i \left[ e^{bkt_L} \left( 1 - \frac{bkt_L}{bkt_L + 1} e^{-\frac{t-t_L}{\tau_i}} \right) - 1 \right] \end{aligned}$$

Si noti l'aggiunta del termine esponenziale che moltiplica  $q_i(t_L)$ : esso è necessario in quanto la relazione è di tipo viscoelastico, quindi la condizione iniziale  $q_i(t) = q_i(t_L)$  ha una rilevanza che va attenuandosi nel tempo.

### 4.3 Analisi della risposta istantanea

In questo paragrafo verrà validato il modello istantaneo e ne verranno identificati i parametri; verrà infatti confrontato il modello di  $P^0(V, t)$  con i dati sperimentali. Questo confronto sarà usato per stimare i parametri in esso contenuti che fanno corrispondere con maggiore precisione i dati sperimentali al modello.

Per ogni serie temporale acquisita (e pre-elaborata) è stato estratto il valore massimo di pressione misurato in corrispondenza della fine della fase di insufflazione a velocità costante ed è stato considerato come *pressione istantanea*<sup>3</sup>.

Plottando  $P_{MAX}$  contro  $V$  (Figura 37) ci si rende conto che effettivamente, da una prima analisi visiva, il comportamento è irrigidente: al raddoppiare del volume relativo cioè, la pressione istantanea ha un aumento maggiore del 200% e il trend della nuvola mostra una concavità verso l'alto.

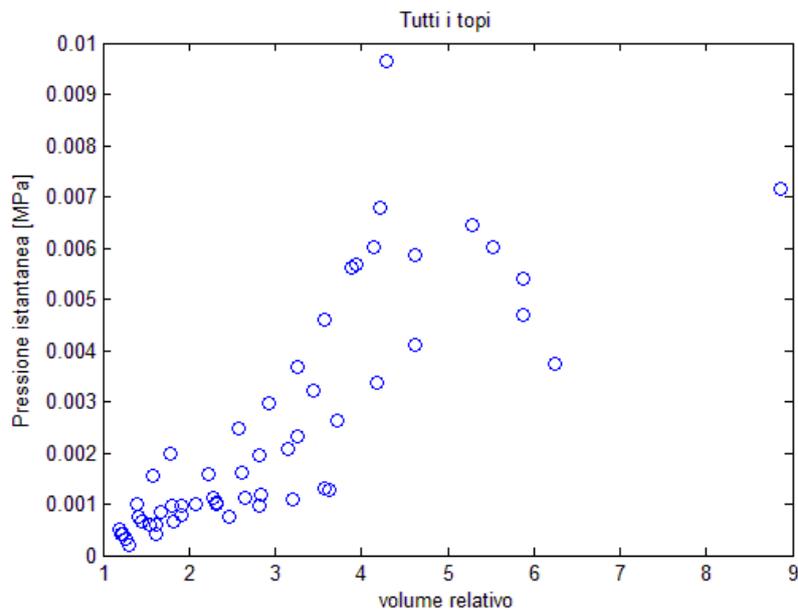


Figura 37 Relazione sperimentale tra volume relativo insufflato e pressione istantanea misurata.

Eseguendo il plot delle pressioni istantanee selezionando le sole curve appartenenti al k-esimo ratto, si ottiene una curva detta *isocrona* formata da tanti punti quante sono le prove che sono state eseguite su di esso (Figura 38). Questa serie di punti rappresenta, per il k-esimo ratto, la relazione sperimentale tra la pressione istantanea e il volume insufflato.

---

<sup>3</sup> La pressione misurata in realtà non è istantanea; il flusso d'aria infatti non ha velocità infinita, quindi il periodo di insufflazione ha una durata finita (se pur molto breve dell'ordine di 0.5 – 1 s). Per il momento tuttavia si considera trascurabile la perdita di pressione avvenuta durante la fase di insufflazione, ipotesi che sarà poi verificata nel paragrafo 4.5.

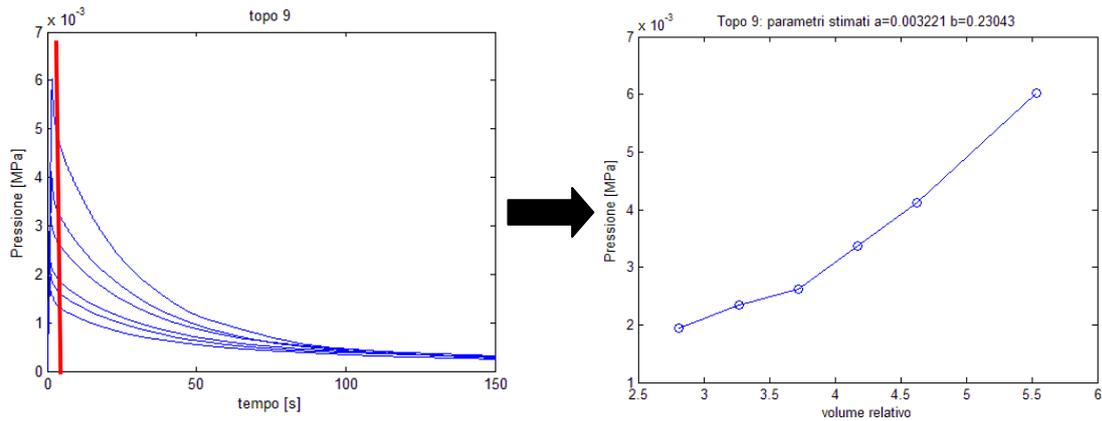


Figura 38 Costruzione delle curve isocrone per il ratto numero 9.

Eseguendo questa procedura per ognuno dei topi è stato notato che sono presenti alcuni outliers: punti cioè che a causa di errori sperimentali fuoriescono dall'andamento esponenziale previsto (Figura 39). Le serie temporali relative a questi punti sono state eliminate dall'analisi.

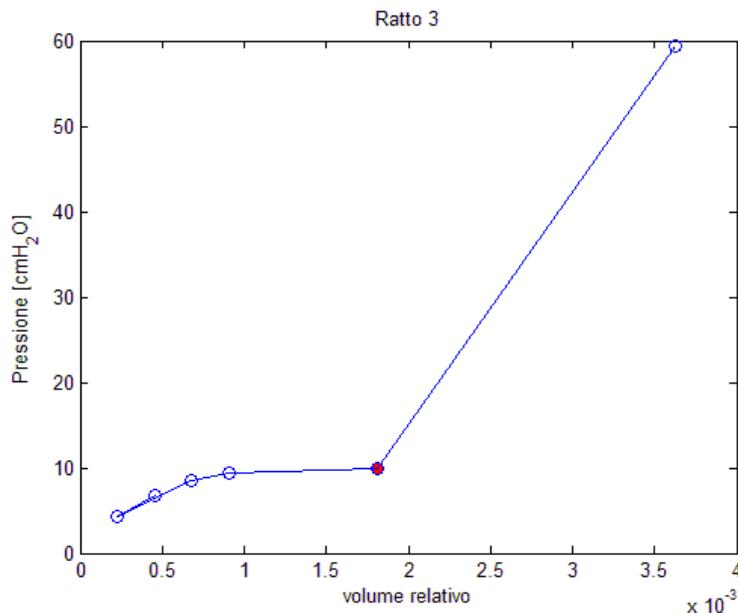


Figura 39 Eliminazione di una prova considerata outlier.

#### 4.3.1 Identificazione dei parametri istantanei del modello fisio-meccanico

Con una procedura di minimizzazione simile a quella spiegata in precedenza, sono stati identificati (per ogni ratto singolarmente) i parametri  $a_0$  e  $b_0$  che meglio riescono ad adattare l'esponenziale ai dati sperimentali. Più precisamente sono stati ricavati iterativamente i parametri  $a_0$  e  $b_0$  che rendono minima la discrepanza tra i

punti sperimentali del grafico pressione-volume e la curva calcolata come  $P^0(V) = a_0(e^{b_0(V-1)} - 1)$ .

Per ogni ratto è stato effettuato una controllo della consistenza dei parametri identificati, verificando che la curva pressione-volume ricalcolata vada ad interpolare effettivamente i valori sperimentali (Figura 40).

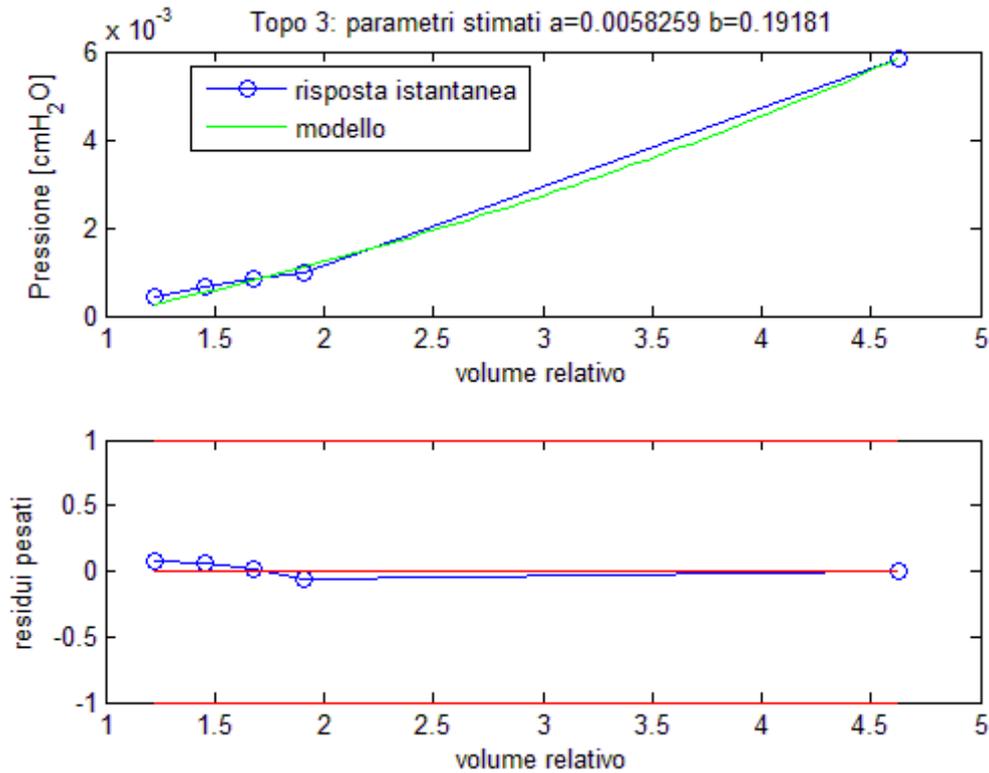


Figura 40 Identificazione dei parametri istantanei sulla curva isocrona relativa al topo numero 3.

Per avere una ulteriore conferma sulla dimensione dei parametri identificati, è stata calcolata la funzione  $P^0(V) = a_0(e^{b_0(V-1)} - 1)$  utilizzando il valore medio di  $a_0$  e il valore medio di  $b_0$ ; questa curva (come ci si aspettava) interpola ragionevolmente la nuvola di punti plottata in precedenza (Figura 41).

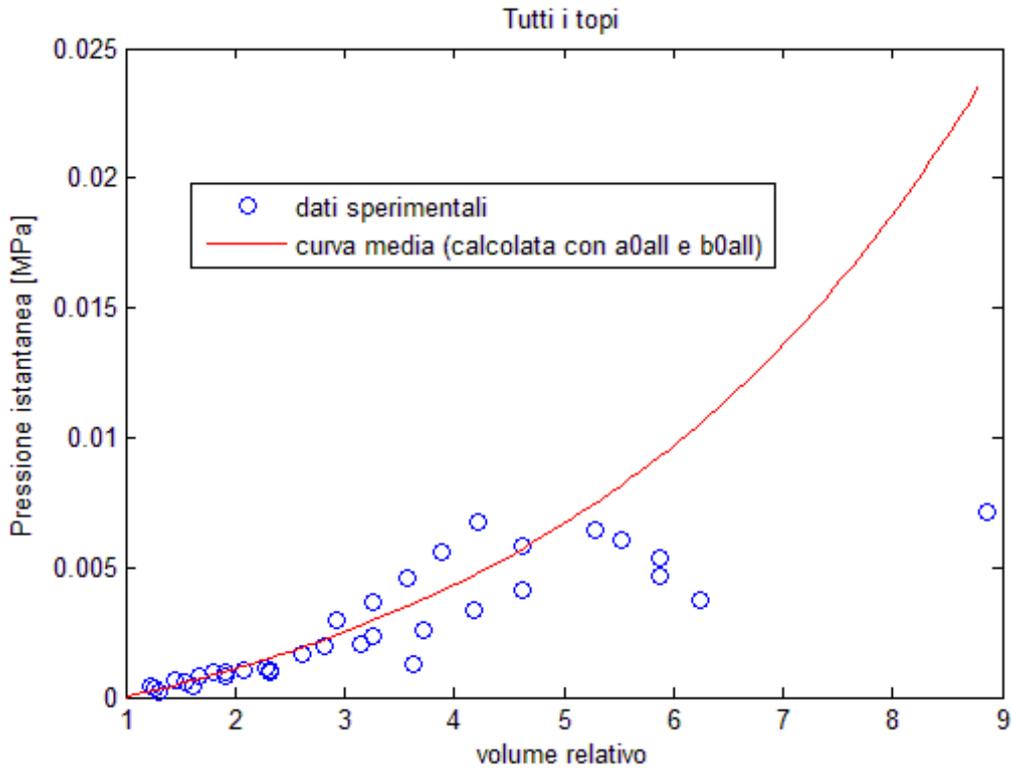


Figura 41 Curva di modello calcolata con i parametri medi di tutti i ratti, sovrapposta alla nuvola di dati sperimentali.

Si riportano i valori medi dei parametri  $a_0$  e  $b_0$ :

$$a_0 = 0.0038 \text{ MPa},$$

$$b_0 = 0.2533.$$

#### 4.4 Analisi della risposta differita nel tempo

Dopo aver eliminato le prove inconsistenti, dopo aver verificato la validità del modello istantaneo e dopo averne identificato i parametri, è stata ripetuta la procedura formale di identificazione del solo parametro  $a$  per istanti successivi al valore di picco. Si può riscrivere infatti l'intera formulazione della pressione interna come funzione della sola componente iperelastica, introducendo un parametro  $a$  che possa variare nel tempo:

$$P(V, t) = \gamma^\infty P^0(V, t) + \sum_{i=1}^n \gamma_i h^{(i)}(t) = a(t)(e^{b_0(V-1)} - 1).$$

Dopo aver modificato il modello proposto per  $P(V, t)$  usando la sola formulazione istantanea per descrivere l'evoluzione temporale delle pressioni (effetti viscosi

inclusi!), è intuitivo pensare che  $a$  è l'unico parametro ad avere motivo fisiologico di variare nel tempo; da esso infatti dipende il valore di scala dell'esponenziale. Il parametro  $b$ , al contrario, influisce sulla non linearità dell'esponenziale ed è quindi un parametro intrinseco del tratto di intestino sottoposto al test di insufflazione che non ha ragione di variare nel tempo.

Come mostrato in Figura 42, per ognuno dei ratti selezionati sono state ricostruite le curve isocrone in 29 istanti successivi al tempo di fine insufflazione  $t_l$ . Per ognuna delle 29 isocrone estrapolate è stato identificato il valore di  $a_k = a(t_k)$  che rende il modello  $P(V, t_k) = a_k(e^{b_0(V-1)} - 1)$  "più simile ai dati sperimentali" (che minimizza, cioè, la discrepanza tra le due curve). Si noti che nel calcolo è stato utilizzato il valore di  $b_0$  identificato con le isocrone al tempo  $t = 0$ .

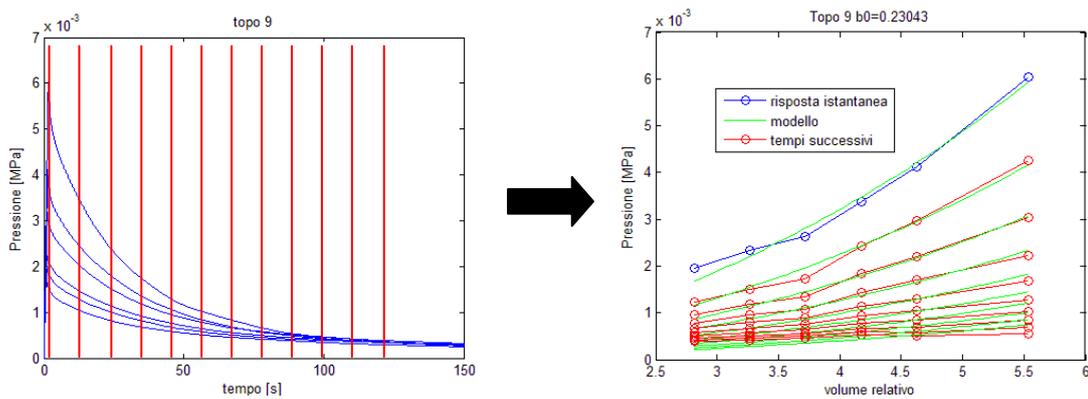


Figura 42 Costruzione delle curve isocrone per istanti successivi.

Andando a verificare la grandezza dei parametri identificati, ci si è resi conto che alcuni di essi erano dimensionalmente incoerenti con la maggior parte delle prove. Anche queste prove sono state escluse dall'analisi finale (Figura 43).

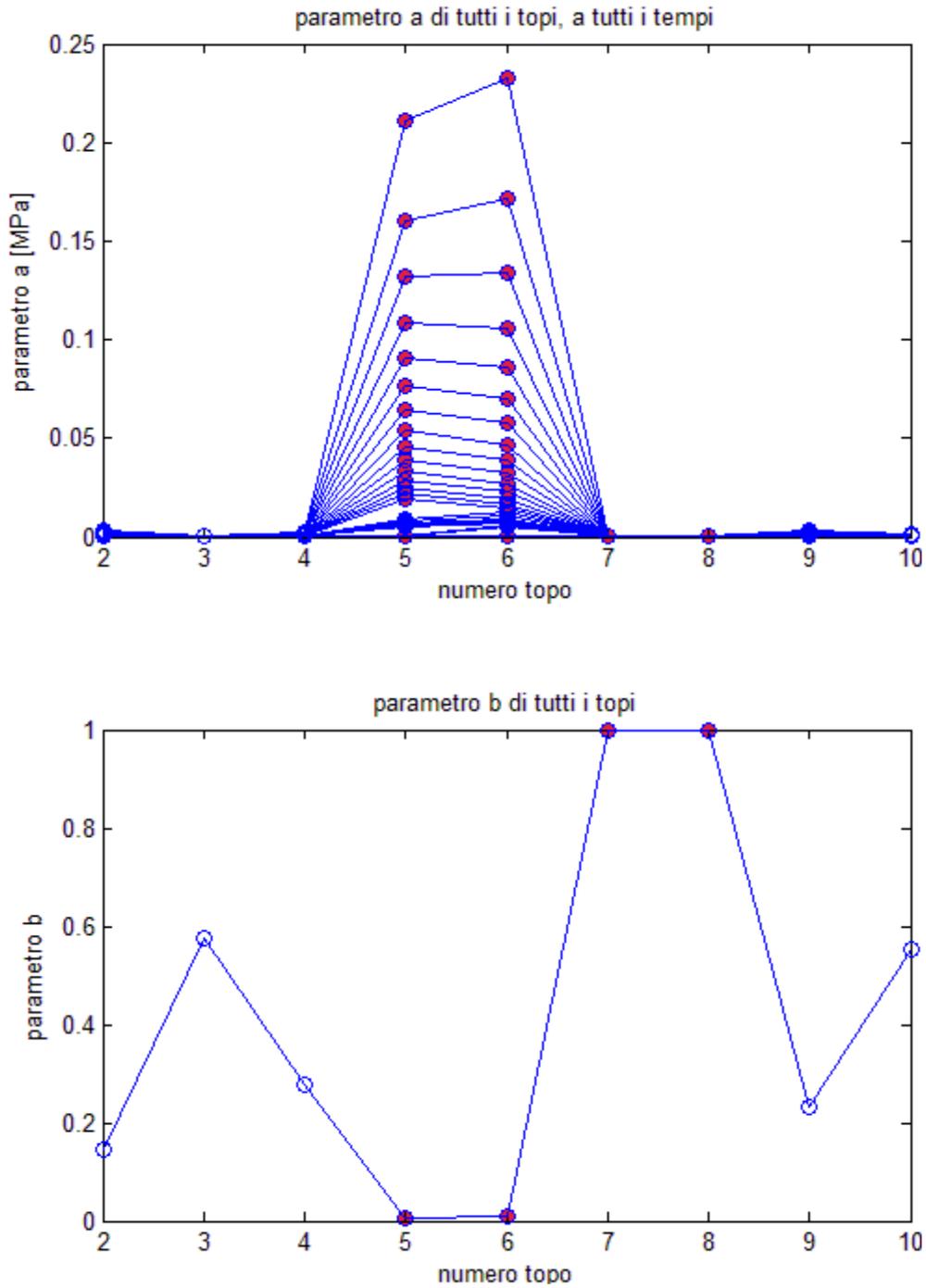


Figura 43 Eliminazione dei topi 5, 6, 7, 8 a causa dell'inconsistenza dei parametri identificati.

Riprendendo la formulazione analitica di  $q(t)$  ottenuta nel paragrafo 4.2.2

$$q_i(t) = \frac{\gamma_i}{\tau_i} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{t-s}{\tau_i}} P^0(V) ds = a_0 \{e^{b_0(V-1)} - 1\} \left\{1 - e^{-\frac{t}{\tau_i}}\right\}$$

e inserendola nella formulazione della pressione interna, si ottiene

$$P(t) = P^0(V(t)) - \sum_{i=1}^n q_i(t) = a_0 \{e^{b_0(V-1)} - 1\} \left\{1 - \sum_i \gamma_i \left[1 - e^{-\frac{t}{\tau_i}}\right]\right\}.$$

Questa espressione, se confrontata con la formulazione “condensata”

$$P(t) = a(t)(e^{b_0(V-1)} - 1)$$

restituisce tramite pochi e semplici passaggi algebrici una formulazione analitica dell’evoluzione temporale per il parametro  $a(t)$ . Si ha infatti:

$$a_0 \{e^{b_0(V-1)} - 1\} \left\{1 - \sum_i \gamma_i \left[1 - e^{-\frac{t}{\tau_i}}\right]\right\} = a(t)(e^{b_0(V-1)} - 1)$$

$$\rightarrow a(t) = a_0 \left\{1 - \sum_i \gamma_i \left[1 - e^{-\frac{t}{\tau_i}}\right]\right\}.$$

#### 4.5 Stima dei parametri viscosi

Una volta selezionate definitivamente le prove da tenere in conto per l’analisi finale, è stato plottato l’andamento di  $a$  per ogni ratto in funzione del tempo: come ci si aspettava dal modello teorico  $a(t) = a_0 \left\{1 - \sum_i \gamma_i \left[1 - e^{-\frac{t}{\tau_i}}\right]\right\}$ , anche i valori sperimentali hanno mostrato un decadimento esponenziale (Figura 44).

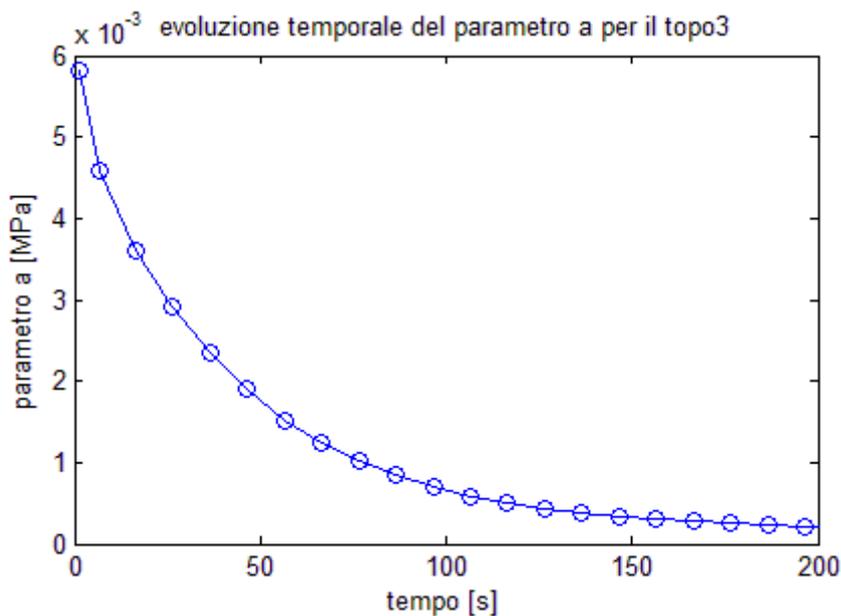


Figura 44 Evoluzione temporale del parametro  $a$  identificato tramite le curve isocrone relative al ratto numero 3.

Minimizzando la discrepanza tra la formulazione analitica di  $a(t)$  e i suoi valori sperimentali estrapolati dalle isocrone di tutti i ratti, si giunge alla stima (all'identificazione) dei parametri viscosi  $\gamma_i$  e  $\tau_i$ . Come per  $a$  e  $b$  infatti, è stata eseguita l'identificazione dei  $2n$  parametri caratterizzanti gli  $n$  rami viscosi necessari per descrivere il processo di rilassamento delle pressioni:  $\tau_i$  e  $\gamma_i$  con  $i = 1, \dots, n$ . Come già fatto in precedenza, il procedimento di identificazione è svolto ricercando il valore dei parametri che minimizza la discrepanza una curva di riferimento e la curva calcolata tramite il modello matematico con i parametri "provvisori" che vanno aggiornati iterativamente, fino al raggiungimento di una discrepanza inferiore ad una certa soglia. In questo caso però si ha la necessità di ridurre la discrepanza tra la curva "di modello" e tutte le curve sperimentali (sono 6: una per ogni ratto selezionato) contemporaneamente. Questo procedimento ha stessa valenza e converge agli stessi risultati che si ottengono assumendo come curva di riferimento l'andamento medio di tutte le curve  $a(t)$  ricavate da profili di pressione sperimentali (Figura 45).

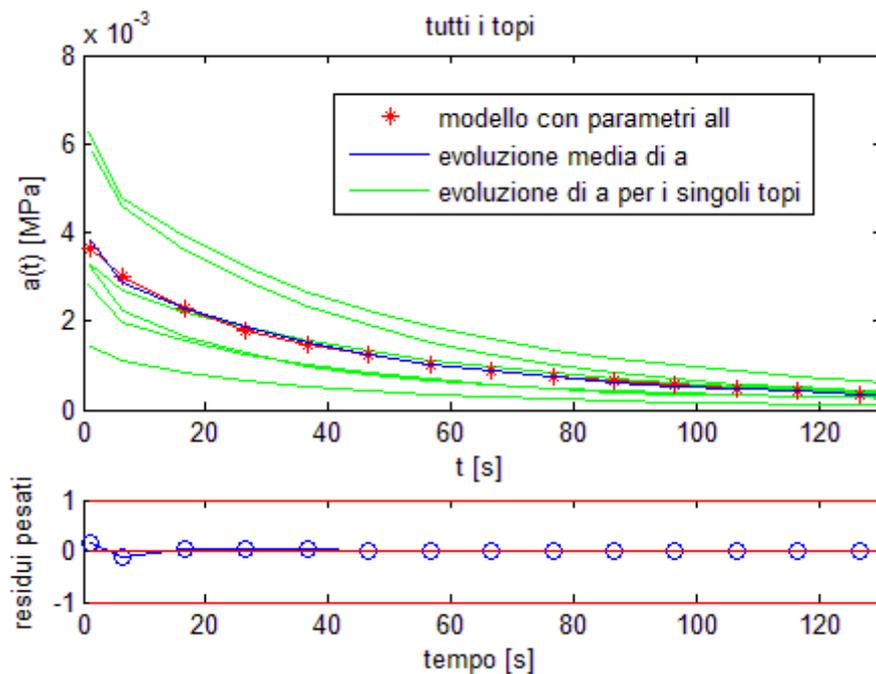


Figura 45 Identificazione dei parametri viscosi mediante minimizzazione della discrepanza tra curva di modello e evoluzione media del parametro  $a$ .

I valori identificati sono:  $\tau = [11.3535 \ 57.0037]$ ,  $\gamma = [0.3022 \ 0.6784]$ .

#### 4.5.1 Scelta del numero di rami viscosi: criterio di parsimonia

Al fine di identificare i parametri viscosi è necessario decidere il numero di processi viscosi da considerare nel modello. Questa scelta del programmatore può essere critica, in quanto un modello troppo semplice (con pochi rami, cioè) garantisce un'elevata precisione di stima dei parametri, ma può non riuscire a seguire l'andamento della curva di riferimento. Al contrario, se si decide di adottare un modello complesso, la curva di riferimento sarà ricalcata esattamente dal modello e la discrepanza sarà minima, ma la stima dei parametri sarà caratterizzata da un'incertezza troppo grande. Questo è un tipico problema di compromesso, che può essere risolto attraverso diversi metodi statistici, detti criteri di parsimonia; in questo lavoro sarà adottato il criterio di Akaike. Esso consiste nel calcolare un valore che cresce sia con la discrepanza del modello con la curva di riferimento ( $WRSS$ ), sia con il numero di parametri ( $K = 2n$ ):

$$AIC = WRSS + 2K$$

il modello che presenta L' $AIC$  più basso è detto il più parsimonioso. Questo indice, sebbene presenti una formula semplice e intuitiva, è stato ricavato tramite metodi statistici e ha solide basi matematiche alle sue spalle. I calcoli svolti suggeriscono che il modello che presenta  $n = 2$  rami viscosi è il più parsimonioso e rappresenta quindi il compromesso ideale tra una discrepanza minima molto bassa e un numero di parametri ragionevolmente contenuto.



## 5 MODELLI COSTITUTIVI

Nei capitoli precedenti è stata consolidata una metodologia operativa, volta alla descrizione della risposta meccanica globale di un tratto di tubo digerente (inteso come complessa struttura cilindrica stratificata composta da livelli differenti sia dal punto di vista meccanico che da quello istologico) sottoposto a insufflazione. Il passo successivo per avere conferma di quanto ottenuto e per ottenere dalla sperimentazione eseguita dei risultati confrontabili con quelli disponibili in letteratura (cioè i parametri costitutivi del materiale), consiste nell'applicazione delle conoscenze teoriche della meccanica strutturale per osservare il comportamento di un campione cilindrico cavo isotropo ideale sottoposto alla stessa prova.

Questo capitolo presenta una descrizione meccanica del tubo digerente, eseguita mediante metodi derivati dall'espressione di un funzionale di densità di energia di deformazione accumulata nella parete di un cilindro ideale sottoposto a insufflazione (*modello costitutivo*) e con metodi derivati dall'imposizione dell'equilibrio statico delle forze agenti su una sua porzione (*modello analitico*). Dal confronto di questi due modelli scaturiranno poi i valori dei parametri costitutivi del materiale costituente la parete intestinale, i quali troveranno una ulteriore validazione nella simulazione con il metodo degli elementi finiti (FEM – *modello numerico*). Per semplificare la trattazione matematica del problema elastico nel caso del modello analitico, si è deciso di assumere una distribuzione uniforme delle tensioni lungo la parete del campione testato; nel modello numerico invece, la disomogeneità delle tensioni sarà tenuta in considerazione e consentirà di avere una simulazione più realistica dei processi meccanici in corso.

### 5.1 Modello costitutivo

Il modello costitutivo qui proposto per la descrizione del comportamento del tessuto che costituisce la parete intestinale è di tipo visco iperelastico; si assume cioè che nella relazione che lega lo stato deformativo, lo stato tensionale e il potenziale iperelastico, siano presenti dei processi viscosi in grado di dissipare l'energia elastica immagazzinata.

In questa parte di lavoro si fa riferimento alle tre coordinate cilindriche, alle corrispondenti direzioni principali (Figura 46):

- longitudinale: asse  $i_z$ ,
- radiale: asse  $i_s$ ,
- tangenziale: asse  $i_\theta$ ,

e alle relative dilatazioni  $\lambda_z = \frac{l}{l_0}$ ,  $\lambda_s = \frac{s}{s_0}$  e  $\lambda_\theta = \frac{r}{r_0}$  rispettivamente.

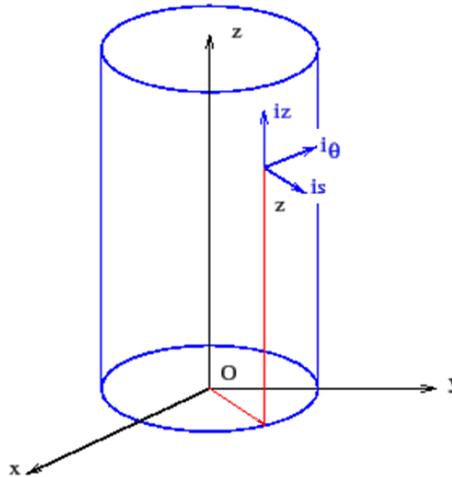


Figura 46 Coordinate cilindriche: direzioni principali.

Come già detto, il modello costitutivo consiste sostanzialmente nella formulazione di un funzionale  $W(\mathbf{C})$  di densità di energia elastica immagazzinata nel materiale. Questo funzionale rappresenta la quantità di lavoro svolto dalle forze esterne che ha prodotto una deformazione all'interno dello spessore della parete del cilindro e che è stata immagazzinata reversibilmente dal materiale subito dopo l'applicazione della deformazione (rappresentata dall'insufflazione pressoché istantanea). Come è intuitivo, i processi viscosi causati dallo spostamento della componente liquida della matrice extracellulare e dal riarrangiamento delle fibre di collagene che compongono i tessuti, provocano una perdita progressiva dell'energia immagazzinata dissipandola irreversibilmente.

La definizione del modello costitutivo si esaurisce quindi nella definizione delle relazioni tra lo stato tensionale (nella forma del secondo tensore di Piola-Kirchoff), lo stato deformativo (sotto forma di tensore di Cauchy-Green) e il potenziale iperelastico, ovvero definendo la relazione:

$$\mathbf{S}(\mathbf{C}, t) = \mathbf{S}^0(\mathbf{C}) - \sum_{i=1}^n \mathbf{q}_i(t)$$

con

$$\mathbf{S}^0(\mathbf{C}) = 2 \frac{\partial W}{\partial \mathbf{C}} - h \mathbf{C}^{-1}$$

e

$$\mathbf{q}_i(t) = \frac{\gamma_i}{\tau_i} \int_0^t e^{-\frac{t-s}{\tau_i}} \mathbf{S}^0(\mathbf{C}) ds,$$

dove  $h$  (da non confondere con la variabile di stato nel paragrafo 4.2.1) esprime la componente idrostatica di tensione legata al comportamento incomprimibile tipico dei tessuti biologici in cui la componente liquida è prevalente.

Nelle formulazioni descritte i parametri viscosi sono quelli identificati tramite l'analisi con il modello fisio-meccanico.

Il funzionale di densità di energia di deformazione, come sola funzione dello stato deformativo, viene definito dalla seguente:

$$W(\mathbf{C}) = U(J) + \frac{C_1}{\alpha_1} \{ \exp[\alpha_1(I_1 - 3)] - 1 \}$$

dove  $I_1 = \lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 + \lambda_s^2$  è il primo invariante di deformazione, corrispondente alla variazione volumetrica del materiale.

Sapendo che

$$\frac{\partial W}{\partial \mathbf{C}} = \frac{\partial W}{\partial I_1} \frac{\partial I_1}{\partial \mathbf{C}} \quad \frac{\partial W}{\partial I_1} = C_1 \exp[\alpha_1(I_1 - 3)],$$

si può scrivere

$$\begin{aligned} \mathbf{S} &= 2C_1 \exp[\alpha_1(I_1 - 3)] \mathbf{1} - h \mathbf{C}^{-1} \\ \rightarrow \boldsymbol{\sigma} &= 2C_1 \exp[\alpha_1(I_1 - 3)] \mathbf{B} - h \mathbf{1} \end{aligned}$$

che con

$$\mathbf{B} = \begin{bmatrix} \lambda_{\theta}^2 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_z^2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_s^2 \end{bmatrix}$$

corrisponde al sistema di tre equazioni esprime la formulazione delle tensioni interne alla parete intestinale, derivanti dal funzionale di densità di energia iperelastica:

$$\sigma_{\theta} = 2C_1 \exp[\alpha_1(I_1 - 3)] \lambda_{\theta}^2 - h$$

$$\sigma_z = 2C_1 \exp[\alpha_1(I_1 - 3)] \lambda_z^2 - h$$

$$\sigma_s = 2C_1 \exp[\alpha_1(I_1 - 3)] \lambda_s^2 - h.$$

Questa formulazione andrà confrontata con quella ottenuta dal modello analitico per il calcolo della variazione volumetrica e infine dei parametri costitutivi.

## 5.2 Modello analitico interpretativo le prove sperimentali

Le formulazioni finora proposte descrivono solo la relazione (tempo-dipendente) che lega una pressione ad un volume, a prescindere dall'effettivo dispositivo fisico in cui sono state rilevate. In questo paragrafo verrà invece esposta l'analisi del comportamento meccanico di un cilindro cavo a parete sottile composto da un materiale isotropo. L'isotropia dei tessuti che formano il tubo digerente è un'ipotesi di lavoro chiaramente falsa, in quanto la complessa disposizione delle fibre li rende fortemente anisotropi e quindi incredibilmente efficienti nella gestione dei carichi a cui sono sottoposti durante la digestione. L'obiettivo di questa parte di lavoro è tuttavia solo quello di ricavare i parametri costitutivi del materiale "isotropo" per poterli usare nel modello a elementi finiti che sarà costruito successivamente, nonché di interpretare in modo mediato il contributo di tutti gli strati anatomici. Per questi motivi non vi è la necessità di particolare accuratezza nella modellistica ed è possibile lavorare con un modello isotropo decisamente più semplice e maneggevole per il lavoro qui descritto.

Per il calcolo delle tensioni tangenziali  $\sigma_{\theta}$ , si finge di tagliare longitudinalmente il cilindro e si impone l'equilibrio alla traslazione verticale su una sua sezione trasversale (Figura 47-a):

$$L \int_0^{\pi} r h \sin\theta d\theta = 2 \sigma_{\theta} L s \rightarrow \sigma_{\theta} = \frac{r h}{s}.$$

Per il calcolo delle tensioni longitudinali  $\sigma_z$  invece, si impone l'equilibrio alla traslazione longitudinale dell'estremità chiusa del cilindro. In particolare si avrà che devono equivalersi le azioni della pressione idrostatica interna agente sulla parete dell'estremità chiusa, con le tensioni longitudinali dell'estremità sezionata (**Error! Reference source not found.**):

$$\pi r^2 h = 2 \pi r s \sigma_z \rightarrow \sigma_z = \frac{r h}{2s}.$$

Questi due primi risultati possono essere espressi in funzione delle dilatazioni e delle dimensioni del cilindro a riposo:

$$\sigma_{\theta} = \frac{r h}{s} = \frac{h \lambda_{\theta} r_0}{\lambda_s s_0} \quad \sigma_z = \frac{r h}{s} = \frac{h \lambda_{\theta} r_0}{2 \lambda_s s_0}$$

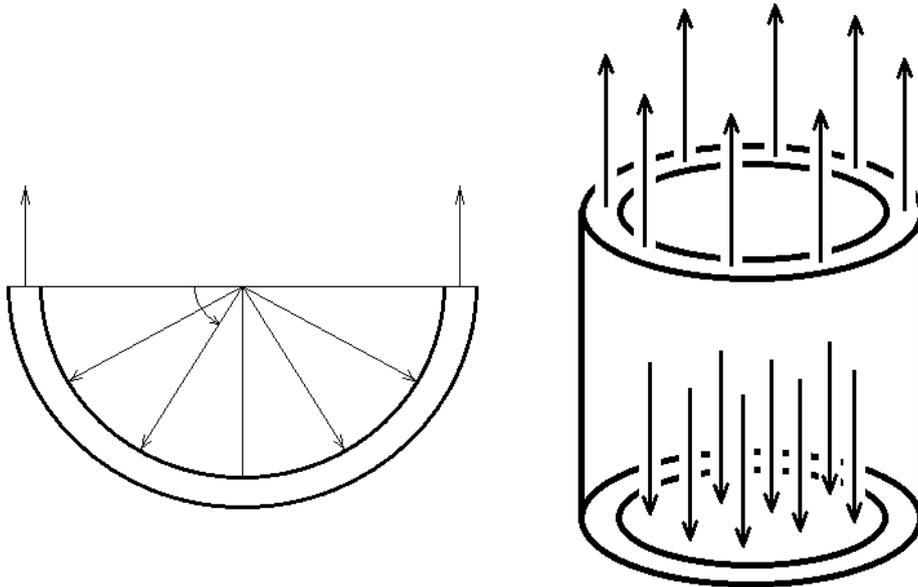


Figura 47 Schematizzazione del bilanciamento delle azioni delle pressioni, su sezioni del cilindro.

### 5.2.1 Identificazione dei parametri costitutivi

Introducendo le ulteriori ipotesi (ragionevoli) di trascurabilità delle tensioni radiali

$$\sigma_s = 0$$

e di incomprimibilità del tessuto

$$\lambda_\theta \lambda_z \lambda_s = 1,$$

ed eguagliando le formulazioni analitiche delle tensioni con quelle ottenute dal modello costitutivo, è possibile costruire un sistema di quattro equazioni nelle quattro incognite  $\lambda_\theta$ ,  $\lambda_z$ ,  $\lambda_s$  e  $h$ , dipendente dai parametri costitutivi  $C_1$  e  $\alpha_1$ :

$$\begin{cases} 2C_1 \exp[\alpha_1(\lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 + \lambda_s^2 - 3)] \lambda_\theta^2 - h = \frac{h\lambda_\theta r_0}{\lambda_s s_0} \\ 2C_1 \exp[\alpha_1(\lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 + \lambda_s^2 - 3)] \lambda_z^2 - h = \frac{h\lambda_\theta r_0}{2\lambda_s s_0} \\ 2C_1 \exp[\alpha_1(\lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 + \lambda_s^2 - 3)] \lambda_s^2 - h = 0 \\ \lambda_\theta \lambda_z \lambda_s = 1 \end{cases}$$

Questo sistema non lineare può essere riscritto in forma matriciale come

$$\Psi(\lambda_\theta, \lambda_z, \lambda_s, h) - F(h) = \mathbf{0}$$

dove

$$\Psi(\lambda_\theta, \lambda_z, \lambda_s, h) = \begin{bmatrix} \frac{\lambda_s s_0}{\lambda_\theta r_0} (2C_1 \exp[\alpha_1(\lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 + \lambda_s^2 - 3)] \lambda_\theta^2 - h) \\ \frac{2\lambda_s s_0}{\lambda_\theta r_0} (2C_1 \exp[\alpha_1(\lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 + \lambda_s^2 - 3)] \lambda_z^2 - h) \\ 2C_1 \exp[\alpha_1(\lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 + \lambda_s^2 - 3)] \lambda_s^2 - h \\ \lambda_\theta \lambda_z \lambda_s \end{bmatrix}$$

e

$$F = \begin{bmatrix} h \\ h \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}.$$

Questo risultato trova la sua utilità nel calcolo della funzione costo per l'identificazione dei parametri costitutivi  $C_1$  e  $\alpha_1$  che caratterizzano il sistema fisico. Partendo da dei valori di tentativo per  $C_1$  e  $\alpha_1$  infatti, è possibile ricavare

iterativamente<sup>4</sup> il valore delle incognite che soddisfano il sistema non lineare e da esse ricavare la dilatazione volumetrica subita dal cilindro cavo:

$$V_{modello} = V_{modello}(P, C_1, \alpha_1) = \frac{\pi r^2 L}{\pi r_0^2 L_0} = \lambda_\theta^2 \lambda_z.$$

Si ha quindi una funzione dipendente dai parametri costitutivi che, data una pressione interna  $P$ , calcola il volume finale raggiunto. Questa funzione andrà confrontata con i dati sperimentali di riferimento e saranno identificati i valori di  $C_1$  e  $\alpha_1$  che minimizzano la discrepanza tra le due curve, rappresentata dalla funzione costo

$$\Omega = \sum_{i=1}^N \left(1 - \frac{V_{riferimento}}{V_{modello}}\right)^2.$$

Come curva di riferimento è stata utilizzata la funzione inversa della relazione ottenuta dal modello fisio-meccanico che lega la pressione al volume insufflato istantaneamente (Figura 48), utilizzando i valori di  $a_0$  e  $b_0$  identificati in precedenza:

$$P^0(v) = a_0(e^{b_0(v-1)} - 1) \rightarrow V(P^0) = f(P^0).$$

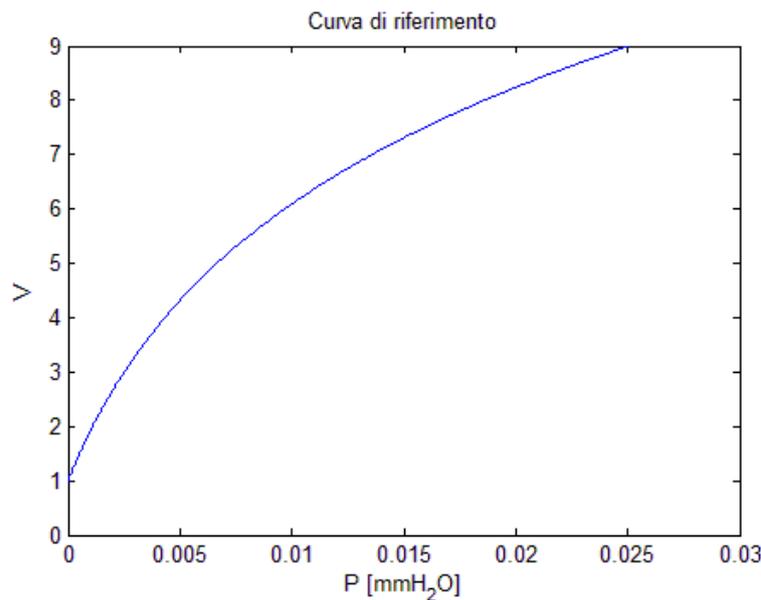


Figura 48 Funzione inversa della relazione volume relativo insufflato-pressione istantanea.

<sup>4</sup> E' stato utilizzato in questo caso il metodo iterativo a tangente variabile di Newton-Raphson. Per i dettagli si faccia riferimento al paragrafo 7.4

La minimizzazione della funzione costo ha portato ad ottenere dei parametri  $C_1$  e  $\alpha_1$  che consentono al modello  $V(P^0) = f(P^0)$  di ricalcare perfettamente i dati sperimentali (Figura 49):

$$C_1 = 0.0017316 \text{ MPa}$$

$$\alpha_1 = 0.64187$$

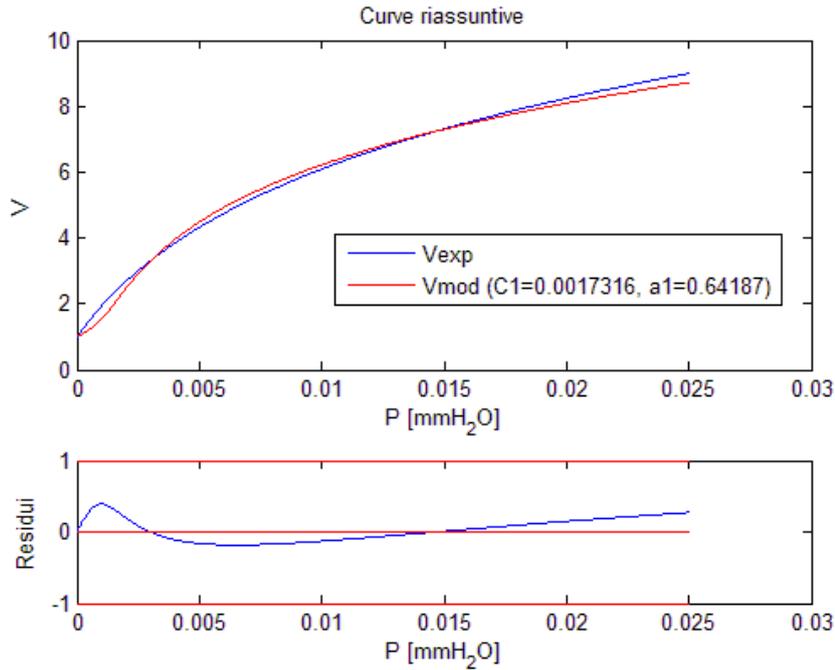


Figura 49 Sovrapposizione della curva pressione istantanea-volume relativo con la stessa curva, identificata tramite modello costitutivo.

(Carniel, Fontanella, & Natali, Investigation of stress relaxation phenomena in biological tissues)

### 5.3 Modello numerico interpretativo le prove sperimentali

E' di interesse implementare un modello FEM (Finite Elements Model) per verificare che la relazione tempo dipendente tra pressione e volume che è stata rilevata sperimentalmente sia, almeno in prima approssimazione, uguale a quella che andrà stimata tramite il modello numerico qui descritto.

La struttura progettata rappresenta, se pur con opportune semplificazioni, il tratto di intestino tenue che è stato sottoposto ad insufflazione. Essa è composta da tre sezioni principali (Figura 50):

- 1) *raccordo*: cilindro cavo iniziale di lunghezza 4 mm, raggio esterno 1.5 mm e spessore 0.67 mm (Azevedo, Hermes, Manzano, Araùjo, & Sant'ana, 2007) che non subirà l'applicazione delle pressioni interne. I suoi scopi primari sono quelli di simulare il raccordo del campione alla cannula di insufflazione e soprattutto di evitare che le pressioni vengano applicate nelle immediate vicinanze dei vincoli imposti. La sua sezione trasversale estrema libera è stata infatti vincolata per impedirne lo spostamento in tutte le direzioni.
- 2) *corpo*: cilindro cavo iniziale di lunghezza 30mm, raggio esterno 1.5mm e spessore 0.67mm che rappresenta lo sviluppo in lunghezza del campione testato.
- 3) *estremità chiusa*: semisfera cava di raggio esterno 1.5mm e spessore 0.67mm atta a simulare l'estremità suturata del campione.

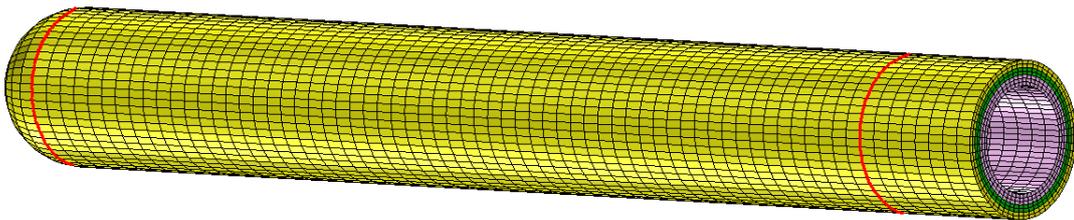


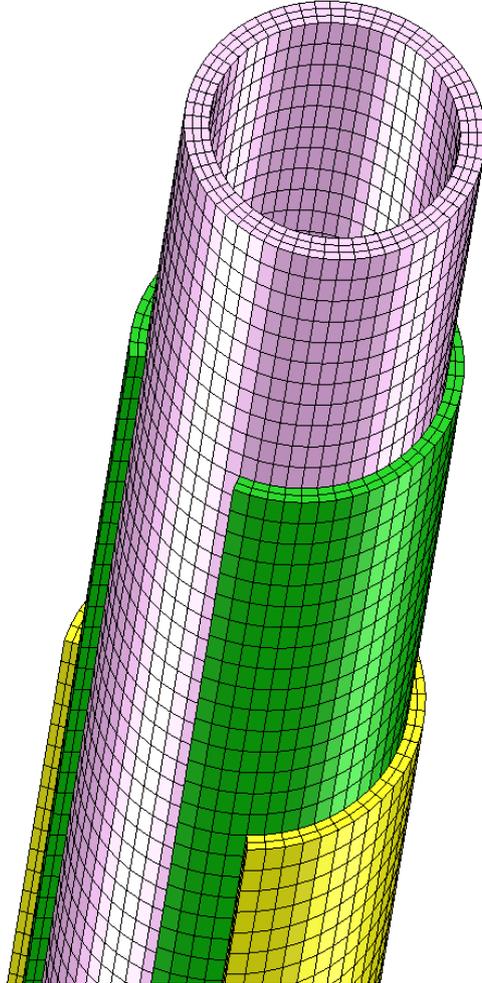
Figura 50 Modello numerico: le tre sezioni principali sono separate da linee rosse.

Ogni sezione è formata dalla sovrapposizione di tre strati concentrici per simulare l'azione combinata dei tre strati principali componenti il tessuto gastrointestinale: mucosa, fascia muscolare circonferenziale e fascia muscolare longitudinale (**Error! Reference source not found.**).

### 5.3.1 Validazione dei parametri costitutivi

Una volta progettata la struttura, è stata simulata l'applicazione quasi istantanea (tempo di applicazione: 1s) di una pressione interna di grandezza simile a quelle che venivano misurate all'interno del campione murino nell'istante immediatamente consecutivo al termine della fase di insufflazione. Questa azione è necessaria per imporre una variazione volumetrica alla struttura. Dopo aver riscontrato una deformazione simile a quella visibile sui campioni di intestino (Figura 52), è stato estratto l'andamento temporale della pressione interna. Essa infatti non è misurabile

direttamente o restituita dalla simulazione di Abaqus, ma può essere estrapolata dall'analisi numerica, in quanto è proporzionale alla tensione tangenziale circonferenziale presente sugli elementi interni.



*Figura 51 Sezione a vari livelli del modello numerico. Si possono notare le tre stratificazioni corrispondenti a mucosa (rosa), submucosa (verde) e muscularis externa (giallo).*

Un primo risultato del modello numerico è di tipo qualitativo; si può notare cioè, che la forma assunta dalla struttura FEM dopo la simulazione ha un aspetto simile a quello del campione sperimentale sottoposto ad insufflazione (Figura 52). Ovviamente, essendo la struttura virtuale priva di imperfezioni, non sono presenti torsioni del campione simili a quelle che si verificano nella struttura reale a causa della presenza del mesenterio. Questa prima conclusione, se pur empirica, dà fiducia sul dimensionamento dei parametri costitutivi stimati e delle pressioni applicate.



Figura 52 Campione deformato relativo al modello a elementi finiti (a) e relativo alla prova sperimentale (b)

I risultati veri e propri si possono verificare analizzando la relazione pressione-volume dell'esperimento simulato con quella reale. Si verifica che effettivamente la curva numerica approssima sorprendentemente bene quella sperimentale e quindi interpola la nuvola di punti costituita dalla relazione tra volume relativo e pressione istantanea misurata (Figura 53).

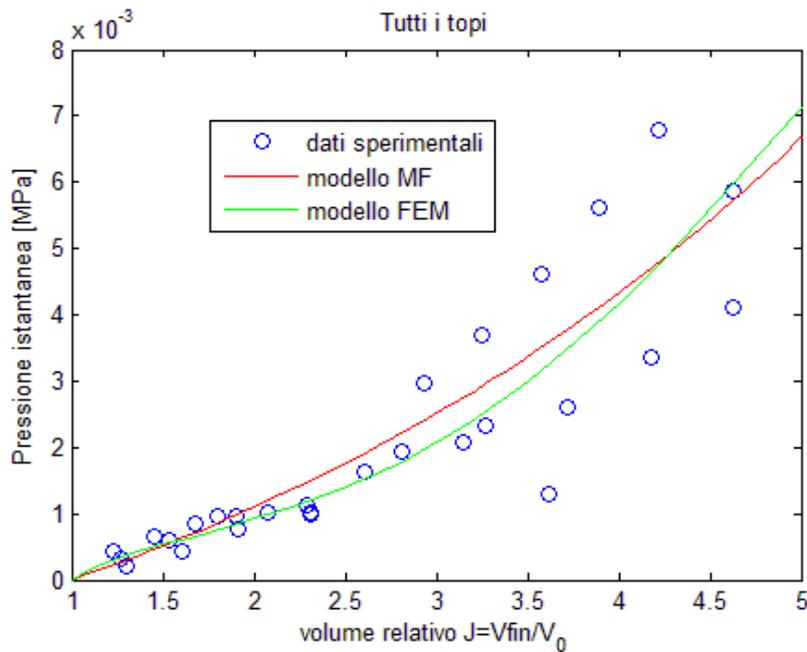


Figura 53 Confronto tra l'andamento estrapolato dai dati sperimentali (modello MF) e dal modello numerico (FEM).

Un'ultima conferma sulla validità delle procedure utilizzate, viene dal confronto tra le curve di rilassamento. Osservando l'andamento temporale della pressione interna (che si ricorda essere ricavata in funzione delle tensioni circonferenziali del modello FEM) normalizzata a 1, si può notare la sua somiglianza con l'evoluzione della stessa variabile misurata sperimentalmente in campioni reali (Figura 54). Questa affinità dà sicurezza anche sul dimensionamento dei parametri viscosi identificati tramite il modello fisio-meccanico.

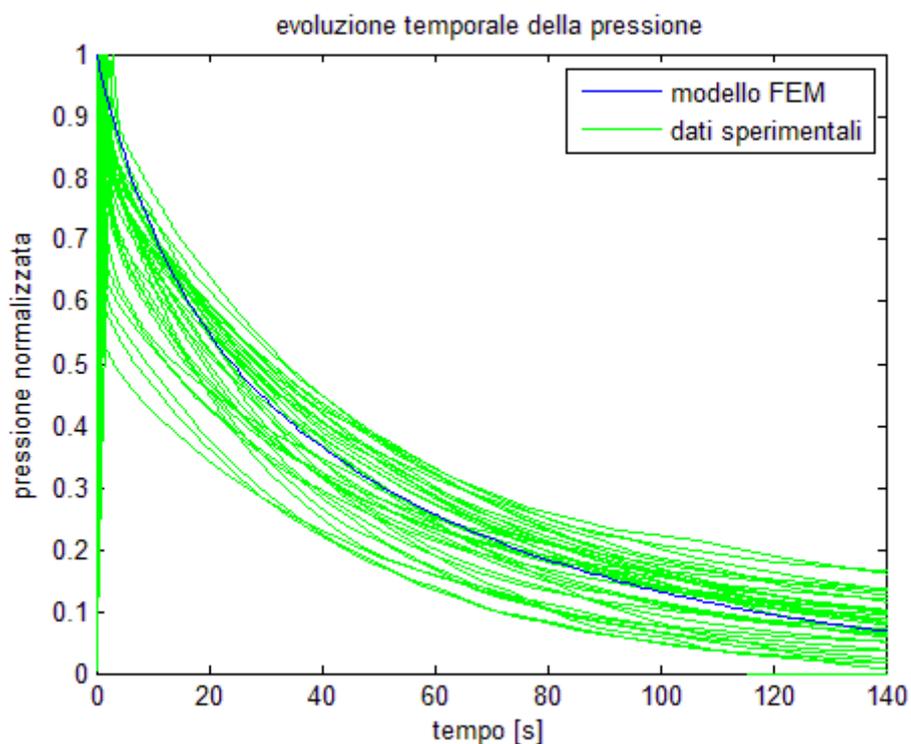


Figura 54 Sovrapposizione dell'andamento temporale della pressione misurato sperimentalmente e estratto dal modello FEM.

## 6 CONCLUSIONI

L'esperienza condotta ha permesso di validare una metodologia operativa finalizzata alla definizione di strumenti computazionali volti alla valutazione del comportamento biomeccanico di strutture biologiche cave complesse. La scelta di fare affidamento a prove di insufflazione al fine di interpretare globalmente le diverse stratificazioni dei tessuti costitutivi l'intestino è stata infatti efficace, in quanto i risultati sperimentali sono stati poi confermati da un modello FEM indipendente.

La metodologia seguita, basata su un approccio integrato sperimentale e computazionale, si è rivelata efficace ai fini della caratterizzazione meccanica complessiva di strutture biologiche cave; le prove sperimentali di insufflazione hanno consentito inoltre la valutazione sia della risposta meccanica istantanea che della dipendenza dal tempo.

Il modello fisio-meccanico ha permesso l'elaborazione complessiva dei risultati sperimentali ai fini dell'estrapolazione di una curva mediata rappresentativa la risposta istantanea e di parametri viscosi direttamente applicabili nei successivi modelli costitutivi.

La formulazione costitutiva sviluppata, e successivamente validata mediante analisi numeriche, si è dimostrata idonea ai fini di una caratterizzazione globale del comportamento meccanico dei tessuti costituenti le pareti di organi cavi.

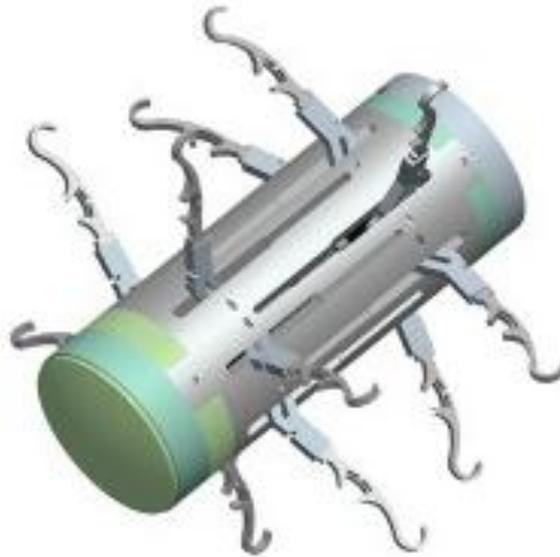
I modelli utilizzati quindi, si sono dimostrati in grado di interpretare perfettamente la caratterizzazione meccanica dei campioni sperimentali testati e i parametri identificati, il che costituisce una solida base per la costruzione di strumenti computazionali utili per la valutazione dei meccanismi di interazione tra elementi biomedicali diagnostici o chirurgici e i tessuti stessi.

### 6.1 Possibili sviluppi

Le prove eseguite hanno fornito una prassi sperimentale e computazionale per la valutazione dei meccanismi di interazione meccanica dei tessuti, ma per l'effettiva applicazione dei risultati ottenuti nella progettazione di elementi biomedicali o nella simulazione dei meccanismi biologici, si renderà necessaria l'esecuzione di ulteriori

prove sperimentali. Mentre la sistematica operativa adottata può essere mantenuta valida per i successivi sviluppi del progetto, bisogna fare attenzione nella gestione dei parametri costitutivi. Per l'estrazione dei parametri costitutivi viscosi e costitutivi, si renderà infatti necessaria l'esecuzione di ulteriori prove sperimentali su campioni suini e/o umani, nonché di prove di trazione mono e biassiali sui tessuti.

Un fine ultimo dell'attività svolta potrebbe essere, ad esempio, l'applicazione dei risultati ottenuti durante la fase sperimentale nel campo della progettazione dell'apparato di locomozione di una sonda endoscopica minimamente invasiva che, una volta ingerita, possa essere in grado di muoversi autonomamente all'interno del tratto intestinale per consentire al medico di soffermare l'attenzione sulle zone di interesse (Figura 55).



*Figura 55 Esempio di sonda endoscopica dotata di un meccanismo autonomo di locomozione.*

## 7 APPENDICE

Per mantenere un filo conduttore il più chiaro e lineare possibile nell'esposizione dell'attività sperimentale eseguita, è stato necessario rimandare alcuni approfondimenti riguardanti gli argomenti trattati e le metodologie adottate. In questo capitolo sono riportate le nozioni teoriche e pratiche utili per una migliore comprensione dell'elaborato; sono contenuti in particolare alcuni riferimenti al corso di Biomeccanica Computazionale (Natali, Carniel, & Pavan, 2010-2011) e i risultati di una ricerca bibliografica sui metodi matematici e numerici utilizzati nell'elaborazione.

### 7.1 Fase preparatoria

Prima dell'acquisizione ed elaborazione di curve pressione-volume reali (acquisite da tratti di intestino) si è ritenuto necessario acquisire familiarità con le formulazioni matematiche (ad integrazione numerica e analitica) che descrivono la relazione tra il volume insufflato all'interno del campione (ingresso) e la pressione misurata (uscita). A tale scopo sono state effettuate analisi al calcolatore su curve generate virtualmente con parametri noti (*curve virtuali*) e su curve sperimentali relative a polmoni di ratto.

#### 7.1.1 Generazione di curve virtuali

Si consideri il modello completo iniziale (Carniel, Formulazione di un modello rappresentativo il sistema respiratorio):

$$P_{EXT}(t, V, \dot{V}) = P(t, V) + F(\dot{V})$$

con

$$F(\dot{V}) = \alpha \dot{V} + \beta \dot{V}^2 \text{sign}(\dot{V})$$

$$P(t, V) = \gamma^\infty P^0(t, V) + \sum_{i=1}^n \gamma_i h^{(i)}(t)$$

e

$$h^{(i)}(t) := \int_0^t \exp\left(-\frac{t-s}{\tau_i}\right) \frac{d}{ds} P^0 ds$$

$$P^0(V) = a_0(e^{b_0(V-1)} - 1).$$

E' stata implementata una funzione in Matlab che, dati i parametri  $a, b, \alpha, \beta, \gamma_i, \tau_i$  relativi al modello fisio-meccanico e ovviamente il profilo di volume imposto  $V(t)$ , calcola la risposta del sistema (cioè l'andamento della pressione esterna in funzione del tempo). In Figura 56 sono rappresentate le grandezze in gioco, mentre in Figura 57 è mostrata una curva estratta da esperimenti su polmoni murini.

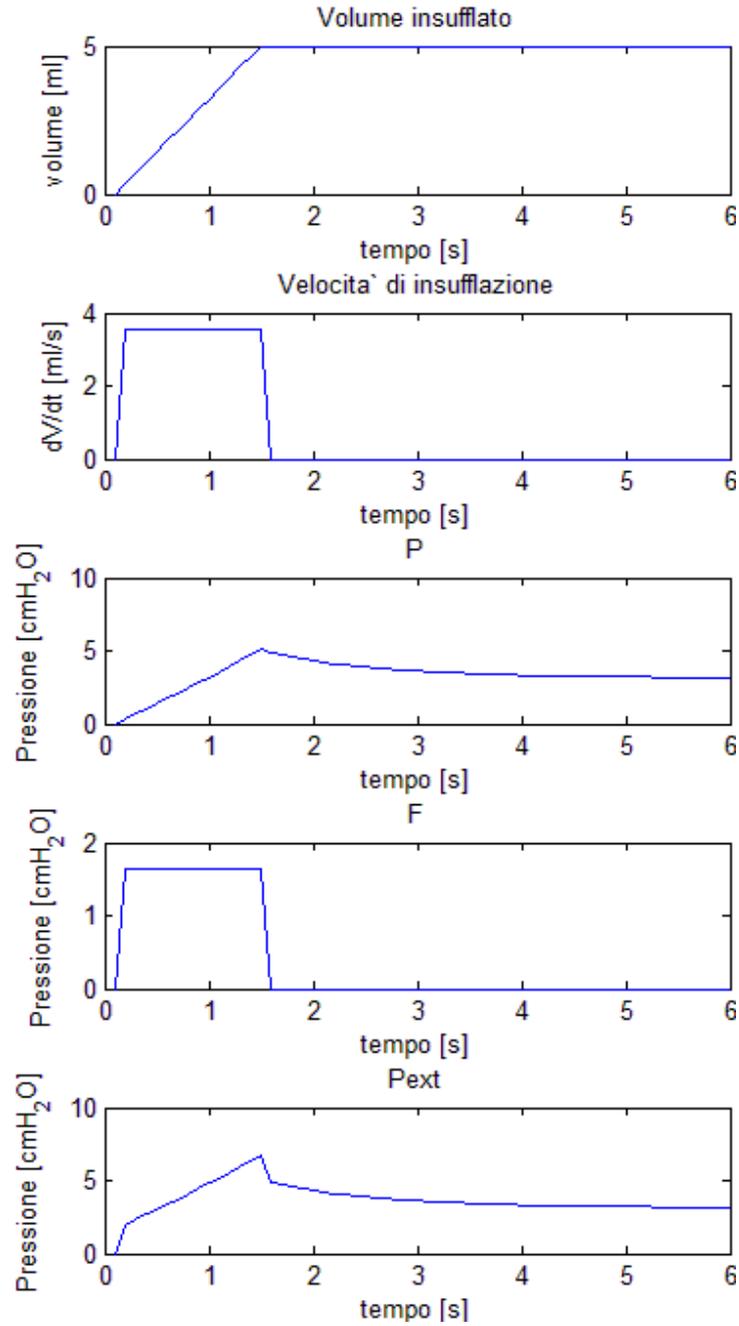


Figura 56 Curva virtuale

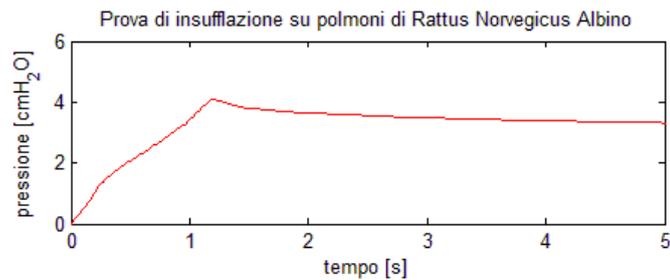


Figura 57 Curva reale

E' possibile riconoscere, da una prima analisi empirica, un'uguaglianza qualitativa nell'andamento delle curve  $P_{ext}$  e *Rat Lung*. Si notino in particolare i gradini visibili nel grafico di  $P_{ext}$  all'inizio e alla fine della fase di insufflazione a velocità costante; essi sono dovuti alla presenza della componente  $F(\dot{v})$  che ha valori non nulli esclusivamente in questo intervallo di tempo. Si noti inoltre il decadimento esponenziale di pressione, dovuto al riarrangiamento fisiologico delle fibre di collagene della parete intestinale e dallo spostamento della componente liquida della ECM.

### **7.1.2 Identificazione dei parametri**

Una volta generate le curve virtuali e riscontrata un'effettiva uguaglianza qualitativa di queste ultime con le curve reali ricavate dagli esperimenti sui polmoni, è stata implementata una funzione che, dato un profilo di pressione (e dato il relativo profilo di volume imposto), risale a tutti i parametri del sistema che lo ha generato. Questa operazione è eseguita grazie alla minimizzazione iterativa di una funzione costo, rappresentata dalla discrepanza tra il profilo di pressione di riferimento (curva virtuale) e il profilo di pressione calcolato dalla funzione sopra descritta, con parametri che vengono corretti ad ogni iterazione. In questa fase la scelta dei valori iniziali dei parametri  $a, b, \alpha, \beta, \gamma_i, \tau_i$  è molto delicata in quanto una decisione poco appropriata potrebbe far convergere il processo di minimizzazione della funzione costo verso "punti" (set di parametri, cioè) di minimo locale anziché globale, conducendo quindi a soluzioni errate. Per evitare questo inconveniente si può ricorrere ad una procedura combinata di tipo stocastico-deterministico che viene suddivisa in due fasi: prima viene individuato un intervallo all'interno del quale è probabile che ricadano i parametri (parte stocastica) e poi viene eseguito l'algoritmo che trova iterativamente, all'interno di questo range, il "punto" che minimizza la funzione costo (parte deterministica). Alla fine dell'identificazione dei parametri sono state plottate le due curve sovrapposte (quella che fungeva da modello e quella calcolata tramite i parametri appena identificati), per verificare il funzionamento dell'algoritmo. I risultati sono soddisfacenti.

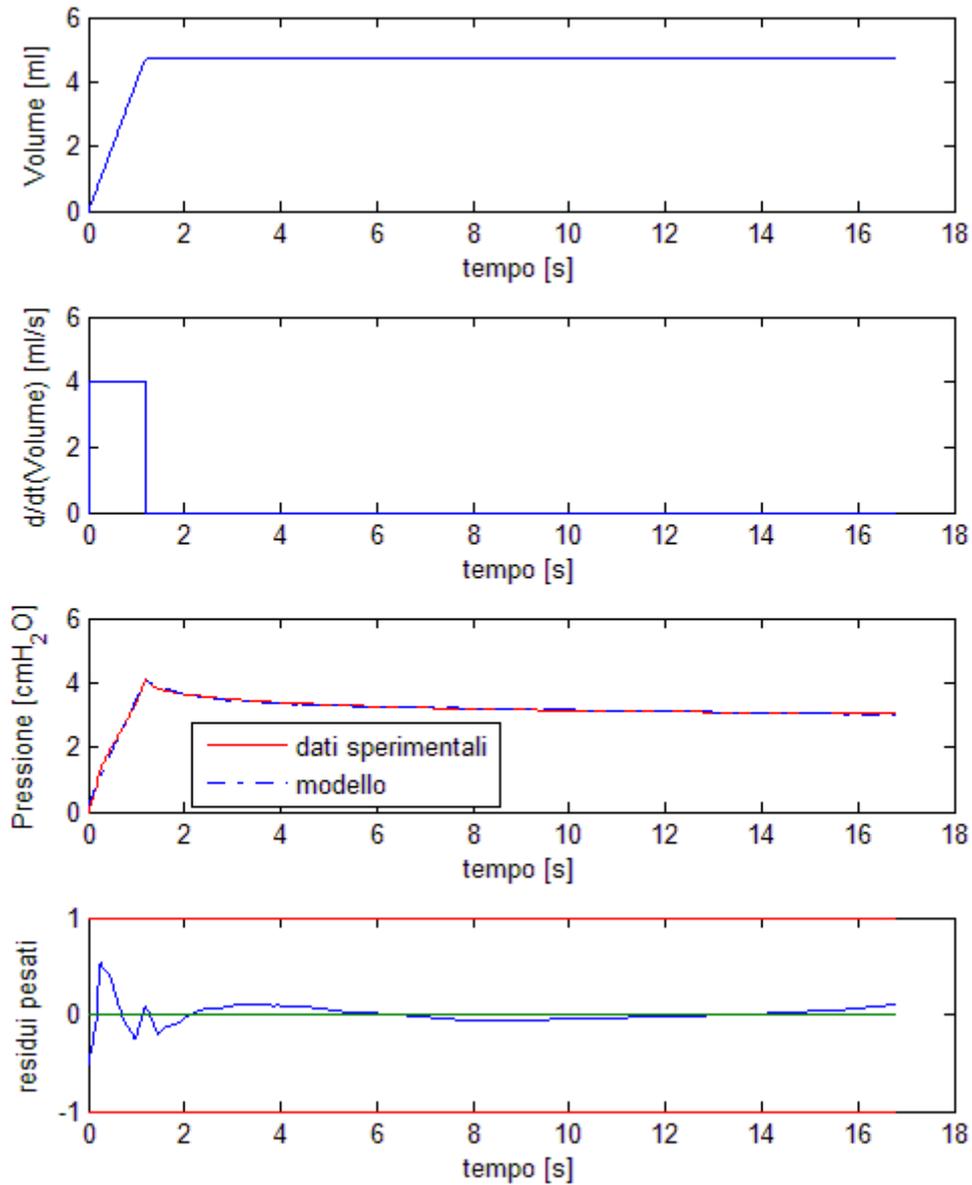


Figura 58 Prova preliminare di identificazione di tutti i parametri a partire da una sola curva.

In Figura 58 si nota che la curva in blu (modello calcolato con i parametri appena identificati) ricalca perfettamente la curva rossa (curva virtuale generata precedentemente); ciò significa che l' algoritmo ha portato i parametri di partenza a convergere proprio verso gli stessi parametri con cui era stata generata la curva virtuale. L' identificazione così eseguita (senza l' estrazione delle isocrone) è più facile da comprendere, ma non permette di mediare i risultati di diverse prove sperimentali. E' stata ritenuta utile questa parte di sperimentazione al fine di acquisire praticità con le componenti pressorie in gioco.

### 7.1.3 Identificazione basata sulla perdita di pressione

Una ulteriore prova di identificazione dei parametri del sistema è stata eseguita in un modo leggermente diverso (ma totalmente inefficace). I valori di  $a, b, \alpha, \beta, \gamma_i$  e  $\tau_i$  identificati con il metodo stocastico-deterministico citato sopra, sono quelli che rendono minima la discrepanza tra la curva di riferimento e la curva calcolata ad ogni passo dell'iterazione. Ora invece la "funzione costo" da minimizzare è la discrepanza tra due curve

$$\rho_{virtuale}(t) = \frac{P_{virtuale}(t)}{P_{virtuale}(t_L)}$$

$$\rho_{modello}(t) = \frac{P_{modello}(t)}{P_{modello}(t_L)}$$

calcolate a partire dai due profili di pressione (uno della curva virtuale, l'altro del modello fisio-meccanico). La perdita di precisione causata dalla normalizzazione (il valore massimo di  $\rho(t)$  infatti è 1 per entrambe le curve!) aumenta in modo considerevole la variabilità dei valori stimati; questo algoritmo converge infatti a parametri che danno luogo a profili di pressione dimensionalmente inaccettabili. Questa strada è stata abbandonata.

### 7.1.4 Modalità di insufflazione

Un ultimo passo prima dell'esecuzione di prove su ratti è stato quello di indagare quali fossero le caratteristiche del profilo di volume che influivano maggiormente sulla perdita di pressione per rilassamento  $\rho = P(t_\infty)/P(t_L)$  relativa alla porzione di intestino indagata. Le principali proprietà sulle quali è stata concentrata l'attenzione sono state

- velocità di insufflazione,
- tempo di insufflazione
- volume insufflato

con il modello numerico implementato sono state quindi simulate diverse prove:

- Variando il volume insufflato, tenendo costante la velocità di insufflazione (Figura 59);

- Variando la velocità di insufflazione, tenendo costante il volume finale (Figura 60);
- Variando velocità di insufflazione e volume finale contemporaneamente.

Per ognuna di queste simulazioni è stato ricavato l'andamento di  $\rho$ . Come ci si aspettava, l'esperimento al calcolatore ha mostrato che  $\rho$  aumenta con l'aumentare del volume finale insufflato e diminuisce con la velocità di insufflazione utilizzata.

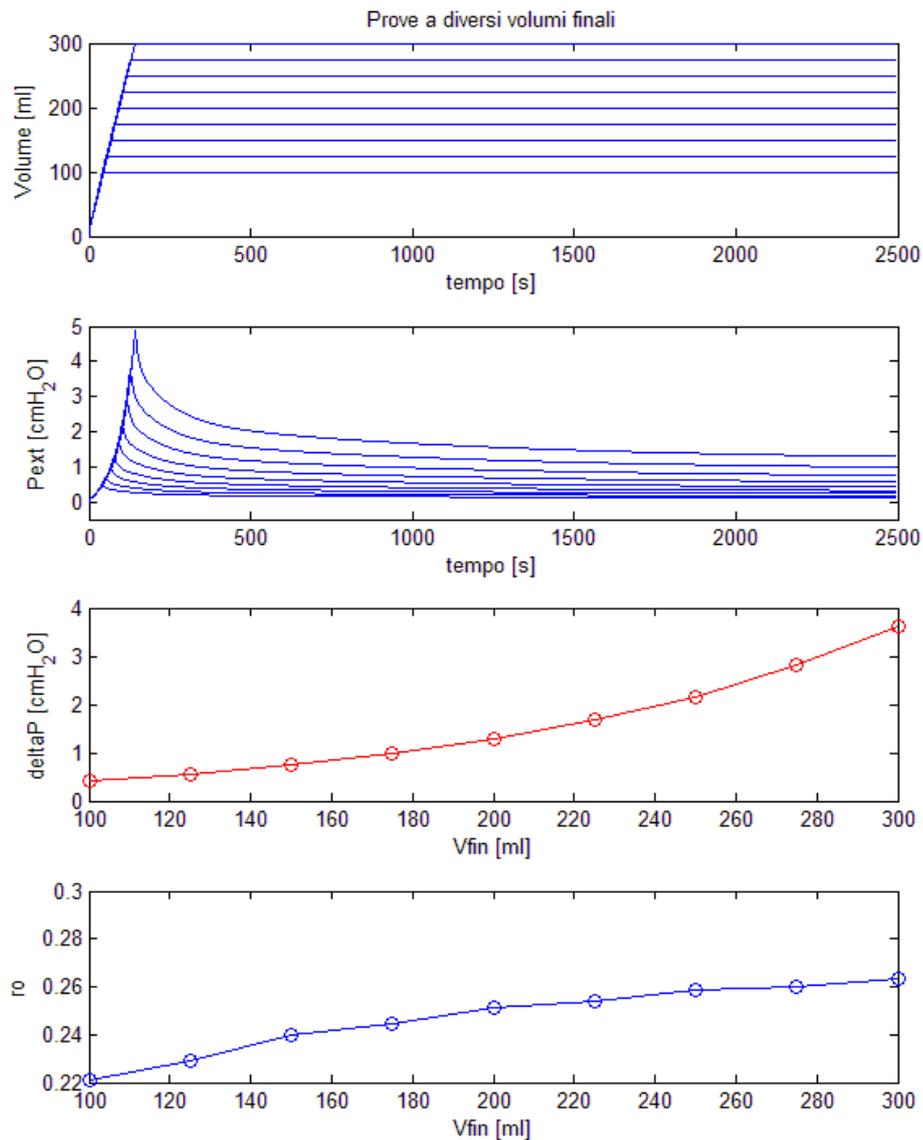


Figura 59 Simulazione di diverse prove con volumi insufflati crescenti.

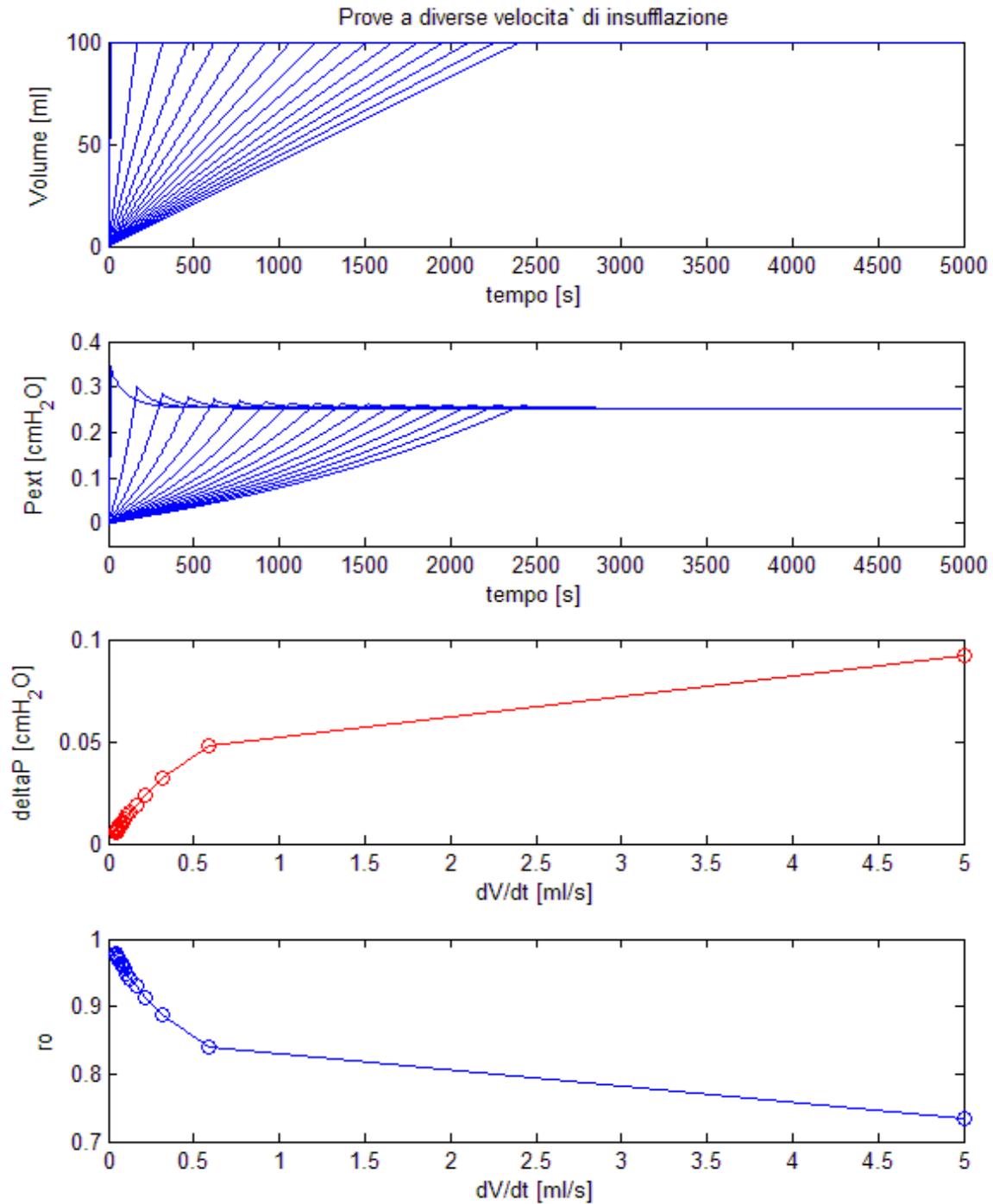


Figura 60 Simulazione di diverse prove con tempi di insufflazione crescenti.

Si noti come in Figura 61, concentrando l'attenzione sulla fase di insufflazione, l'andamento della pressione mostra chiaramente la prevalenza della componente di pressione viscosa nella parte iniziale e la prevalenza della componente iperelastica nella parte finale della stessa fase.

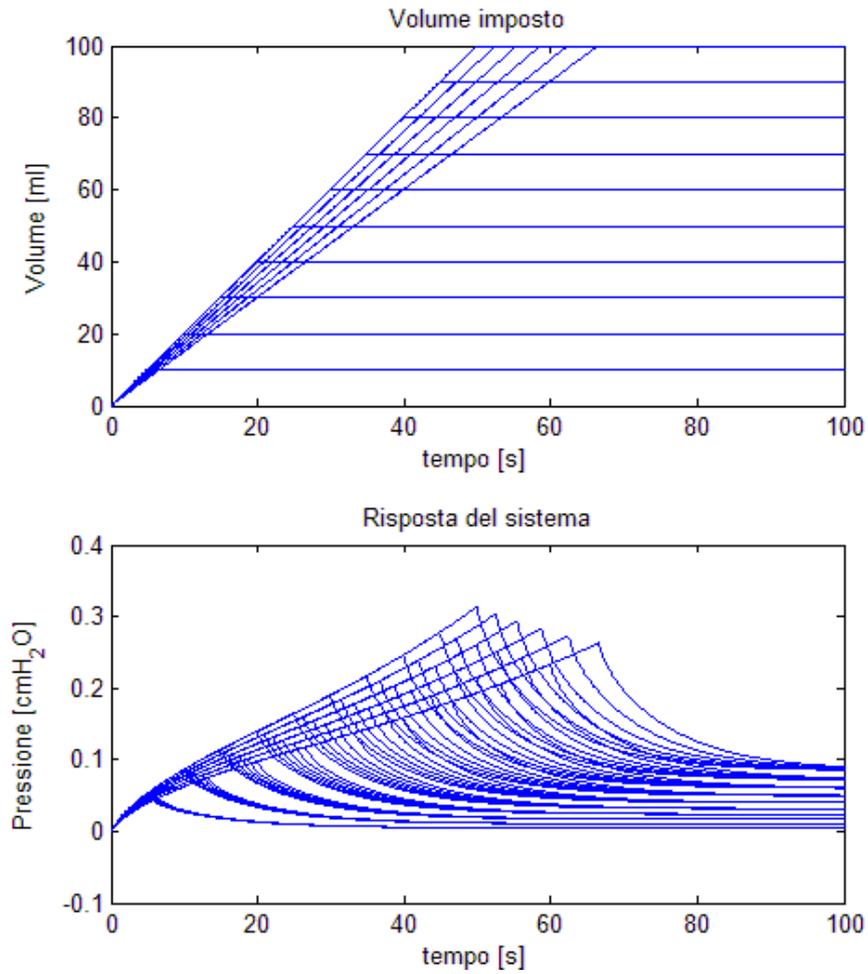


Figura 61 simulazione di diverse prove con tempi di insufflazione crescenti e volumi insufflati crescenti.

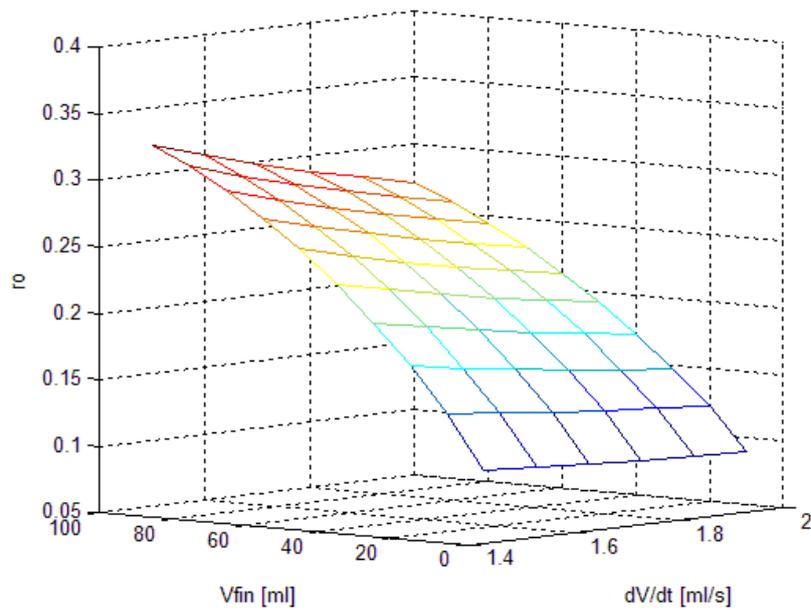


Figura 62 Dipendenza di  $p$  dal volume insufflato e dalla velocità di insufflazione.

E' stato infine valutato l'andamento di  $\rho$  in funzione del tempo di insufflazione (Figura 63).

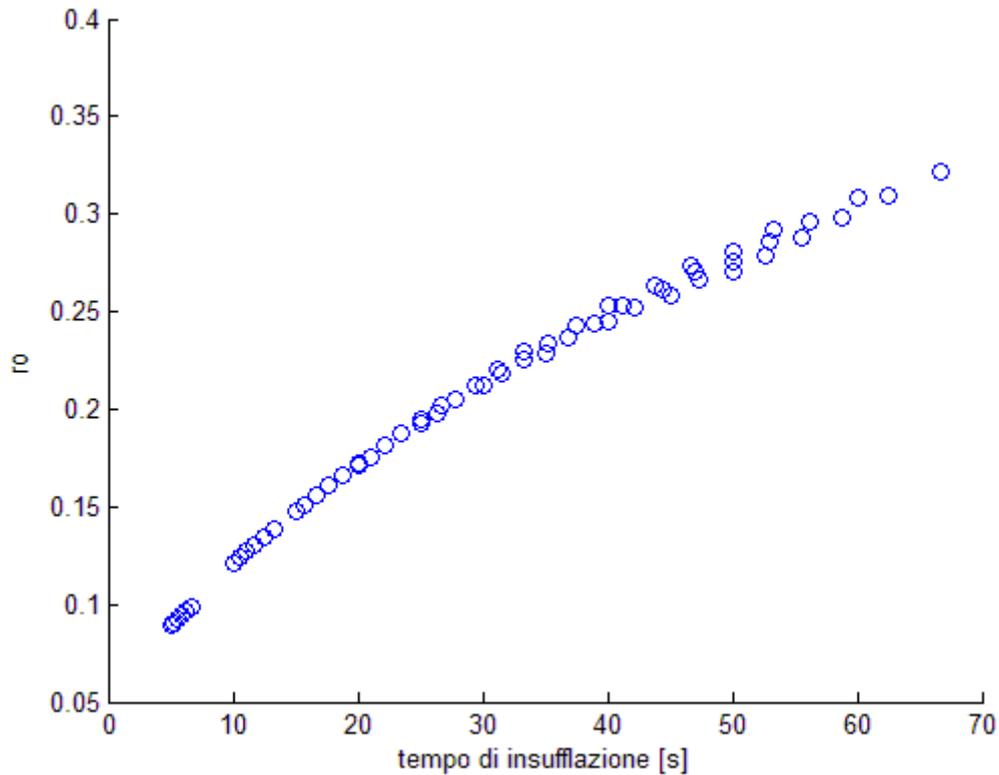


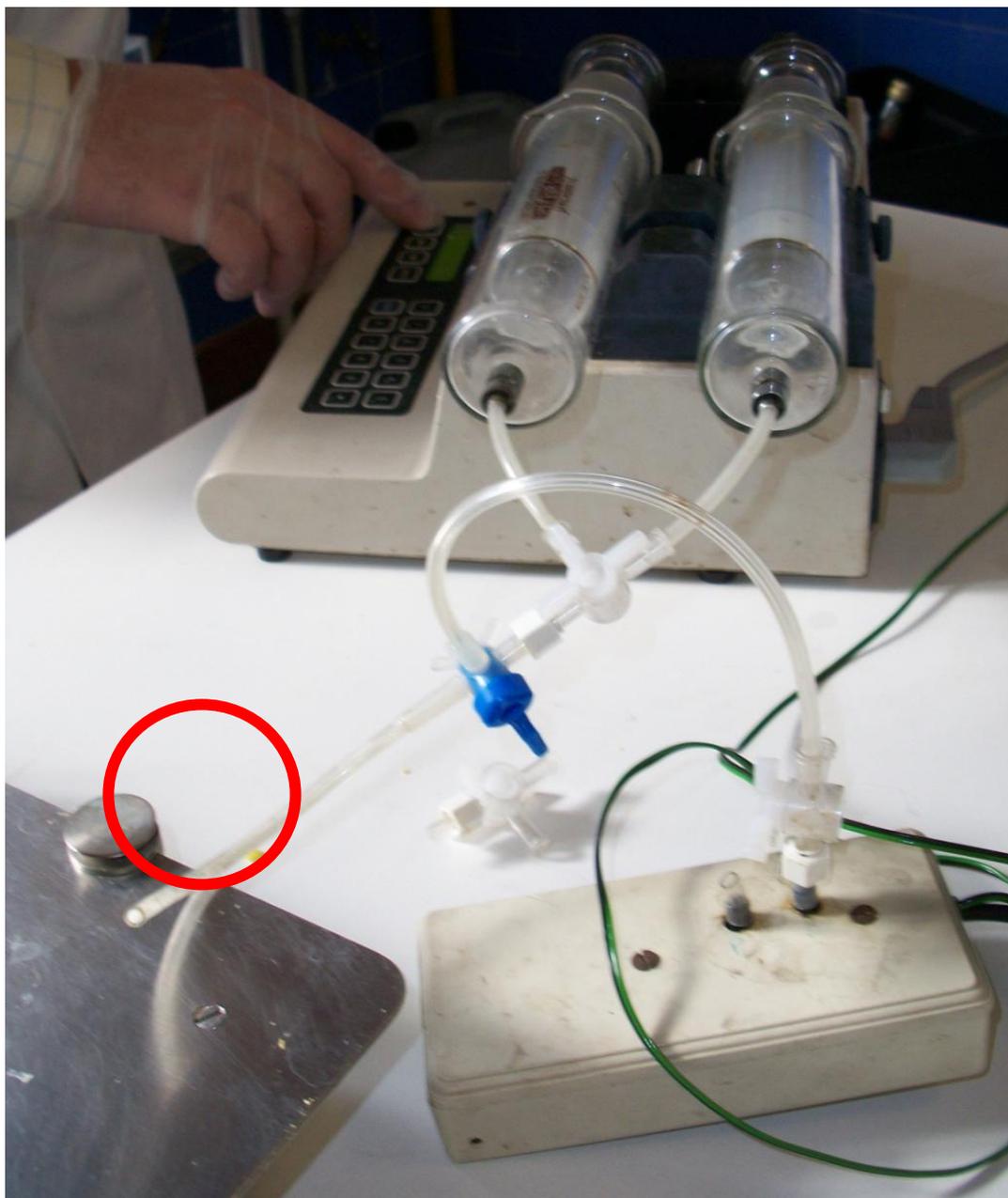
Figura 63 Andamento di  $\rho$  in funzione del tempo di insufflazione

E' evidente che la perdita di volume aumenta con l'aumentare del tempo di insufflazione, infatti a tempi maggiori corrispondono volumi maggiori e quindi perdite di pressione maggiori. L'andamento di quest'ultima relazione non è disposto propriamente su una curva, bensì su una stretta regione di piano; questo deriva dal fatto che per quanto sia breve la prima fase a incremento di volume costante, essa non può essere considerata istantanea e quindi ci sono delle perdite viscosse (maggiori per tempi di insufflazione grandi) anche durante la fase iniziale.

## 7.2 Trascurabilità degli effetti resistivi

Nel paragrafo 4.1 è stato affermato che nella descrizione del modello fisiomeccanico è possibile trascurare gli effetti resistivi dovuti all'attrito dell'aria sulle pareti della cannula e dell'intestino stesso. In questa sezione viene giustificata questa ipotesi riportando le prove sperimentali effettuate a tale scopo.

Al fine di valutare l'influenza degli effetti resistivi sulle pressioni misurate, sono state effettuate delle prove di insufflazione senza raccordare la cannula al campione di intestino, ma lasciando l'estremità della pompa libera in atmosfera (Figura 64); in questo modo la pressione misurata dal rilevatore dipende interamente dalla scabrosità del condotto aereo, il quale costituisce l'unica interferenza tra la pompa e l'atmosfera.



*Figura 64 Prova di insufflazione a cannula libera al fine di valutare l'entità degli effetti resistivi.*

Per questo tipo di prove è stato necessario aumentare al massimo l'amplificazione del misuratore di pressione, in quanto i valori da misurare erano molto piccoli.

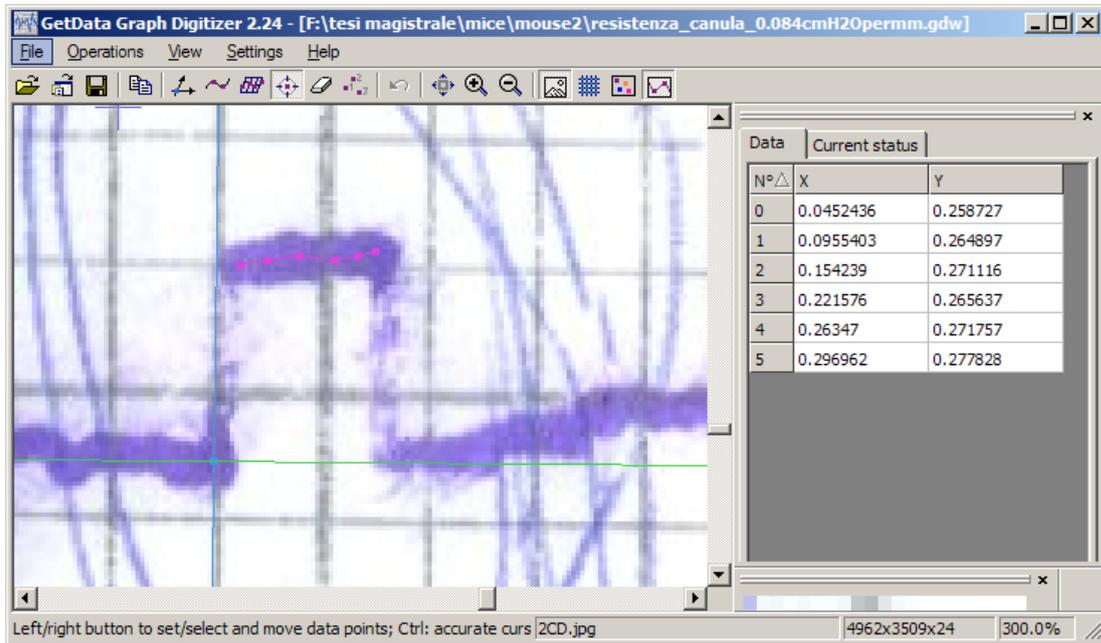


Figura 65 Misura degli effetti resistivi tramite GetData Graph Digitizer

I valori di pressione forniti da questo esperimento sono stati mediati per diminuire l'errore commesso (Figura 65); il valore estratto è risultato molto inferiore a i valori misurati negli esperimenti sui campioni di intestino (di 2 ordini di grandezza!):

$$F(\dot{V}) \approx 2.6 * 10^{-5} MPa$$

$$P_{EXT}(t, V, \dot{V}) \approx 4 * 10^{-3} MPa$$

è stato quindi considerato ragionevole modificare il modello descritto in precedenza, trascurando gli effetti resistivi.

$$P_{EXT}(t, V, \dot{V}) = P(t, V) + F(\dot{V}) \rightarrow P_{EXT}(t, V) = P(t, V).$$

### 7.3 Metodo di integrazione numerica a passo implicito di Simo-Hughes

Per integrare numericamente l'evoluzione delle variabili di stato  $h^{(i)}(t)$  nel paragrafo 4.2.1, non è stata necessaria la scelta del passo di integrazione

appropriato<sup>5</sup>, in quanto esso è implicitamente espresso nella algoritmo proposto da Simo-Hughes.

L'andamento temporale di  $h^{(i)}$  si ottiene dunque dall'integrazione numerica di

$$h^{(i)}(t) := \int_{T_0}^t \exp\left(-\frac{t-s}{\tau_i}\right) \frac{d}{ds} P^0 ds.$$

Sapendo che

$$\exp\left[\frac{(t+\Delta t)}{a}\right] = \exp\left(\frac{\Delta t}{a}\right) \exp\left(\frac{t}{a}\right)$$

e sfruttando la semplice proprietà di additività degli integrali rispetto all'intervallo di integrazione, per  $t_{n+1} = t_n + \Delta t_{n+1}$  si può scrivere:

$$\begin{aligned} h^{(i)}(t_{n+1}) &:= \int_{T_0}^{t_n + \Delta t_n} \exp\left[-\frac{t_n + \Delta t_n - s}{\tau_i}\right] \frac{d}{ds} P^0(s) ds = \\ &= \int_{T_0}^{t_n} \exp\left[-\frac{\Delta t_{n+1}}{\tau_i}\right] \exp\left[-\frac{t_n - s}{\tau_i}\right] \frac{d}{ds} P^0(s) ds + \int_{t_n}^{t_{n+1}} \exp\left[-\frac{t_{n+1} - s}{\tau_i}\right] \frac{d}{ds} P^0(s) ds \\ &= \\ &= \exp\left[-\frac{\Delta t_n}{\tau_i}\right] h^{(i)}(t_n) + \int_{t_n}^{t_{n+1}} \exp\left[-\frac{t_{n+1} - s}{\tau_i}\right] \frac{d}{ds} P^0(s) ds, \end{aligned}$$

quindi  $h^{(i)}(t_{n+1})$  è determinata in termini di  $h^{(i)}(t_n)$  e da un integrale sull'intervallo  $[t_n, t_{n+1}]$ . Usando il teorema del valore medio si ottiene:

$$\begin{aligned} &\int_{t_n}^{t_{n+1}} \exp\left[-\frac{t_{n+1} - s}{\tau_i}\right] \frac{d}{ds} P^0(s) ds \cong \\ &\cong \exp\left[-\frac{t_{n+1} - s}{\tau_i}\right] \frac{d}{ds} P^0(s) \Big|_{s=\frac{t_n+t_{n+1}}{2}} \Delta t_n = \end{aligned}$$

---

<sup>5</sup> solitamente un passo di integrazione troppo grande potrebbe falsare i risultati a causa di errori di approssimazione, mentre un passo troppo piccolo renderebbe l'algoritmo di calcolo computazionalmente troppo oneroso

$$= \exp\left[-\frac{\Delta t_n}{2\tau_i}\right] [P^0(t_{n+1}) - P^0(t_n)].$$

Quella appena scritta è un'approssimazione di secondo ordine. Sostituendo nell'espressione di  $h^{(i)}(t_{n+1}) = h_{t_{n+1}}^{(i)}$ , si ottengono le formule di aggiornamento delle variabili di stato  $h$  usate nella procedura iterativa:

$$P^0(t_{n+1}) = a(e^{b(V_{n+1}-1)} - 1)$$

$$\begin{aligned} h_{n+1}^{(i)} &:= \exp\left[-\frac{\Delta t_n}{\tau_i}\right] h_n^{(i)} + \exp\left[-\frac{\Delta t_n}{2\tau_i}\right] [P_{n+1}^0 - P_n^0], \text{ con } i = 1, 2, \dots, N \\ &= h_n^{(i)} e^{-\frac{t_{n+1}-t_n}{\tau_i}} + e^{-\frac{t_{n+1}-t_n}{2\tau_i}} [P^0(t_{n+1}) - P^0(t_n)]. \end{aligned}$$

(Simo & Hughes, 1998)

I risultati mostrano una effettiva uguaglianza nella risposta dei due modelli (quello ad integrazione numerica e quello ad integrazione analitica), a conferma della validità del metodo utilizzato (Figura 66).

(Simo & Hughes, 1998)

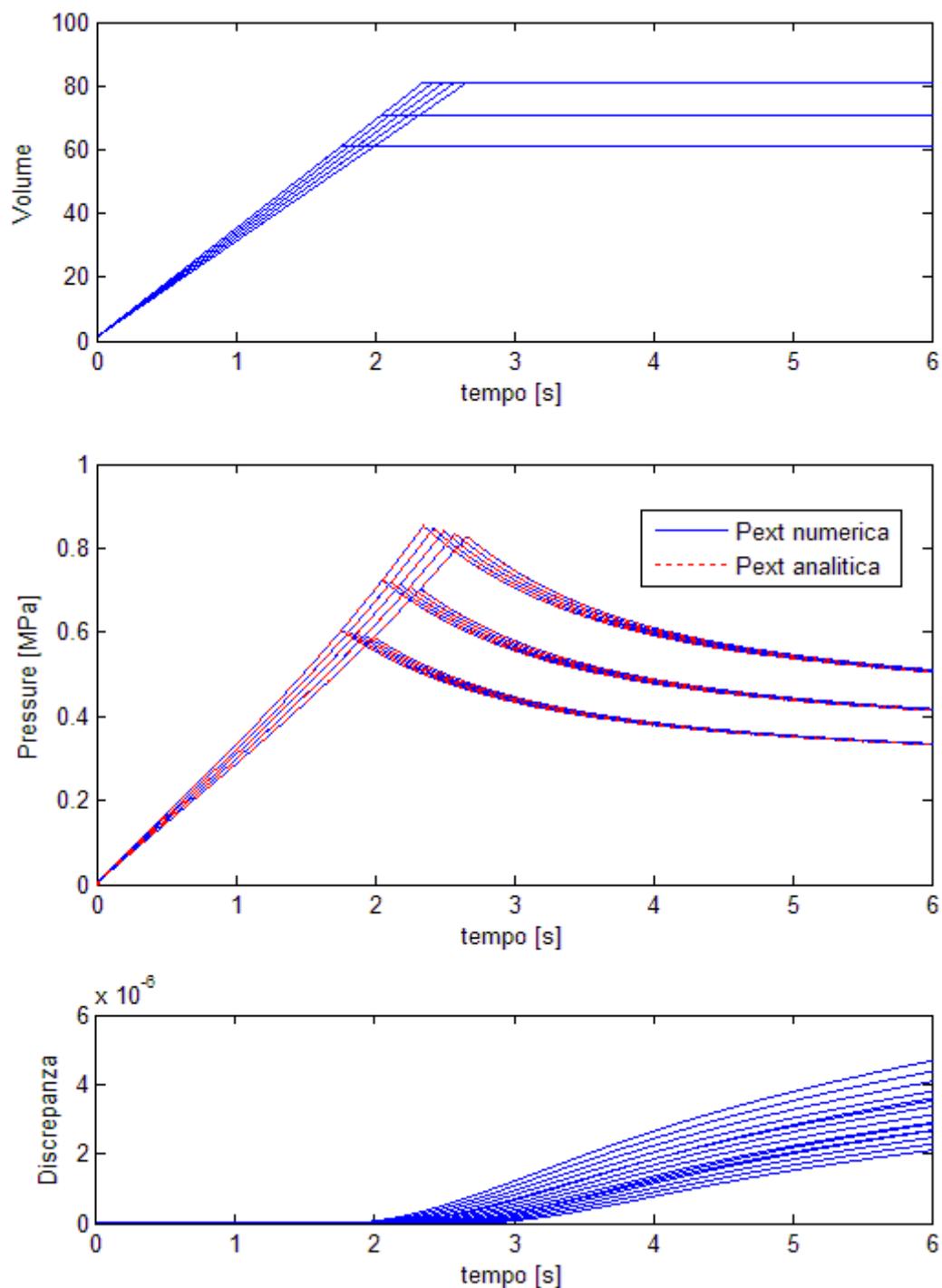


Figura 66 Confronto del modello fisio-meccanico ad integrazione numerica, con quello ad integrazione analitica.

#### 7.4 Algoritmo di Newton Raphson

Nel paragrafo 5.2.1 è stato fatto riferimento al metodo iterativo a tangente di Newton Raphson. Prima di procedere con la spiegazione dello stesso, è preferibile chiarire la terminologia che sarà adottata.

Nell'ambito meccanico-strutturale si usa una particolare simbologia denotando:

- con  $\mathbf{u}$  gli spostamenti,
- con  $\mathbf{K}$  la matrice di rigidità di un elemento
- con  $\mathbf{F}$  le forze equivalenti agenti sull'elemento.

Adottando questa simbologia, si può affermare che la soluzione di problemi lineari con metodi ad elementi finiti porta a risolvere un sistema lineare di equazioni algebriche del tipo

$$\mathbf{Ku} = \mathbf{F}$$

e, se la matrice di rigidità non è singolare, che la soluzione del problema è unica. Grazie alla linearità si può inoltre applicare il principio di sovrapposizione degli effetti; esso garantisce infatti che se sono date due soluzioni note

$$\mathbf{u}_1 = \mathbf{K}^{-1}\mathbf{F}_1 \text{ e } \mathbf{u}_2 = \mathbf{K}^{-1}\mathbf{F}_2,$$

allora è soluzione una qualsiasi loro combinazione lineare del tipo

$$\mathbf{u} = \mathbf{K}^{-1}(\alpha\mathbf{F}_1 + \beta\mathbf{F}_2) = \alpha\mathbf{u}_1 + \beta\mathbf{u}_2.$$

Tale proprietà è particolarmente utile per valutare gli effetti su un sistema strutturale dovuti alla combinazione di differenti condizioni di carico. Sempre nell'ambito di un sistema lineare risulta più facile l'identificazione delle condizioni limite del comportamento elastico a partire da una soluzione nota, grazie alla proporzionalità tra causa (cioè la forza applicata) ed effetto (cioè la tensione risultante)<sup>6</sup>.

La soluzione con metodi ad elementi finiti di un problema non lineare, invece, conduce sempre ad un sistema risolutivo di equazioni algebriche, che risulterà però non lineare e verrà indicato con

---

<sup>6</sup> Nel caso in esame la causa è rappresentata dalle deformazioni  $\lambda_\theta, \lambda_z, \lambda_s$  e dalla pressione idrostatica  $h$ , mentre l'effetto sarà dato dalla pressione esterna misurata. Dal punto di vista matematico la trattazione è indifferente, quindi si procederà con la notazione tipica dei problemi di elasticità ad elementi finiti.

$$\mathbf{\Omega}(\mathbf{u}) = \mathbf{\Psi}(\mathbf{u}) - \mathbf{F} = \mathbf{0}.$$

Poiché non si conosce il vettore  $\mathbf{u}$  che soddisfa questo sistema di equazioni, la strategia risolutiva prevede di partire da una soluzione tentativo  $\tilde{\mathbf{u}}$ , la quale (con ogni probabilità) non soddisferà la relazione producendo un certo errore

$$\mathbf{\Psi}(\tilde{\mathbf{u}}) \neq \mathbf{0},$$

la soluzione sarà aggiornata con metodi iterativi sino a ridurre l'errore entro una norma prefissata.

Oltre all'onere computazionale maggiore richiesto dai sistemi non lineari, la differenza sostanziale con i sistemi lineari è l'impossibilità di sovrapporre gli effetti. Di seguito sarà descritto l'algoritmo iterativo di Newton-Raphson ad un problema monodimensionale per poi estendere il concetto al caso pluridimensionale.

Si consideri il valore di tentativo  $x_i$  per il quale risulti

$$f(x_i) \neq 0$$

lo scopo dell'algoritmo è quello di trovare la variazione  $\Delta x_i$  tale che

$$f(x_i + \Delta x_i) = 0.$$

Espandendo  $f(x_i + \Delta x_i)$  in serie di Taylor sino al primo ordine, si ricava

$$f(x_i + \Delta x_i) \cong f(x_i) + \Delta x_i f'(x_i) = 0.$$

Esplicitando  $\Delta x_i$  si giunge alla "correzione" da apportare a  $x_i$  ad ogni passo dell'iterazione:

$$\Delta x_i = -\frac{f(x_i)}{f'(x_i)}.$$

L'algoritmo quindi consiste nell'iterare la soluzione tentativo

$$x_{i+1} = x_i - \frac{f(x_i)}{f'(x_i)}$$

fino al raggiungimento della condizione di uscita

$$|f(x_i)| < \varepsilon$$

con  $\varepsilon$  piccolo, in funzione delle precisioni richieste dalla specifica applicazione.

#### 7.4.1 Interpretazione grafica

E' curiosa l'interpretazione grafica di questo aggiornamento (Figura 67), in quanto la soluzione corrente si ottiene come intersezione della tangente alla curva di equazione  $f(x)$  nel punto corrispondente alla precedente iterazione, con l'asse delle ascisse. Per questo motivo l'algoritmo di Newton-Raphson è detto anche "metodo della tangente variabile".

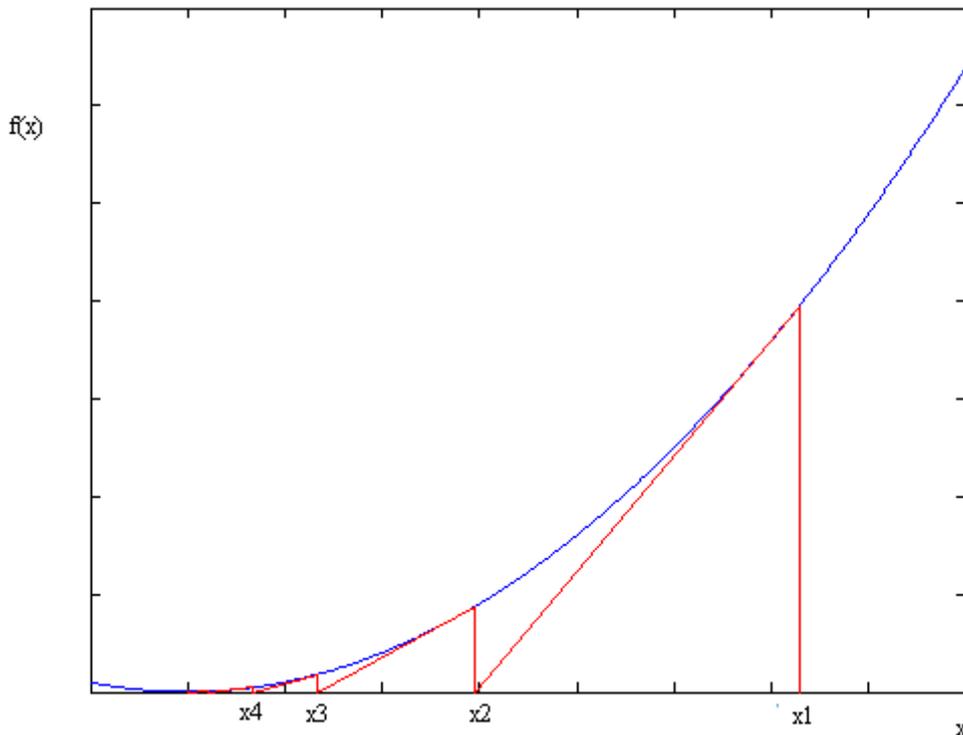


Figura 67 Interpretazione grafica della convergenza dell'algoritmo di Newton-Raphson

#### 7.4.2 Problema della convergenza a punti di minimo locale

Come spiegato, il metodo di Newton-Raphson necessita che l'utente inserisca i dati iniziali  $x_0$  da cui far partire la prima iterazione. Questo è un problema non indifferente, in quanto se questi dati non sono "abbastanza vicini" alla soluzione vera, l'algoritmo rischia di convergere ad una soluzione errata; l'algoritmo convergerà infatti al punto di minimo locale appartenente al "bacino di attrazione" in cui sono posti i dati di partenza, senza avere la possibilità di sapere se quello è effettivamente il punto di minimo globale della funzione (Figura 68).

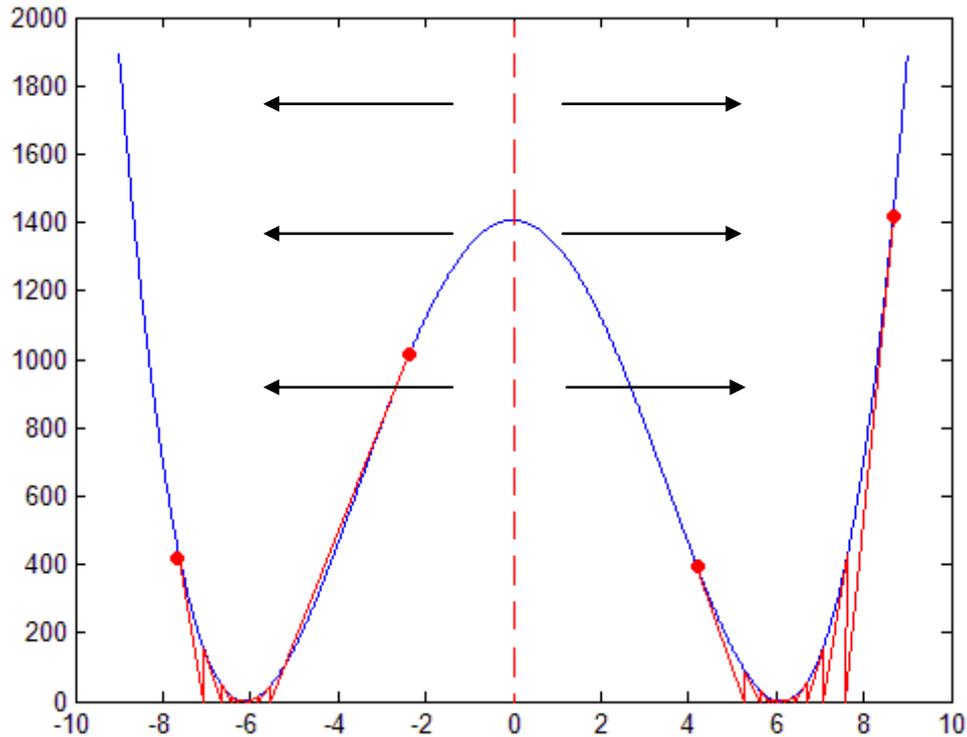


Figura 68 Interpretazione grafica del problema di convergenza ai minimi locali dell' algoritmo di Newton-Raphson

### 7.4.3 Metodo di Newton-Raphson esteso al contesto pluridimensionale

Nel caso in esame, il numero di variabili e il numero di equazioni componenti il sistema è quattro. La procedura di ricerca è pressoché la stessa, infatti definendo la matrice di rigidità tangente

$$\mathbf{K}_T = \frac{\partial \Psi(\mathbf{u}_i)}{\partial \mathbf{u}_i},$$

è possibile ripercorrere i passi dell'algoritmo illustrato nel caso monodimensionale, in quanto si sviluppa la funzione  $\Psi(\mathbf{u}_i + \Delta \mathbf{u}_i)$  in serie di Taylor troncando al secondo termine, per ottenere:

$$\Psi(\mathbf{u}_i + \Delta \mathbf{u}_i) \cong \Psi(\mathbf{u}_i) + \frac{\partial \Psi(\mathbf{u}_i)}{\partial \mathbf{u}_i} \Delta \mathbf{u}_i = \Psi(\mathbf{u}_i) + \mathbf{K}_T \Delta \mathbf{u}_i = \mathbf{0}.$$

È quindi possibile ricavare la formula di aggiornamento della soluzione tentativo, esplicitando le equazioni rispetto a  $\Delta \mathbf{u}_i$ :

$$\Delta \mathbf{u}_i = -(\mathbf{K}_T)^{-1} \Psi(\mathbf{u}_i)$$

$$\mathbf{u}_{i+1} = \mathbf{u}_i - (\mathbf{K}_T)^{-1}\Psi(\mathbf{u}_i).$$

Anche in questo caso la procedura si arresta quando è verificata la condizione

$$\|\Psi(\mathbf{u}_i)\| < \varepsilon.$$

#### 7.4.4 Complessità computazionale

Un aspetto molto vantaggioso di questo algoritmo è la complessità computazionale, strettamente legata alla velocità di convergenza. Se si indica con  $\xi$  la soluzione esatta dell'equazione non lineare, gli errori associati alle soluzioni all' $i$ -esima e alla  $i + 1$ -esima iterazione sono pari a  $\|\xi - \mathbf{u}_i\|$  e  $\|\xi - \mathbf{u}_{i+1}\|$  rispettivamente. Si dimostra che tra di essi vale la relazione

$$\|\xi - \mathbf{u}_{i+1}\| = A\|\xi - \mathbf{u}_i\|^2$$

con  $A$  costante; ciò significa che lo schema iterativo ha una convergenza quadratica poiché all'iterazione successiva si ottiene un errore con ordine del quadrato dell'ordine precedente. Il punto debole tuttavia sta nel fatto che ad ogni iterazione è necessaria l'inversione della matrice di rigidezza tangente, operazione computazionalmente piuttosto onerosa. Per ovviare a questo problema è stato utilizzato il metodo della tangente fissa, che ha come algoritmo di aggiornamento della variabile di tentativo la formula

$$\mathbf{u}_{i+1} = \mathbf{u}_i - \frac{\Psi(\mathbf{u}_i)}{\frac{\partial \Psi(\mathbf{u}_0)}{\partial \mathbf{u}_0}}$$

limitando quindi il calcolo della matrice inversa alla sola prima iterazione. Questo secondo algoritmo presenta il vantaggio di eliminare l'inversione delle matrici, ma andrà incontro ad un numero molto maggiore di iterazioni che lo renderanno meno efficiente del metodo originale. Un compromesso spesso usato in molte procedure di calcolo consiste nel calcolare l'inversa della matrice solo una volta ogni  $n$  iterazioni, dove  $n$  è un numero intero fissato a priori, valutando con quale velocità la matrice di rigidezza tangente ha motivo fisico di variare.

## BIBLIOGRAFIA

Azevedo, J. F., Hermes, C., Manzano, M. A., Araùjo, E. J., & Sant'ana, D. M. (2007). Análise morfométrica da parede intestinal do íleo de ratos submetidos a intensa carência de proteínas.

Bellinia, C., Glassb, P., Sittib, M., & Martinod, E. S. (2011). Biaxial mechanical modeling of the small intestine. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* , 1727–40.

*Capsule Hi-Tech.* (2011). Tratto da Galenotech: <http://www.galenotech.org/videocps.htm>

Carniel, E. L. (s.d.). Formulazione di un modello rappresentativo il sistema respiratorio.

Carniel, E. L., Fontanella, C. G., & Natali, A. N. Investigation of stress relaxation phenomena in biological tissues.

*Colonscopia Virtuale.* (2009). Tratto da [colonscopiavirtuale.it](http://www.colonscopiavirtuale.it): <http://www.colonscopiavirtuale.it>

Egorova, V. I., Schastlivtsevb, I. V., Prutc, E. V., & Baranovc, A. O. (2002). Mechanical properties of the human gastrointestinal tract. *J Biomech* , 1417-25.

Ell, C., Remke, S., & May, A. (2002). The first prospective controlled trial comparing wireless capsule endoscopy with push enteroscopy in chronic gastrointestinal bleeding. *Endoscopy* , 685-689.

Iddan, G. (2000). Wireless capsule endoscopy. *Nature* , 405-417.

*Intestine.* (2012). Tratto da Wikipedia: <http://en.wikipedia.org/wiki/Intestine>

Natali, A. N., Carniel, E. L., & Gregersen, H. (2009). Biomechanical behavior of oesophageal tissues: material and structural configuration, experimental data and constitutive analysis. *Medical Engineering & Physics* , 1056-62.

Natali, A. N., Carniel, E. L., & Pavan, P. (2010-2011). Slide del corso di Biomeccanica Computazionale.

- <Bibliografia -

Rubini, A., Carniel, E. L., Parmagnani, A., & Natali, A. N. (2011). Flow and volume dependence of rat airway resistance during constant flow inflation and deflation. *Lung*, 511-8.

Simo, J. C., & Hughes, T. (1998). *Computational Inelasticity*. Springer.