

Politecnico di Torino

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Anno Accademico 2025/2026

Sessione di Laurea Luglio 2026

Modellazione computazionale dei meccanismi iniziali dell'aterogenesi carotidea

Accoppiamento tra emodinamica locale e trasporto reattivo nella parete arteriosa

Relatore:
Prof. Umberto Morbiducci

Candidato:
Alessio Sinani

Correlatori:
Prof. Diego Gallo
Prof. Michele Marino

Matricola:
331147

Abstract

Il lavoro si inserisce nello studio dei meccanismi iniziali dell'aterogenesi carotidea, con attenzione al legame tra emodinamica locale, trasporto lipidico e stato ossidativo della parete arteriosa. Le simulazioni fluidodinamiche hanno fornito il campo di moto, il WSS e le distribuzioni luminali di LDL e ossigeno, poi utilizzati come dati di ingresso per il modello di parete.

Il modello computazionale proposto accoppia l'analisi CFD con una descrizione monodimensionale di reazione-trasporto nella parete arteriosa. Le simulazioni nel lume definiscono condizioni al contorno distribuite lungo l'interfaccia fluido-parete, assegnando localmente flussi di massa e concentrazioni al modello di parete. Questa impostazione conserva la variabilità spaziale dei fenomeni di trasporto all'interfaccia endoteliale e riduce il costo computazionale rispetto a una modellazione tridimensionale completa. È stato così possibile eseguire una campagna di simulazioni per confrontare diverse formulazioni del trasporto transendoteliale e valutare la sensibilità ai parametri adottati.

Sono stati considerati due approcci: una formulazione basata sulla velocità di filtrazione efficace V_w e il modello di Kedem–Katchalsky, entrambi con parametri costanti e dipendenti dal WSS. I risultati mostrano che la formulazione all'interfaccia influenza soprattutto LDL e oxLDL. Nei casi V_w, il maggiore ingresso lipidico produce valori più elevati di oxLDL e una maggiore sovrapposizione con le zone di accumulo di LDL. Nel modello Kedem–Katchalsky, il minore trasferimento di LDL riduce i valori medi di oxLDL e rende più evidente il contributo delle regioni ad alto contenuto di ROS. L'applicazione a geometrie realistiche conferma il ruolo della morfologia locale e del modello di trasporto adottato.

Indice

Abstract **i**

1 Introduzione e metodo **1**

1.1 Il sistema cardiovascolare 1
1.2 Carotidi 2
1.3 Aterosclerosi 3
1.3.1 Complicazioni e implicazioni cliniche dell'aterosclerosi 5
1.3.2 Ruolo dell'LDL 5
1.3.3 Ruolo dell'ossigeno nell'aterogenesi 7
1.3.4 Ruolo dell'emodinamica nell'aterogenesi carotidea 8
1.4 Metodo 9
1.4.1 Stato dell'arte 9
1.4.2 Scopo del lavoro 10

2 Equazioni del modello **12**

2.1 Geometria e studio di sensibilità della mesh 12
2.2 Assunzioni preliminari del modello 14
2.3 Formulazione matematica del problema fluidodinamico 16
2.4 Scheletro topologico 17
2.5 Trasporto scalare delle LDL 21
2.5.1 Approccio *wall-free* 21
2.5.2 Approccio *fluid–wall* 23
2.5.3 Permeabilità endoteliale shear-dependent 24
2.6 Trasporto di ossigeno 28
2.6.1 Ruolo dell'ossigeno nella formazione della placca 28
2.6.2 Modelli con pressione parziale di ossigeno imposta alla parete . 29
2.6.3 Trasporto dell'ossigeno nella parete arteriosa 31
2.7 Ruolo del sistema NO–ROS nella parete arteriosa 33
2.7.1 Legge saturante NO–WSS 35

2.7.2 Equazioni del modello completo 37

3 Metodo numerico **40**

3.1 Approccio *free–wall* 42
3.1.1 Trasporto di LDL 42
3.1.2 Numero di Sherwood 42
3.2 Approccio *fluid–wall* 43
3.2.1 Modello con velocità di filtrazione V_w 43
3.2.2 Modello Kedem–Katchalsky 44
3.2.3 Calcolo di P_{O_2} 45
3.3 Risoluzione numerica del sistema accoppiato nella parete 46

4 Risultati **50**

4.1 Risultati del modello free-wall 51
4.1.1 Caso con V_w costante 51
4.1.2 Variazione shear-dependent del parametro V_w 52
4.2 Analisi modello *fluid–wall* 55
4.2.1 PO2 55
4.2.2 LDL 56
4.2.3 Analisi distribuzione NO 58
4.2.4 Variazione NO con legge lineare 58
4.2.5 Variazione NO con legge sigmoide 58
4.3 Analisi profili transmurali 73
4.3.1 Contributo K_{ox} nel modulo redox 73
4.3.2 Contributo K_{macro} nel modulo lipidico 74
4.3.3 Contributo τ_{50} 76
4.3.4 Percentuale lipidica ossidata 78
4.4 Confrontro tra V_w e Kk 80
4.4.1 Effetto della variazione di diffusività 88

5 Risultati su geometrie realistiche **95**

5.1 Carotide 1 96
5.2 Carotide 2 101
5.3 Confronto spaziale oxLDL 106

6 Discussione **107**

Capitolo 1

Introduzione e metodo

1.1 Il sistema cardiovascolare

Il sistema cardiovascolare costituisce uno dei principali sistemi di trasporto dell'organismo umano ed è formato dal cuore, dai vasi sanguigni e dal sangue. Dal punto di vista funzionale, può essere descritto come un sistema chiuso composto da una pompa centrale, il cuore, collegata a una rete di condotti, costituita da arterie, capillari e vene, all'interno dei quali circola il sangue. La pressione generata dall'attività cardiaca consente il moto continuo del sangue attraverso il sistema, garantendo la distribuzione delle sostanze necessarie alle cellule e la rimozione dei prodotti di scarto metabolico.

Dal punto di vista organizzativo, il sistema cardiovascolare è suddiviso in due circuiti principali: la circolazione polmonare e la circolazione sistemica. La circolazione polmonare convoglia il sangue povero di ossigeno dal ventricolo destro ai polmoni, dove avviene lo scambio gassoso, e lo riporta ossigenato all'atrio sinistro. La circolazione sistemica, invece, distribuisce il sangue ossigenato dal ventricolo sinistro ai tessuti dell'organismo e raccoglie il sangue deossigenato che ritorna al cuore attraverso il sistema venoso, come schematizzato in Figura 1.1.

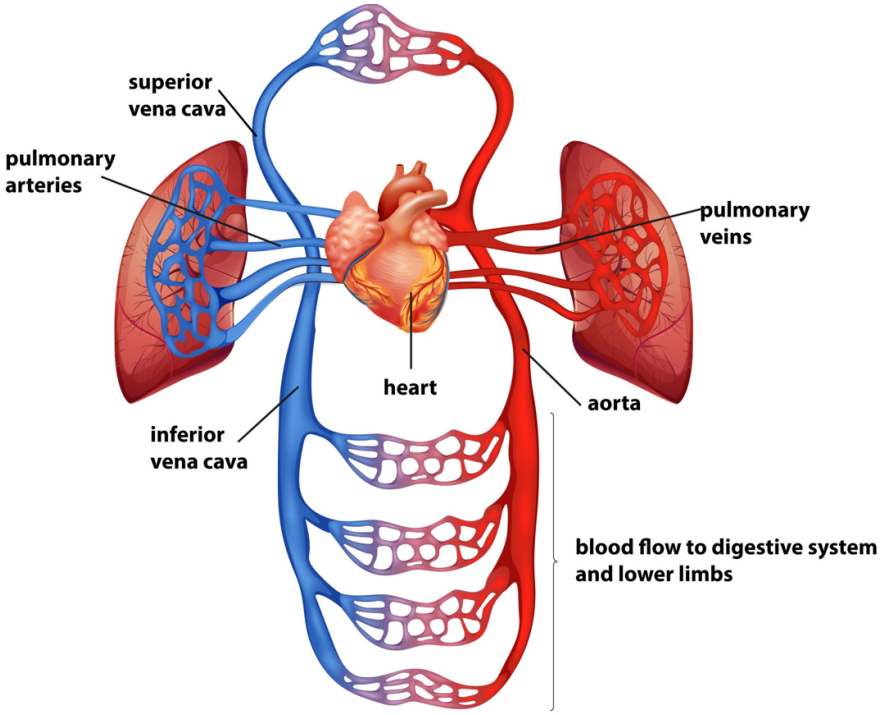


Figura 1.1: Immagine rappresentativa del sistema cardiovascolare

1.2 Carotidi

Il distretto vascolare oggetto dello studio è rappresentato dalle carotidi, i principali vasi deputati all'irrorazione dell'encefalo e delle strutture della testa e del collo. Le arterie carotidi comuni risalgono profondamente nel collo e ciascuna si divide, a livello della laringe, in carotide esterna e carotide interna. In prossimità della biforcazione è presente il seno carotideo, localizzato alla base della carotide interna e talvolta esteso lungo una porzione della carotide comune; tale struttura contiene barocettori e chemiocettori coinvolti nella regolazione cardiocircolatoria.[1]

Le arterie carotidi esterne irrorano le strutture del collo e della faccia, tra cui faringe, esofago, laringe, mandibola e tessuti facciali. Le arterie carotidi interne, invece, entrano nel cranio attraverso i canali carotici delle ossa temporali e forniscono sangue all'encefalo, suddividendosi successivamente nei principali rami destinati alla vascolarizzazione cerebrale, come illustrato in Figura 1.2. L'apporto ematico encefalico è garantito anche dal sistema vertebro-basilare e dalle interconnessioni anastomotiche del circolo arterioso cerebrale (circolo di Willis), che consentono una distribuzione ridondante del flusso sanguigno.[1]

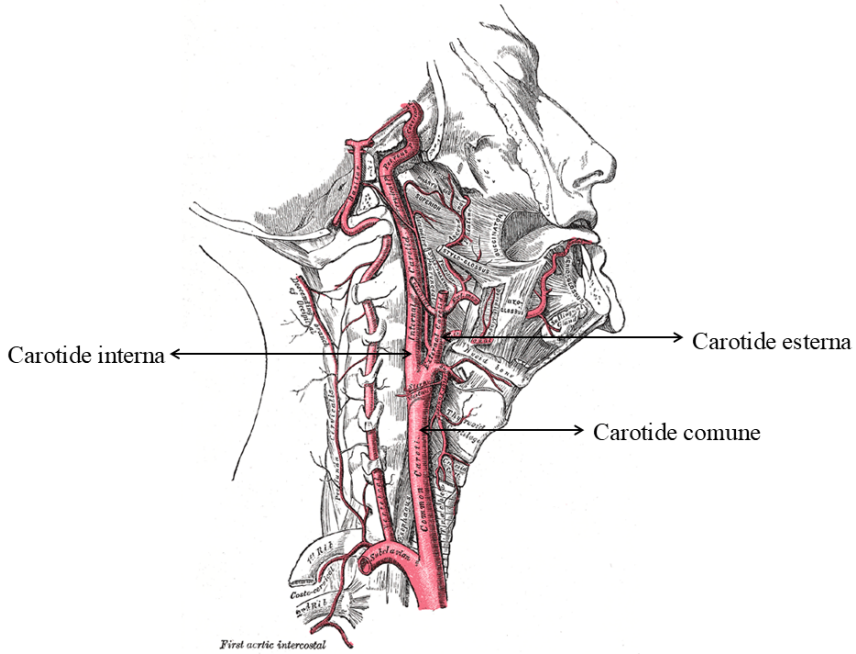


Figura 1.2: Rappresentazione anatomica del distretto carotideo.

1.3 Aterosclerosi

L'aterosclerosi rappresenta la principale patologia delle arterie di medio e grande calibro, tra cui aorta, coronarie e arterie cerebrali, ed è responsabile di una quota significativa degli eventi cardiovascolari maggiori, quali infarto miocardico e ictus [2, 3]. Si tratta di una malattia cronica e progressiva caratterizzata dalla formazione di lesioni focali della parete arteriosa, denominate ateromi o placche aterosclerotiche, che determinano un progressivo ispessimento della tunica intima e una riduzione del lume vasale [2, 3].

Da un punto di vista fisiopatologico, l'aterosclerosi è considerata una patologia multifattoriale. Uno dei fattori di rischio maggiormente riconosciuti in letteratura è l'aumento delle lipoproteine a bassa densità (LDL)[2, 3, 4, 5]; tuttavia, la patologia si sviluppa frequentemente a livelli più moderati di LDL in combinazione con altri fattori di rischio sistemici, quali fumo, ipertensione arteriosa, diabete mellito, sesso maschile e predisposizione genetica [2].

La placca aterosclerotica è costituita da un nucleo lipidico e necrotico circondato da una capsula fibrosa e da cellule coinvolte nei processi infiammatori, tra cui macrofagi e cellule muscolari lisce [6]. La sua formazione origina dalla disfunzione endoteliale e dalla deposizione di LDL ossidate, che inducono una risposta infiammatoria, con conseguente reclutamento di monociti e con la formazione di cellule schiumose [2, 3]. La progressione della malattia coinvolge numerosi processi biologici, tra cui infiamma-

zione, proliferazione cellulare e rimodellamento vascolare, determinando placche con caratteristiche morfologiche ed evoluzione clinica variabili: alcune rimangono asintomatiche, altre causano stenosi significativa o vanno incontro a rottura con trombosi acuta [2, 3].

La crescita della placca determina una progressiva riduzione del lume arterioso e altera le condizioni emodinamiche locali. In fasi avanzate, la placca può ulcerarsi o rompersi a causa delle sollecitazioni meccaniche esercitate dal flusso ematico, esponendo materiale trombogenico al sangue e favorendo la formazione di trombi che possono occludere il vaso in situ o migrare distalmente causando eventi ischemici acuti [2, 7].

Numerosi studi hanno evidenziato come la formazione della placca aterosclerotica sia un processo lento e progressivo, articolato in diverse fasi evolutive [6, 8]. Un modello di formazione e sviluppo della placca accettato in letteratura è riportato in Figura 1.3, dove si apprezza la sequenza evolutiva, che comprende un iniziale inspessimento intimale, seguito dall'accumulo di cellule schiumose; successivamente si osserva un successivo ispessimento intimale patologico con depositi lipidici extracellulari, fino allo sviluppo del fibroateroma con nucleo necrotico e, nelle fasi più avanzate, della placca fibrocalcifica [6].

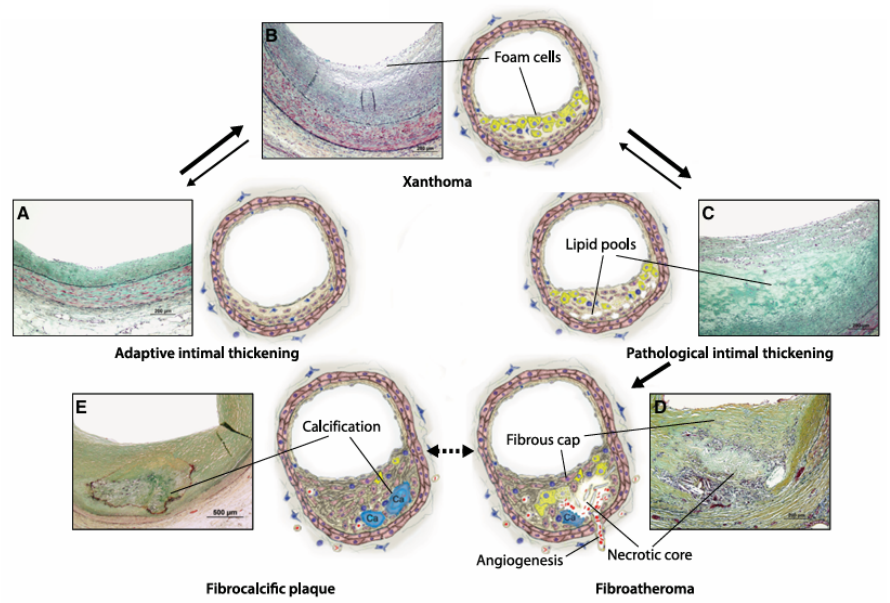


Figura 1.3: Tipi di lesione aterosclerotica e loro progressione: (A) ispessimento intimale adattativo con accumulo di cellule muscolari lisce; (B) xantoma intimale con presenza di cellule schiumose; (C) ispessimento intimale patologico con depositi lipidici extracellulari; (D) fibroateroma con nucleo necrotico; (E) placca fibrocalcifica nelle fasi avanzate.

1.3.1 Complicazioni e implicazioni cliniche dell'aterosclerosi

L'aterosclerosi comporta importanti conseguenze cliniche legate sia alla progressiva riduzione del lume, sia all'instabilità a livello meccanico delle placche aterosclerotiche stesse. Con la crescita della placca si sviluppa una stenosi del vaso che può ridurre l'apporto di sangue ai tessuti a valle e determinare condizioni di ischemia cronica, come l'angina stabile o la claudicatio intermittens [2, 8]. Nelle fasi più avanzate, l'occlusione parziale o completa del vaso può causare ischemia acuta con danno tissutale irreversibile.

Un aspetto particolarmente rilevante è rappresentato dalle cosiddette placche vulnerabili, caratterizzate da un ampio nucleo necrotico e da una capsula fibrosa sottile, che risultano più soggette a rottura [6]. La rottura o l'erosione della placca espone materiale trombogenico al sangue, favorendo l'attivazione delle piastrine e di trombi intraluminali [2]. Questi possono determinare un'occlusione improvvisa del vaso oppure migrare distalmente sotto forma di emboli, causando eventi cardiovascolari maggiori quali infarto miocardico, ictus ischemico o ischemia periferica [8].

Dal punto di vista fisiopatologico, le complicazioni dell'aterosclerosi derivano dall'interazione tra fattori biologici e meccanici. La composizione della placca, in particolare la presenza di cellule infiammatorie e l'attività di enzimi proteolitici come le metalloproteinasi, contribuisce alla destabilizzazione della capsula fibrosa, mentre le sollecitazioni emodinamiche del flusso sanguigno possono favorirne la rottura [4]. Inoltre, l'evoluzione della placca è associata a processi di necrosi cellulare e accumulo lipidico che aumentano la vulnerabilità strutturale della lesione [9].

1.3.2 Ruolo dell'LDL

Le lipoproteine sono complessi macromolecolari che permettono il trasporto dei lipidi nel plasma. La loro funzione principale è distribuire colesterolo e trigliceridi tra i diversi distretti dell'organismo, contribuendo sia ai processi energetici sia al mantenimento strutturale delle membrane cellulari. Dal punto di vista strutturale, le lipoproteine presentano un'organizzazione di tipo micellare: un core idrofobo formato prevalentemente da esteri del colesterolo e trigliceridi, circondato da un involucro idrofilo costituito da fosfolipidi, colesterolo non esterificato e apolipoproteine, come illustrato in Figura 1.4.

Queste ultime svolgono un ruolo importante non solo nel consentire il trasporto plasmatico, ma anche nel regolare il metabolismo delle particelle e la loro interazione con recettori cellulari ed enzimi [2].

Tra le diverse classi di lipoproteine, per i lavori che trattano l'aterosclerosi ci si concentra sulle lipoproteine a bassa densità (LDL), che rappresentano il principale

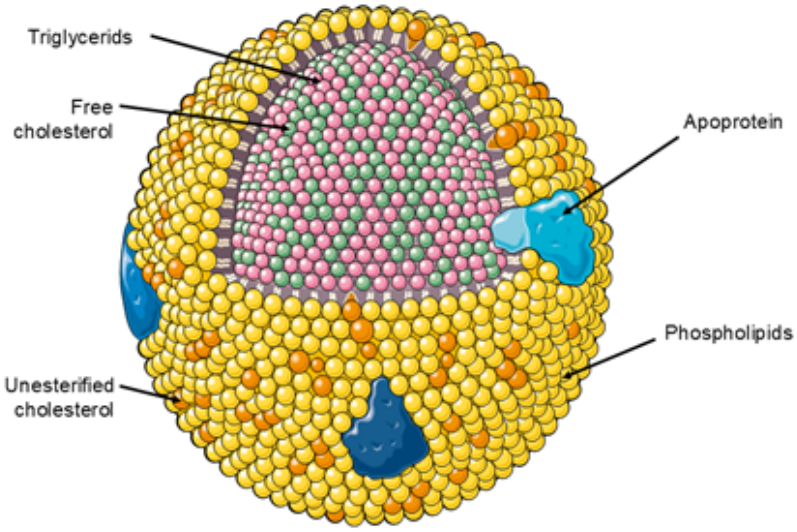


Figura 1.4: Rappresentazione schematica della struttura di una lipoproteina: core idrofobo ricco di trigliceridi ed esteri del colesterolo circondato da uno strato superficiale di fosfolipidi, colesterolo libero e apolipoproteine.

vettore di colesterolo verso i tessuti periferici e risultano strettamente coinvolte nei processi aterosclerotici. Le LDL derivano dal catabolismo di lipoproteine più ricche in trigliceridi, come le VLDL, attraverso trasformazioni metaboliche in circolo. La componente proteica principale è l'apolipoproteina B-100 (ApoB-100), essenziale sia per la stabilità strutturale della struttura sia per la sua interazione con recettori cellulari e componenti della parete vascolare [10].

ApoB-100 possiede domini funzionali che consentono il legame al recettore LDL e l'interazione con molecole della matrice extracellulare, come i glicosaminoglicani. Sebbene rappresenti la componente predominante, nelle LDL possono essere presenti anche altre apolipoproteine in quantità minori (come ApoE e ApoC), che contribuiscono a modulare la risposta biologica e il potenziale aterogeno della particella [2]. In condizioni fisiologiche le LDL circolano normalmente nel plasma. Tuttavia, un aumento della loro concentrazione nel flusso sanguigno, può favorirne il passaggio attraverso l'endotelio e l'accumulo nello spazio subendoteliale.

Una volta raggiunta l'intima, le LDL tendono ad accumularsi in regioni predisposte della parete arteriosa. Oggi si ritiene che l'evento chiave nell'avvio dell'aterosclerosi non sia soltanto il loro ingresso nell'intima, ma soprattutto la loro ritenzione nella matrice extracellulare, mediata dall'interazione tra particelle contenenti ApoB-100 e proteoglicani ricchi di glicosaminoglicani, come illustrato in Figura 1.5.

Questo concetto è alla base del cosiddetto response-to-retention model, secondo cui la ritenzione delle lipoproteine rappresenta lo stimolo iniziale della cascata aterogena [10, 2].

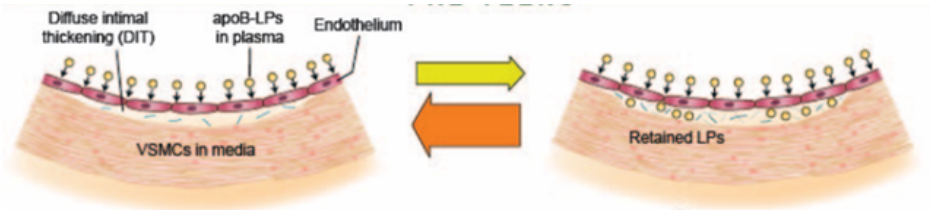


Figura 1.5: Schema del processo di ritenzione delle lipoproteine contenenti ApoB nello spazio subendoteliale della parete arteriosa.

In questi modelli, le LDL trattenute nella parete arteriosa risultano maggiormente esposte a processi di biochimici, quali ossidazione, aggregazione e rimodellamento enzimatico, che ne aumentano il potenziale aterogeno. In particolare, la permanenza nello spazio subendoteliale delle LDL ne favorisce l'interazione con specie reattive dell'ossigeno e altri mediatori locali, portando alla formazione di LDL modificate, come per esempio le oxLDL. Queste particelle perdono la normale modalità di riconoscimento mediata dal recettore LDL e acquisiscono proprietà pro-infiammatorie, inducendo l'attivazione endoteliale e l'espressione di molecole di adesione, che favoriscono il reclutamento dei monociti [10].

I monociti migrano nell'intima e si differenziano in macrofagi, che internalizzano preferenzialmente LDL modificate tramite recettori scavenger (come CD36 e SR-A). Questo processo non fa parte dei normali meccanismi di regolazione del metabolismo del colesterolo, determinando un accumulo progressivo di lipidi con conseguente formazione delle foam cells, considerate uno dei principali marker delle fasi iniziali della lesione aterosclerotica [10].

1.3.3 Ruolo dell'ossigeno nell'aterogenesi

Come discusso nella sezione precedente, i processi ossidativi a cui vanno incontro le LDL rappresentano un aspetto molto importante per l'inizio dell'aterogenesi. In condizioni fisiologiche, le LDL circolano nel plasma senza che abbiano effetti patologici sul vaso. Tuttavia, una volta penetrate nello spazio subendoteliale e trattenute nella parete arteriosa, risultano maggiormente esposte a specie reattive dell'ossigeno (ROS), prodotte sia dalle cellule endoteliali sia da cellule infiammatorie presenti localmente [10, 2].

L'interazione tra LDL e ROS favorisce l'ossidazione dei lipidi e delle apolipoproteine presenti nella particella, portando alla formazione di LDL ossidate (oxLDL).Queste interazioni modificano profondamente le proprietà biologiche delle LDL, in quanto le oxLDL vengono internalizzate preferenzialmente dai macrofagi attraverso recettori scavenger, contribuendo alla successiva formazione delle foam cells [10].

Le LDL ossidate esercitano inoltre un effetto pro-infiammatorio sulla parete vascolare. andando ad auementare l'attivazione dell'endotelio, aumentando l'espressione di molecole di adesione e chemochine, favorendo il reclutamento di monociti e amplificando la risposta infiammatoria locale [2]. Per questi motici i processi ossidativi rappresentano un passaggio chiave nell'evoluzione della lesione aterosclerotica, rappresentando il ponte tra la ritenzione delle LDL e sviluppo delle prime alterazioni cellulari della placca.

1.3.4 Ruolo dell'emodinamica nell'aterogenesi carotidea

Le condizioni emodinamiche locali svolgono un ruolo centrale nello sviluppo e nella distribuzione dell'aterosclerosi lungo l'albero arterioso. Vi è evidenza che le lesioni non si formano in maniera uniforme, ma queste tendono a localizzarsi in regioni specifiche, come biforcazioni, curvature e diramazioni, dove il flusso ematico è caratterizzato da bassi valori di wall shear stress (WSS) o da pattern oscillatori [2, 11]. Questo aspetto è particolarmente evidente a livello della biforcazione carotidea, una delle sedi più tipiche di sviluppo della placca aterosclerotica [12].

Il WSS rappresenta la forza tangenziale esercitata dal sangue sulla parete del vaso. Dal punto di vista biologico, la stessa grandezza corrisponde allo shear stress percepito dall'endotelio, spesso indicato in letteratura come endothelial shear stress (ESS) [11]. Una rappresentazione schematica dell'ESS è riportata in Figura 1.6.

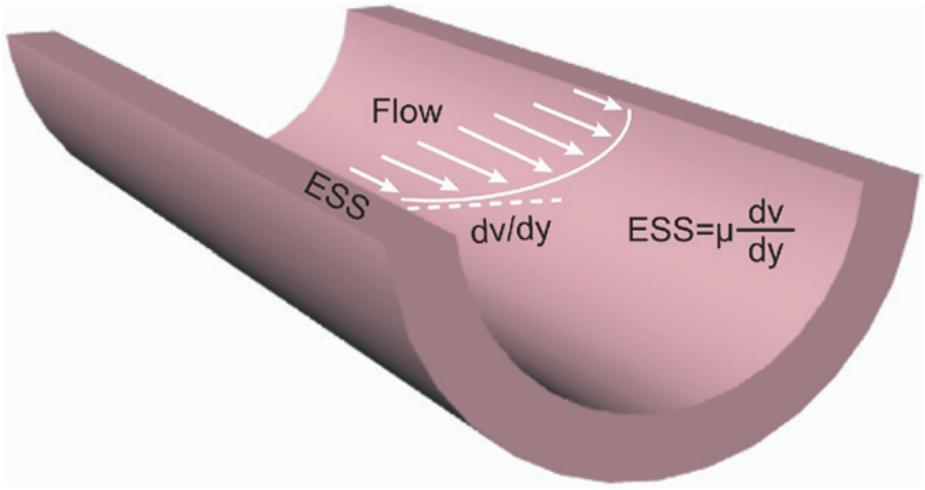


Figura 1.6: Rappresentazione schematica dello endothelial shear stress (ESS), proporzionale al prodotto tra la viscosità del sangue (μ) e il gradiente spaziale della velocità alla parete (dv/dy).

In condizioni fisiologiche, il flusso laminare ad alto WSS promuove un fenotipo endoteliale protettivo, con maggiore biodisponibilità di ossido nitrico e riduzione del-

l'attività infiammatoria. Al contrario, nelle regioni in cui il flusso è disturbato e il WSS è basso o oscillante, come nella parete laterale della biforcazione carotidea, si osservano alterazioni dell'espressione genica endoteliale, aumento della permeabilità vascolare e maggiore suscettibilità alla ritenzione delle lipoproteine nella parete arteriosa [11, 12].

In tali condizioni, il basso WSS favorisce l'ingresso e l'accumulo subendoteliale delle LDL, incrementa la produzione di specie reattive dell'ossigeno e promuove l'espressione di molecole di adesione e chemochine, facilitando il reclutamento di cellule infiammatorie e la progressione della lesione aterosclerotica [11]. Inoltre, l'interazione dinamica tra crescita della placca e modificazioni del pattern di flusso genera un circolo vizioso in cui l'alterazione emodinamica contribuisce ulteriormente alla progressione della malattia [2].

Nel complesso, l'emodinamica locale rappresenta quindi un determinante fondamentale nel localizzare il sito di formazione ed evoluzione dell'aterosclerosi, in quanto interagisce con fattori lipidici, infiammatori e strutturali. In questo quadro risulta dunque naturale interpretare i processi iniziali dell'aterogenesi come il risultato di un accoppiamento tra stimolo meccanico, trasporto di massa e risposta chimico–biologica locale, fornendo la base concettuale per l'impostazione del modello adottato nel lavoro.

1.4 Metodo

1.4.1 Stato dell'arte

Lo studio dell'aterosclerosi col passare del tempo si è evoluto, passando da una descrizione prevalentemente morfologica della placca a un'analisi integrata dei meccanismi biologici ed emodinamici che ne regolano l'inizio e la progressione. La letteratura di riferimento mostra infatti che l'aterogenesi è un processo multifattoriale, nel quale fattori sistemici, come ipercolesterolemia, fumo, ipertensione e diabete, interagiscono con fattori locali legati alla geometria del vaso e alle condizioni di flusso [2, 4].

Dal punto di vista metodologico, gran parte delle conoscenze iniziali sulla placca aterosclerotica deriva da studi istopatologici su autopsie umane e da modelli animali, che hanno permesso di descrivere le principali fasi della lesione e di ricostruirne la progressione nel tempo [2]. Recentemente, a questi approcci si sono affiancati studi di modellazione matematica e computazionale, con l'obiettivo di analizzare quantitativamente i meccanismi coinvolti nella formazione e nell'evoluzione della placca [4].

Le review dedicate all'emodinamica vascolare mostrano che lo shear stress esercitato dal sangue sulla parete modula direttamente il comportamento dell'endotelio. In condizioni fisiologiche, il flusso laminare promuove un fenotipo protettivo; al contrario, in presenza di flusso disturbato si osservano aumento della permeabilità endoteliale,

maggiore ingresso di LDL, incremento dello stress ossidativo e attivazione di segnali pro-infiammatori che favoriscono la progressione della lesione [11]. In questo quadro, il ruolo del trasporto e della ritenzione delle LDL nella parete vascolare è stato espanso tramite modelli matematici e simulazioni numeriche, che hanno evidenziato la stretta relazione tra emodinamica locale, accumulo di LDL e avvio della cascata aterogena [4, 5].

Negli ultimi anni, lo sviluppo della fluidodinamica computazionale ha reso possibile lo studio dettagliato dell'emodinamica locale anche in geometrie vascolari realistiche. Le review più recenti sottolineano come la CFD consenta di stimare grandezze che non sono facilmente misurabili *in vivo*, fornendo così uno strumento utile per interpretare i meccanismi locali alla base dell'aterogenesi [13]. Nel complesso, lo stato dell'arte suggerisce quindi che lo studio dell'aterosclerosi, richieda un approccio integrato in cui anatomia, fisiopatologia, imaging ed emodinamica computazionale vengano considerati congiuntamente.

Infine, non mancano approcci emergenti che combinano CFD e metodi di apprendimento automatico per predire rapidamente campi emodinamici complessi e supportare la stratificazione del rischio clinico nei pazienti con stenosi carotidea [**?**].

1.4.2 Scopo del lavoro

Questo studio pone l'obiettivo di estendere gli approcci comunemente adottati in letteratura basati su simulazioni CFD, integrando la fluidodinamica computazionale con la dinamica chimico–biologica della parete arteriosa. In particolare, si propone un modello accoppiato in grado di descrivere il legame tra stimolo meccanico ed evoluzione biochimica locale, andando a studiare come l'emodinamica influenzi lo stato ossidativo locale.

Il modello esplorato in questo studio è schematizzato mediante un diagramma a blocchi, rappresentato in figura 1.7, in cui la simulazione CFD fornisce il campo di moto e i principali descrittori emodinamici, in particolare quelli basati su wall shear stress (WSS), oltre alla distribuzione delle specie scalari nel lume. Tali informazioni vengono trasferite all'interfaccia lume–parete, dove l'endotelio è modellato come elemento che media il passaggio tra dominio fluido e dominio solido. In questa regione, la filtrazione transendoteliale delle specie scalari è descritta tramite un flusso di massa J_s, mentre la risposta biologica locale viene rappresentata introducendo una produzione di ossido nitrico (NO) shear–dipendente e una produzione basale di specie reattive dell'ossigeno. Le condizioni all'interfaccia rappresentano le condizioni al contorno per il modello diffusivo–reattivo nella parete arteriosa, dove il trasporto e la trasformazione delle specie sono descritti mediante equazioni accoppiate di diffusione e reazione. Il meccanismo

centrale del modello consiste quindi nel collegare l'emodinamica locale allo stato ossidativo della parete tramite la formazione di LDL ossidata, formalizzata attraverso la conversione LDL → oxLDL.

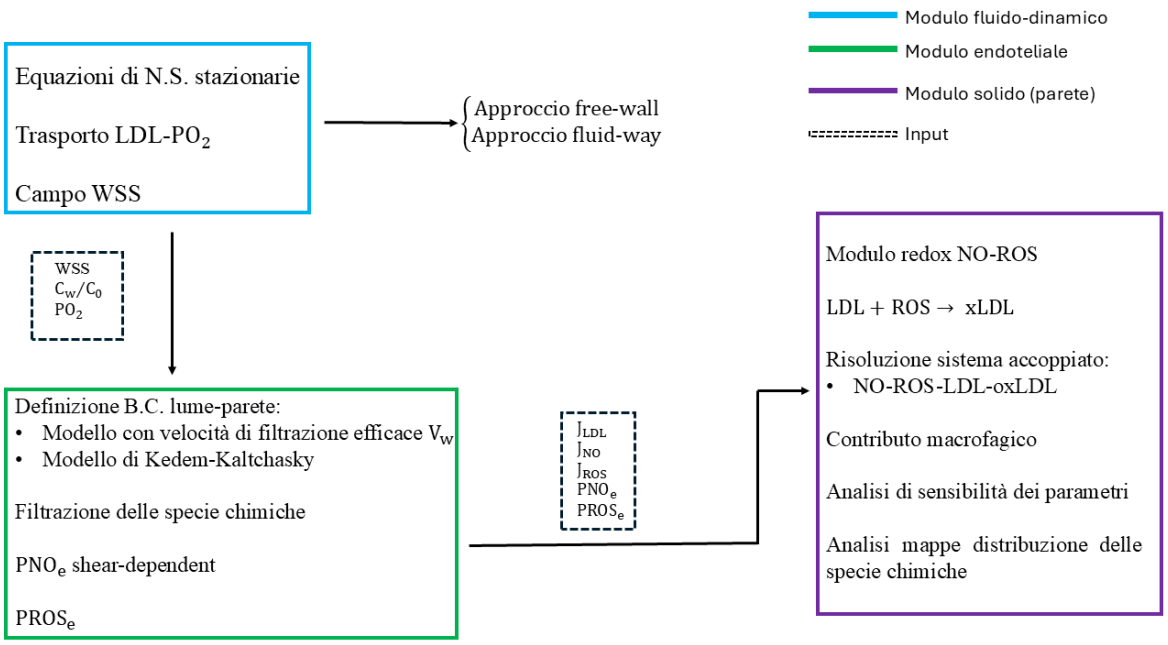


Figura 1.7: Schema a blocchi del modello accoppiato. La simulazione CFD fornisce i descrittori emodinamici e il trasporto delle specie nel lume; all'interfaccia lume–parete l'endotelio media il trasferimento di massa e la risposta biologica locale; nella parete arteriosa le specie evolvono secondo un modello diffusivo–reattivo accoppiato che include l'ossidazione delle LDL.

Con questo framework, il potenziale aterogeno della parete emerge dall'interazione dinamica tra fluidodinamica, trasporto di massa e risposta biochimica locale. Questo approccio permette quindi di integrare in un unico schema le simulazioni CFD e la chimica della parete, fornendo una base per analizzare i meccanismi iniziali dell'aterogenesi in relazione alle condizioni emodinamiche locali.

Capitolo 2

Equazioni del modello

2.1 Geometria e studio di sensibilità della mesh

La la fase preliminare del lavoro è stata finalizzata alla valutazione della sensibilità del modello alle principali scelte numeriche e modellistiche. Per fare ciò, è stata utilizzata una geometria di riferimento standard della biforcazione carotidea, disponibile nei tutorial Ansys Fluent e reperibile sulla piattaforma Grabcad (`https://grabcad.com/library/carotid-artery-1`).

Le equazioni accoppiate di Navier–Stokes e di trasporto scalare sono state risolte mediante il metodo dei volumi finiti utilizzando il codice commerciale ANSYS Fluent (ANSYS Inc., USA). La mesh è stata generata in ambiente ICEM (ANSYS Inc., USA) con raffinamento locale in prossimità della parete arteriosa. In particolare, sono stati utilizzati 20 strati prismatici, con altezza del primo strato pari a $4\,\mu$m, come riportato in figura 2.1.

La scelta della risoluzione near-wall è stata effettuata seguendo la formulazione proposta in letteratura per la corretta descrizione del trasporto di LDL. Questa formulazione è basata sul numero di Peclet e sulla scala caratteristica dello strato diffusivo (Tada, 2010) e può essere espressa come:

$$\Delta r_{\max} = \delta_C = \delta\, Sc^{-1/3}, \tag{2.1}$$

dove δ_C rappresenta lo spessore dello strato limite diffusivo delle LDL, δ lo spessore dello strato limite del moto pulsatile, ω la pulsazione del ciclo cardiaco e Sc il numero di Schmidt, definito come:

$$Sc = \frac{\nu}{D} = \frac{\mu}{\rho D}. \tag{2.2}$$

Lo spessore dello strato limite del moto può essere stimato come:

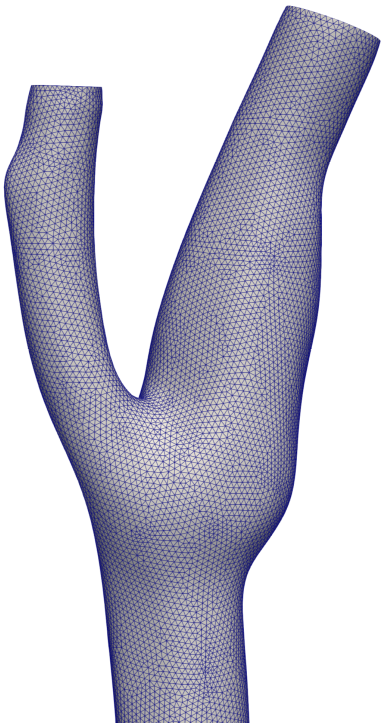


Figura 2.1: Mesh usata nella simulazione di prova, con zoom sulla biforcazione.

$$\delta = \sqrt{\frac{2\nu}{\omega}}. \tag{2.3}$$

Assumendo valori fisiologici tipici ($\rho = 1060\,\mathrm{kg/m^3}$, $\mu = 3.5 \times 10^{-3}\,\mathrm{Pa\,s}$), si ottiene:

$$\nu = \frac{\mu}{\rho} = \frac{3.5 \times 10^{-3}}{1060} \approx 3.30 \times 10^{-6}\,\mathrm{m^2/s}. \tag{2.4}$$

Assumendo per le LDL una diffusività pari a $D = 5.983 \times 10^{-12}\,\mathrm{m^2/s}$, il numero di Schmidt risulta:

$$Sc = \frac{3.30 \times 10^{-6}}{5.983 \times 10^{-12}} \approx 5.51 \times 10^{5}. \tag{2.5}$$

Assumendo una frequenza pari a $1\,\mathrm{Hz}$ ($\omega = 2\pi\,\mathrm{rad/s}$), lo spessore dello strato limite del moto risulta:

$$\delta = \sqrt{\frac{2 \cdot 3.30 \times 10^{-6}}{2\pi}} = \sqrt{1.05 \times 10^{-6}} \approx 1.02 \times 10^{-3}\,\mathrm{m}. \tag{2.6}$$

Ne consegue che lo spessore dello strato diffusivo delle LDL è:

$$\delta_C = \delta\, Sc^{-1/3} = 1.02 \times 10^{-3} \cdot (5.51 \times 10^{5})^{-1/3} \approx 1.25 \times 10^{-5}\,\mathrm{m} \approx 12.5\,\mu\mathrm{m}. \tag{2.7}$$

Pertanto, la discretizzazione near-wall deve prevedere una dimensione della prima cella inferiore a tale scala caratteristica per descrivere correttamente il fenomeno di trasporto. In questa fase di validazione è stata adottata un'altezza del primo strato pari a $4\,\mu$m, risultando quindi entro i limiti dello spessore teorico derivante dalla formulazione di Tada.

2.2 Assunzioni preliminari del modello

Al fine di rendere il problema numericamente trattabile, sono state introdotte alcune assunzioni semplificative, coerenti con quanto comunemente adottato in letteratura per lo studio emodinamico di arterie di medio e grande calibro. Numerosi studi hanno mostrato che, in condizioni di shear rate relativamente elevato — tipiche dei distretti arteriosi maggiori — tali ipotesi risultano generalmente accettabili e non compromettono in modo significativo l'accuratezza delle simulazioni emodinamiche [14, 15, 16].

In particolare, il sangue è stato modellato come un fluido omogeneo, isotropo, incomprimibile e Newtoniano. L'ipotesi di comportamento Newtoniano implica una relazione lineare tra sforzo di taglio e shear rate. Considerando ciascun componente del tensore degli sforzi viscosi come funzione lineare del gradiente di velocità, per un fluido incomprimibile vale la relazione:

$$\boldsymbol{\tau} = 2\mu\mathbf{D}(\mathbf{u}) \tag{2.1}$$

dove $\mathbf{D}(\mathbf{u})$ rappresenta il tensore del rate di deformazione. Poiché lo shear rate $\dot{\gamma}$ è legato al secondo invariante del tensore $\mathbf{D}$, per un fluido Newtoniano si ottiene:

$$\tau = \mu\dot{\gamma} \tag{2.2}$$

che evidenzia come lo sforzo viscoso sia proporzionale allo shear rate tramite la viscosità dinamica costante.

È noto che il sangue presenti caratteristiche non Newtoniane e che dunque non possa essere trattato come fluido perfettamente omogeneo a causa della presenza della componente corpuscolata [17, 18]. In particolare, il comportamento reologico del sangue è fortemente influenzato dall'aggregazione eritrocitaria e dalla deformabilità dei globuli rossi, che determinano variazioni apparenti della viscosità in funzione dello shear rate [17]. Tuttavia, tali semplificazioni risultano comunemente accettate quando si analizzano distretti arteriosi di diametro sufficientemente elevato e in condizioni di shear rate non bassi, nelle quali gli effetti di aggregazione eritrocitaria (rouleaux) risul-

tano trascurabili e il sangue tende ad assumere un comportamento prossimo a quello Newtoniano [17, 14, 16].

In particolare, nei vasi di diametro superiore a circa 0.3 mm la dimensione caratteristica dei globuli rossi risulta almeno due ordini di grandezza inferiore rispetto alla sezione del vaso, rendendo appropriata l'assunzione di continuo omogeneo per la descrizione del flusso ematico. Analogamente, per valori di shear rate superiori a circa $100\,\mathrm{s}^{-1}$, l'aggregazione eritrocitaria (rouleaux) diventa trascurabile e il sangue tende ad assumere un comportamento reologico prossimo a quello Newtoniano, con viscosità pressoché costante, come mostrato in Figura 2.2. Tali considerazioni giustificano l'adozione dell'approssimazione Newtoniana nelle simulazioni emodinamiche dei grandi vasi arteriosi [17, 14].

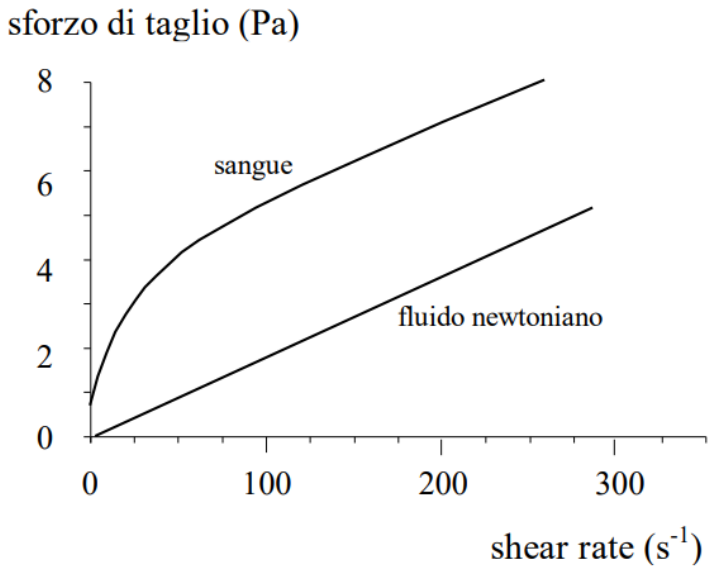


Figura 2.2: Confronto tra la relazione sforzo di taglio–shear rate per il sangue e per un fluido Newtoniano. Il sangue mostra un comportamento non Newtoniano di tipo shear-thinning, con viscosità apparente elevata a bassi valori di shear rate e tendenza alla linearità all'aumentare dello shear. Per valori elevati di shear rate, la risposta reologica del sangue si avvicina a quella di un fluido Newtoniano.

Il flusso è stato assunto laminare. Tale ipotesi può essere giustificata introducendo il numero di Reynolds, definito per un flusso in condotto come:

$$Re = \frac{\rho\,\bar{u}\,D}{\mu} \tag{2.3}$$

dove $\bar{u}$ rappresenta la velocità media del flusso, D il diametro idraulico del vaso, ρ la densità del sangue e μ la viscosità dinamica del fluido. Dal punto di vista fisico, il numero di Reynolds esprime il rapporto tra forze inerziali e forze viscose che governano

il moto. Per valori di $Re < 2000$ il regime risulta tipicamente laminare, mentre per valori più elevati possono manifestarsi condizioni transizionali o turbolente.

Nel distretto carotideo, assumendo valori fisiologici tipici ($\rho \approx 1060\,\mathrm{kg/m^3}$, $\mu \approx 3.5 \times 10^{-3}\,\mathrm{Pa\,s}$, diametro caratteristico $D \approx 6\,\mathrm{mm}$ e velocità media $\bar{u} \approx 0.3\,\mathrm{m/s}$), si ottiene una stima del numero di Reynolds pari a:

$$Re \approx \frac{1060 \cdot 0.3 \cdot 0.006}{3.5 \times 10^{-3}} \approx 545. \tag{2.8}$$

Tale valore risulta ampiamente inferiore alla soglia critica, rendendo coerente l'assunzione di regime laminare nella simulazione emodinamica del distretto in esame.

Infine, la parete arteriosa è stata assunta rigida e al contorno è stata imposta la condizione di *no-slip*, che implica velocità nulla del fluido sulla superficie vascolare.

2.3 Formulazione matematica del problema fluidodinamico

Il problema fluidodinamico è stato formulato mediante le equazioni di Navier–Stokes accoppiate all'equazione di continuità, che descrivono rispettivamente la conservazione della quantità di moto e della massa:

$$\frac{\partial(\rho\mathbf{u})}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho\mathbf{u}\mathbf{u}) = -\nabla p + \nabla \cdot \boldsymbol{\tau} + \rho\mathbf{f}_v \tag{2.4}$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho\mathbf{u}) = 0 \tag{2.5}$$

dove p rappresenta la pressione, ρ la densità del fluido, $\mathbf{u}$ il campo di velocità, $\boldsymbol{\tau}$ il tensore degli sforzi viscosi e $\mathbf{f}_v$ le forze di volume.

Trattandosi di un sistema di equazioni differenziali alle derivate parziali non lineari, la soluzione analitica risulta generalmente impraticabile per geometrie vascolari realistiche. Il problema è stato pertanto risolto numericamente mediante discretizzazione a volumi finiti, implementata nel software ANSYS Fluent.

Assumendo il sangue incomprimibile (ρ costante) e Newtoniano (μ costante), il sistema si riduce alla forma semplificata:

$$\rho\left(\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla\mathbf{u}\right) = -\nabla p + \mu\nabla^2\mathbf{u} + \rho\mathbf{g} \tag{2.6}$$

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \tag{2.7}$$

Anche in questo caso, data la natura non lineare delle equazioni, la soluzione è stata ottenuta tramite discretizzazione numerica a volumi finiti.

Le condizioni al contorno sono state definite imponendo in ingresso una portata massica pari a 0.0082 kg/s, mentre in uscita è stata assegnata una condizione di pressione statica nulla (gauge). I parametri fisici utilizzati nella simulazione sono riportati in Tabella 2.1.

Tabella 2.1: Parametri fisici utilizzati nella simulazione emodinamica.

Parametro	**Valore**
Densità del sangue [kg/m^3]	1060
Viscosità dinamica [Pa s]	3.5×10^{-3}
Portata massica in ingresso [kg/s]	0.0082
Gauge pressure [Pa]	0
Operating pressure [Pa]	13332

2.4 Scheletro topologico

In prima analisi è utile andare a studiare la distribuzione e le grandezze derivanti dal Wall Shear Stress (WSS), in quanto è un indicatore emodinamico direttamente legato alla risposta biologica dell'endotelio e quindi utile per interpretare le regioni potenzialmente soggette allo sviluppo della patologia. In questa fase non ci si limita a guardare solamente la distribuzione del WSS, ma si fa anche un'analisi basata sulla struttura del campo vettoriale stesso, andando a studiare lo scheletro topologico.

Lo scheletro topologico nasce dall'applicazione della teoria dei sistemi dinamici ai campi vettoriali, ed è costituito dai due elementi principali, punti fissi (ossia punti in cui il vettore tangenziale si annulla localmente), e le manifolds (individuano regioni in cui il campo esercita un'azione di contrazione o espansione sulle cellule endoteliali) [19]. Dunque, mentre l'intensità del WSS fornisce un'informazione locale puntuale, lo scheletro topologico permette di evidenziare strutture globali del campo, legate a fenomeni di ristagno, separazione e ricircolo del flusso, offrendo una lettura più completa dell'influenza delle strutture emodinamiche.

L'idea alla base di questo approccio è quella di interpretare il campo vettoriale nell'ambito della teoria dei sistemi dinamici, in modo da poter individuare sia i punti in cui il vettore si annulla, sia le strutture che organizzano localmente il comportamento delle traiettorie del campo.

Il punto di partenza è la considerazione che, in prossimità della parete, il vettore velocità risulta prevalentemente tangenziale e può essere messo in relazione con il

vettore di wall shear stress [20]. In particolare, la teoria della contrazione di volume mostra come la divergenza del campo vettoriale possa fornire indicazioni molto forti sul comportamento locale del campo vettoriale stesso, difatti regioni a divergenza negativa sono associate a zone soggette a contrazione, mentre regioni a divergenza positiva sono associate a zone di espansione del campo [21].

Nel caso del WSS, tuttavia, l'uso diretto della divergenza del campo può essere influenzato anche dalle variazioni locali del suo modulo. Per questo motivo, seguendo l'approccio proposto in letteratura, l'identificazione delle manifolds viene effettuata considerando la divergenza del campo di WSS normalizzato [21]:

$$\mathrm{DIV}_W = \nabla \cdot \left(\frac{\boldsymbol{\tau}}{\|\boldsymbol{\tau}\|} \right), \tag{2.9}$$

dove $\boldsymbol{\tau}$ rappresenta il vettore di wall shear stress tangenziale alla parete. Andando a normalizzare il campo di WSS, l'analisi risulta maggiormente sensibile alla configurazione spaziale del campo vettoriale stesso, rispetto che alla sola variazione del suo modulo. La differenza tra la divergenza del vettore di WSS e quella del vettore normalizzato è schematizzata in Figura 2.3. L'identificazione dei punti fissi viene invece

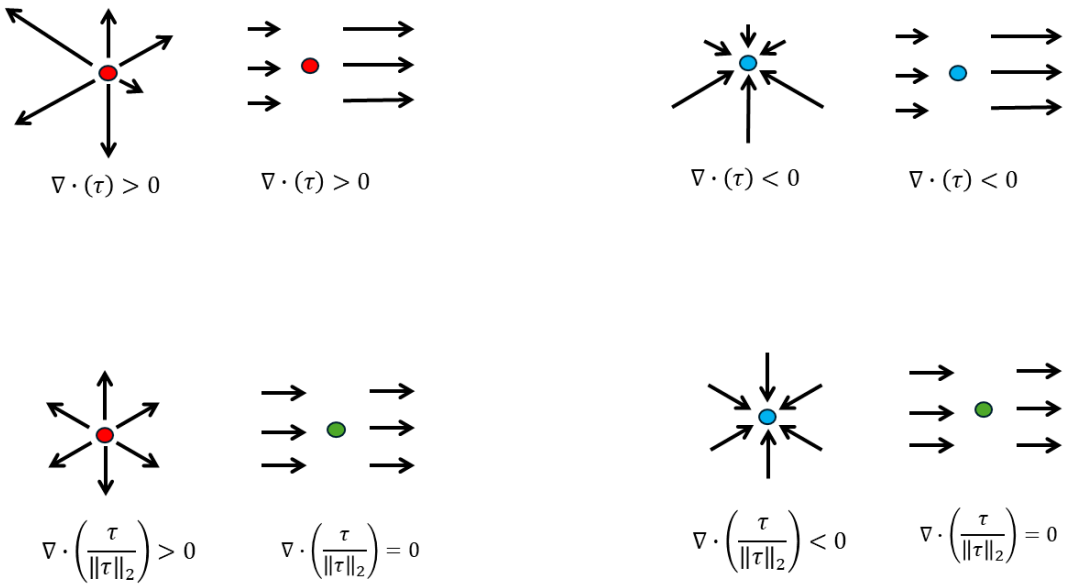


Figura 2.3: Schema interpretativo della divergenza del campo di WSS normalizzato. In rosso sono rappresentate configurazioni associate a $\mathrm{DIV}_W > 0$ (regioni di espansione), mentre in blu configurazioni con $\mathrm{DIV}_W < 0$ (regioni di contrazione). Le configurazioni a destra mostrano come la divergenza del campo normalizzato evidenzi la struttura direzionale del campo indipendentemente dalla sua magnitudine.

effettuata, a livello teorico, ricercando le zone in cui il campo vettoriale tangenziale si

annulla localmente. A livello pratico, il campo vettoriale è noto in forma discreta sui vertici della mesh superficiale e viene interpolato localmente sugli elementi triangolari, per cui operativamente non si trovano punti in cui il vettore è nullo. Per stabilire se un triangolo contiene un punto fisso, si utilizza l'indice di Poincaré, che rappresenta una misura topologica della rotazione del campo lungo un contorno chiuso [21]. Nel caso bidimensionale, esso può essere scritto come:

$$I(\gamma, \mathbf{v}) = \frac{1}{2\pi} \oint_{\gamma} d\theta, \tag{2.10}$$

dove θ rappresenta la variazione angolare del campo vettoriale lungo il contorno γ. Quando l'indice è pari a $+1$, all'interno della regione è presente un punto fisso di tipo nodo o fuoco; quando è pari a -1, il punto fisso è di tipo sella [21]. Una volta individuata la presenza del punto fisso, la sua classificazione viene ottenuta mediante l'analisi del Jacobiano del campo vettoriale linearizzato localmente [21]. In particolare, la natura del punto fisso dipende dagli autovalori della matrice jacobiana: autovalori reali con segno opposto identificano un punto di sella; autovalori reali dello stesso segno identificano un nodo stabile o instabile; infine, una coppia di autovalori complessi coniugati individua un fuoco stabile o instabile a seconda del segno della parte reale, come riassunto in Tabella 2.2. La classificazione dei diversi punti fissi è inoltre schematizzata in Figura 2.4.

Tabella 2.2: Identificazione e classificazione dei punti fissi.

Punti fissi	**Autovalori**	**Indice di Poincaré**
Nodo instabile	$\lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3 > 0$	1
Nodo stabile	$\lambda_1 < \lambda_2 < \lambda_3 < 0$	1
Punto di sella	$\lambda_1 < \lambda_2 < 0 < \lambda_3$	-1
Punto di sella	$\lambda_1 > \lambda_2 > 0 > \lambda_3$	-1
Fuoco instabile	$\lambda_1 > 0,\ \lambda_{2,3} = \alpha \pm \beta i$	1
Fuoco stabile	$\lambda_1 < 0,\ \lambda_{2,3} = -\alpha \pm \beta i$	1

In questo modo è possibile distinguere non solo la posizione dei punti fissi, ma anche il loro ruolo nella struttura locale del campo.

In Figura 2.5 è riportato un cartoon riassuntivo dei concetti principali derivanti dall'analisi dello scheletro topologico del campo di WSS.

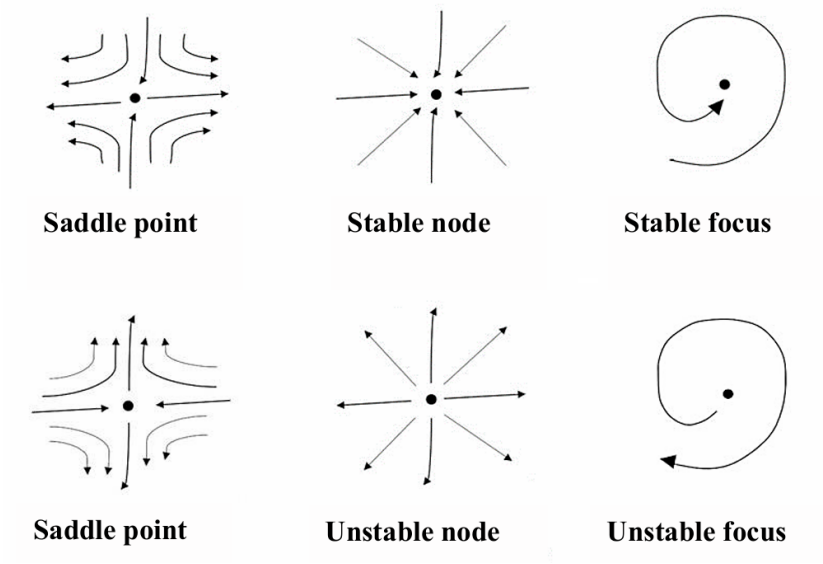


Figura 2.4: Classificazione locale dei punti fissi di un campo vettoriale bidimensionale. In alto sono mostrati, da sinistra a destra, un punto di sella, un nodo stabile e un fuoco stabile; in basso un ulteriore esempio di punto di sella, un nodo instabile e un fuoco instabile. La classificazione dipende dagli autovalori della matrice jacobiana del campo linearizzato localmente.

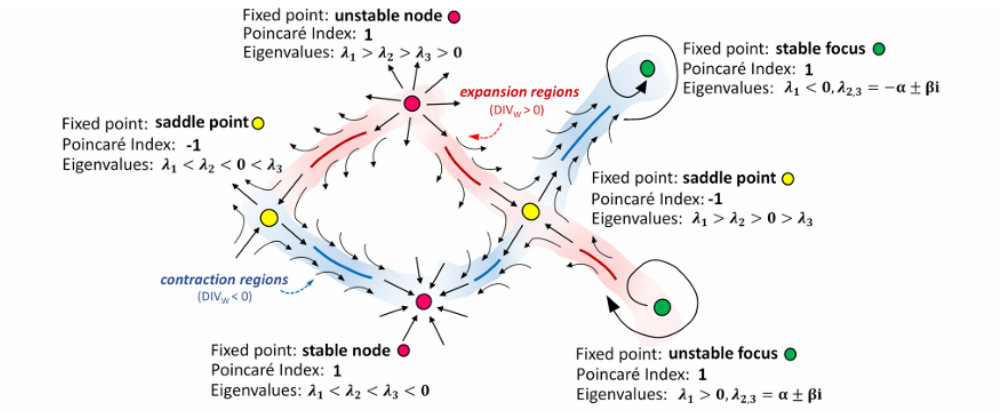


Figura 2.5: Schema riassuntivo dello scheletro topologico di un campo vettoriale bidimensionale. Sono illustrati i principali tipi di punti fissi (nodi, fuochi e punti di sella), insieme alle regioni di contrazione ($\mathrm{DIV}_W < 0$) ed espansione ($\mathrm{DIV}_W > 0$) che definiscono le manifolds stabili e instabili e organizzano la struttura globale del campo.

2.5 Trasporto scalare delle LDL

Il trasporto delle lipoproteine a bassa densità (LDL) è stato modellato come problema di trasporto scalare accoppiato al campo di moto, risolto tramite l'equazione di trasporto delle specie implementata in ANSYS Fluent. In questo caso le LDL sono trattate come specie disciolta nel plasma e il loro trasporto nel lume vascolare è descritto mediante l'equazione di trasporto scalare:

$$\frac{\partial(\rho C)}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} C) = \nabla \cdot (\rho D \nabla C) \tag{2.11}$$

dove C rappresenta la concentrazione di LDL, $\mathbf{u}$ il campo di velocità ottenuto dalla soluzione delle equazioni di Navier–Stokes, ρ la densità del fluido e D il coefficiente di diffusione molecolare nel plasma.

In letteratura, i modelli che descrivono il trasporto delle LDL nelle arterie sono generalmente classificati in funzione del livello di descrizione della parete vascolare [22]. In particolare, è possibile distinguere tra due principali tipologie di approcci: quelli in cui la parete non viene esplicitamente modellata e quelli in cui essa è invece descritta come dominio fisico accoppiato al fluido.

Nel primo caso, comunemente indicato come approccio *wall-free*, il dominio computazionale è limitato al solo lume vascolare e l'effetto della parete è rappresentato mediante condizioni al contorno efficaci imposte sull'interfaccia fluido–parete. Questo tipo di formulazione è ampiamente utilizzato negli studi CFD, poiché consente di analizzare il trasporto near-wall con costi computazionali contenuti ed è particolarmente adatto allo studio dell'influenza dell'emodinamica locale sulla distribuzione delle LDL [22, 23].

Nel secondo caso, la parete arteriosa viene esplicitamente modellata e il dominio fluido risulta accoppiato con quello solido. In questa categoria rientrano sia i modelli *fluid–wall*, dove la parete viene modellato come un dominio omogeneo, sia i modelli *multilayer wall*, che descrivono separatamente le diverse componenti della parete arteriosa (intima, media e avventizia).

Gli approccio *free-wall* e *multilayer wall* hanno il pregio di descrivere in maniera più dettagliata i processi di accumulo e trasporto delle LDL all'interno della parete, tuttavia sono computazionalmente più onerosi in quanto richiedono sia un numero maggiore di parametri, sia una discretizzazione numerica più onerosa. [22].

2.5.1 Approccio *wall-free*

Nei modelli *wall-free* il trasporto delle LDL viene risolto esclusivamente nel dominio fluido, mentre l'interazione con la parete arteriosa è descritta mediante condizioni al

contorno efficaci [22, 23]. Coerentemente con questa impostazione, il trasporto delle LDL nel lume è descritto dall'equazione di trasporto scalare, mentre le condizioni al contorno sono state definite secondo la formulazione comunemente utilizzata negli studi CFD sul trasporto lipidico [23, 24].

In ingresso è stata imposta una concentrazione uniforme pari al valore di riferimento C_0, assunto pari a $2.86 \times 10^{-9}\,\mathrm{mol/m^3}$, rappresentativo di un valore fisiologico medio nel sangue [24]. In forma normalizzata, questa condizione corrisponde a:

$$\frac{C}{C_0} = 1. \tag{2.12}$$

La diffusività molecolare delle LDL nel plasma è stata posta pari a $5.983\times10^{-12}\,\mathrm{m^2/s}$ [23] e assegnata direttamente nelle proprietà del materiale in ANSYS Fluent, nell'ambito della definizione della UDS. L'utilizzo della concentrazione normalizzata consente di interpretare i risultati in modo indipendente dal valore assoluto della concentrazione imposta in ingresso, in assenza di una calibrazione su dati clinici individuali.

In uscita è stata applicata una condizione di stress-free lungo la direzione normale:

$$\frac{\partial C}{\partial n} = 0, \tag{2.13}$$

dove n indica la normale alla superficie di uscita [23].

In corrispondenza della parete vascolare è stata invece imposta una condizione di bilancio di flusso, in accordo con quanto adottato nella letteratura sul trasporto di LDL nei distretti arteriosi [24, 23]. In questa formulazione, il trasporto verso l'endotelio deriva dal bilancio tra il contributo convettivo, associato alla filtrazione transendoteliale del plasma, e il contributo diffusivo, diretto in senso opposto verso il bulk del flusso. La condizione alla parete può essere scritta come:

$$C_w V_w - D\frac{\partial C}{\partial n}\Big|_{\mathrm{wall}} = K_w C_w, \tag{2.14}$$

dove C_w è la concentrazione alla parete, V_w la velocità di filtrazione transendoteliale, pari a $4\times10^{-8}\,\mathrm{m/s}$, e K_w il coefficiente di permeabilità endoteliale, pari a $2\times10^{-10}\,\mathrm{m/s}$ [24, 23]. Poiché il termine associato al passaggio attraverso la parete risulta circa due ordini di grandezza inferiore rispetto al contributo convettivo dovuto alla filtrazione, esso viene trascurato come approssimazione di primo ordine. La condizione si riduce quindi al bilancio tra il trasporto convettivo verso la parete e il contributo diffusivo opposto:

$$C_w V_w = D\frac{\partial C}{\partial n}\Big|_{\mathrm{wall}}. \tag{2.15}$$

Dal punto di vista implementativo, questa condizione è stata imposta in ANSYS Fluent mediante una User-Defined Function (UDF).

2.5.2 Approccio *fluid–wall*

Per superare il limite dell'approccio *wall-free*, si considera una formulazione di tipo *fluid–wall*, in cui la parete arteriosa non è più trattata solo tramite una condizione al contorno, ma entra direttamente nella descrizione del trasporto. In questo modo è possibile descrivere sia il trasporto delle LDL nel lume sia la loro distribuzione all'interno della parete, modellata come mezzo poroso con proprietà efficaci [25, 26].

Nel lume il trasporto delle LDL rimane descritto dall'equazione scalare già introdotta. Nella parete, invece, la concentrazione C_p può essere descritta tramite un'equazione diffusivo–reattiva:

$$\frac{\partial C_p}{\partial t} + \mathbf{u}_p \cdot \nabla C_p = \nabla \cdot (D_p \nabla C_p) - K_{\text{gen}} C_p. \tag{2.16}$$

In questa relazione C_p rappresenta la concentrazione di LDL nella parete, $\mathbf{u}_p$ la velocità interstiziale, D_p la diffusività efficace nel tessuto e K_{gen} un termine di consumo efficace, usato per rappresentare in forma fenomenologica i processi di ritenzione e trasformazione delle LDL [26].

L'accoppiamento tra lume e parete viene imposto attraverso un flusso all'interfaccia. In una forma semplificata, tale flusso può essere scritto come:

$$J_s = V_w \left(C_{\text{lume}} - C_p \right), \tag{2.17}$$

dove C_{lume} è la concentrazione nel lume in prossimità della parete. Questa scrittura mantiene l'idea di un trasferimento guidato dalla filtrazione, ma introduce anche il ruolo della concentrazione già presente nella parete.

Modello con barriera endoteliale di Kedem–Katchalsky

Una descrizione più completa dell'interfaccia è data dal modello di Kedem–Katchalsky, in cui l'endotelio viene rappresentato come una membrana semipermeabile. In questo caso il trasferimento delle LDL non dipende solo da una velocità efficace, ma anche dalla filtrazione del plasma, dalla permeabilità della membrana e dalla sua selettività rispetto al soluto.

Il flusso volumetrico attraverso l'endotelio è espresso come:

$$J_v^{end} = L_p^{end} \left(\Delta p^{end} - \sigma_d^{end} \Delta \pi^{end} \right), \tag{2.18}$$

dove J_v^{end} è il flusso volumetrico, L_p^{end} la conducibilità idraulica endoteliale, Δp^{end} il salto di pressione, σ_d^{end} il coefficiente di riflessione osmotico e $\Delta\pi^{end}$ la differenza di pressione osmotica. Se quest'ultimo viene trascurato, la relazione diventa:

$$J_v^{end} = L_p^{end} \Delta p^{end}. \tag{2.19}$$

Il flusso di LDL attraverso l'endotelio viene invece scritto come somma di un contributo diffusivo e di un contributo convettivo:

$$J_s^{end} = P^{end} \left(C_l - C_w\right) + \left(1 - \sigma_f\right) J_v^{end} C_{end}. \tag{2.20}$$

Il termine $P^{end}(C_l - C_w)$ descrive il contributo diffusivo, guidato dalla differenza di concentrazione tra lato luminale e lato murale. Il termine $(1 - \sigma_f)\, J_v^{end} C_{end}$ descrive invece il contributo convettivo legato alla filtrazione del plasma. Il coefficiente σ_f rappresenta la selettività della barriera endoteliale: più è vicino a uno, più il trasporto convettivo delle LDL viene limitato.

La permeabilità diffusiva efficace della membrana può essere scritta come:

$$P^{end} = \frac{D_{end}^{eff}}{L_{end}}, \tag{2.21}$$

dove D_{end}^{eff} è la diffusività efficace delle LDL nello strato endoteliale e L_{end} è lo spessore dell'endotelio.

Rispetto alla forma semplificata basata su $V_w(C_{\text{lume}} - C_p)$, il modello di Kedem–Katchalsky separa quindi i diversi contributi al trasporto: filtrazione del plasma, diffusione attraverso l'endotelio e selettività della membrana.

2.5.3 Permeabilità endoteliale shear-dependent

Una limitazione dell'approccio *fluid–wall* è quello di assumere proprietà endoteliali costanti. Questa ipotesi è utile come primo livello di modellazione, ma trascura totalmente la risposta dell'endotelio agli stimoli meccanici locali. In particolare, la WSS non influenza soltanto la distribuzione delle LDL nel lume, ma può modificare anche la funzione di barriera dell'endotelio e quindi il passaggio di fluido e macromolecole verso la parete [27, 11, 28, 29].

Questa interpretazione è supportata da evidenze sperimentali. Kang et al. hanno mostrato, su monostrati endoteliali *in vitro*, che l'esposizione a shear fisiologico pari a circa $12\,\mathrm{dyn\,cm^{-2}}$ può aumentare sia il flusso d'acqua transendoteliale sia la permeabilità alle LDL. In particolare, dopo tre ore di esposizione, gli autori riportano un incremento del flusso volumetrico J_v di circa 2.37 volte e un aumento della permeabilità

alle LDL di circa 3 volte [28]. L'aumento di J_v viene associato a meccanismi dipendenti dal NO, mentre l'incremento della permeabilità alle LDL è messo in relazione con la formazione di *leaky junctions*. In modo coerente, DeMaio et al. hanno evidenziato che lo shear stress può modificare la regolazione delle *tight junctions*, in particolare della proteina occludina, influenzando il trasporto paracellulare attraverso l'endotelio [29].

Dal punto di vista modellistico, l'idea di rendere shear-dependent le proprietà di trasporto endoteliale è già presente in modelli accoppiati lume–parete. Sun et al. hanno introdotto proprietà di trasporto dipendenti dalla WSS in un modello *fluid–wall* basato sulla formulazione di Kedem–Katchalsky [30]. Una formulazione analoga, applicata alla biforcazione carotidea, è riportata da Sakellarios et al., che descrivono il trasporto delle LDL tenendo conto delle condizioni emodinamiche locali [31]. In questa prospettiva, la permeabilità shear-dependent viene usata come descrizione fenomenologica del legame tra stimolo meccanico locale e trasporto lipidico attraverso la barriera endoteliale [30, 31, 25].

Nel modello ridotto basato sulla velocità di filtrazione transendoteliale, questo effetto viene introdotto facendo variare localmente V_w in funzione della WSS. Il parametro V_w rappresenta una velocità efficace di filtrazione e compare nel contributo convettivo del flusso di LDL verso la parete, che può essere scritto in forma semplificata come [24, 23]:

$$J_{\mathrm{LDL}} \simeq V_w C_w. \tag{2.22}$$

Una prima descrizione della dipendenza dalla WSS è ottenuta tramite una legge lineare. Si assume che, per valori di WSS inferiori a una soglia τ_{on}, la velocità di filtrazione aumenti al diminuire dello shear stress:

$$V_w(\tau) = V_{w,\min} + \alpha\,(\tau_{\mathrm{on}} - \tau)\,, \qquad \tau < \tau_{\mathrm{on}}. \tag{2.23}$$

Per valori superiori alla soglia, invece, V_w viene mantenuta pari al valore basale:

$$V_w(\tau) = V_{w,\min}, \qquad \tau \geq \tau_{\mathrm{on}}. \tag{2.24}$$

In questa forma, α controlla la rapidità con cui la velocità di filtrazione aumenta nelle regioni a basso shear. Equivalentemente, si può definire il rapporto

$$B = \frac{V_{w,\max}}{V_{w,\min}}, \tag{2.25}$$

che quantifica l'incremento massimo rispetto al valore basale. La formulazione lineare ha il vantaggio di essere semplice e continua, evitando una variazione a scalino

del parametro tra regioni vicine della parete.

Una seconda possibilità consiste nell'utilizzare una legge sigmoide, più adatta a rappresentare una risposta endoteliale graduale e limitata. Si introduce innanzitutto una funzione di Hill decrescente:

$$r(\tau) = \frac{1}{1 + \left(\dfrac{\tau}{\tau_{50}}\right)^{n}}. \tag{2.26}$$

A partire da questa funzione si definisce una modulazione normalizzata $h(\tau)$, costruita in modo che $h(0) = 1$ e $h(\tau_{\mathrm{on}}) = 0$:

$$h(\tau) = \frac{r(\tau) - r(\tau_{\mathrm{on}})}{1 - r(\tau_{\mathrm{on}})}, \qquad \tau < \tau_{\mathrm{on}}. \tag{2.27}$$

Per $\tau \geq \tau_{\mathrm{on}}$ si assume invece:

$$h(\tau) = 0. \tag{2.28}$$

La velocità di filtrazione shear-dependent è quindi scritta come:

$$V_w(\tau) = V_{w,\min}\left[1 + (B - 1)\, h(\tau)\right]. \tag{2.29}$$

Il parametro n regola la ripidità della transizione, mentre τ_{50} determina la posizione della sigmoide. Per rendere la curva coerente con la distribuzione di WSS del caso studiato, τ_{50} può essere determinato imponendo che, in corrispondenza del decimo percentile della WSS, la funzione normalizzata sia già vicina alla saturazione:

$$h(\tau_{P10}) = q, \qquad q = 0.9. \tag{2.30}$$

Nel caso considerato, $\tau_{P10} = 0.4\,\mathrm{Pa}$ e $\tau_{\mathrm{on}} = 1.8\,\mathrm{Pa}$. In questo modo, le regioni caratterizzate da basso shear vengono associate a valori di V_w prossimi al massimo, mentre per valori elevati di WSS la filtrazione ritorna al valore basale.

La stessa logica può essere applicata al modello di Kedem–Katchalsky. In questo caso non si modifica direttamente una velocità efficace di filtrazione, ma si rendono dipendenti dalla WSS i parametri propri della barriera endoteliale. In particolare, la conducibilità idraulica L_p^{end} controlla il flusso volumetrico attraverso l'endotelio, mentre la permeabilità diffusiva P^{end} controlla il contributo diffusivo del trasporto di LDL [30, 31].

Il flusso volumetrico endoteliale può essere scritto come:

$$J_v^{\mathrm{end}}(\tau) = L_p^{\mathrm{end}}(\tau)\Delta p^{\mathrm{end}}. \tag{2.31}$$

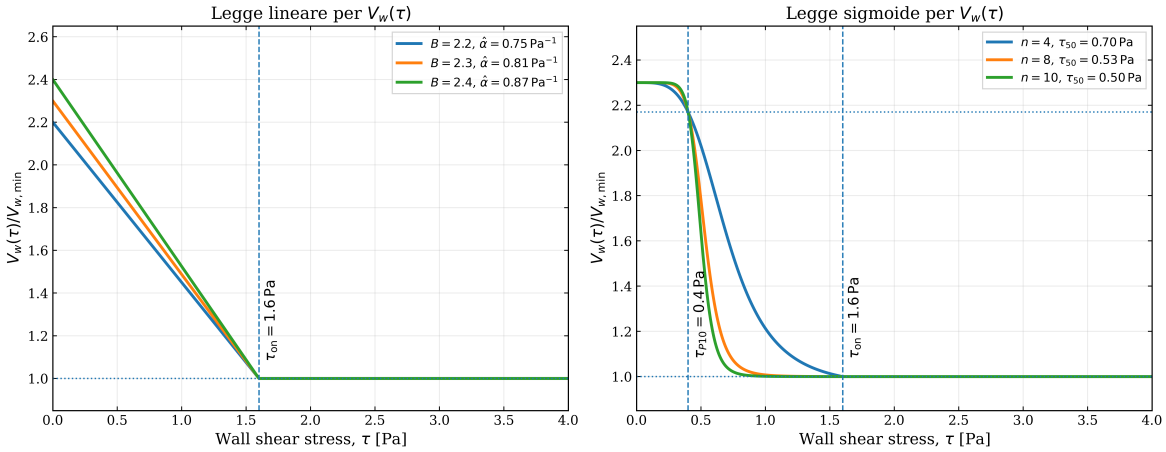


Figura 2.6: Leggi shear-dependent per la velocità di filtrazione transendoteliale V_w. A sinistra è riportata la legge lineare per diversi valori del rapporto $B = V_{w,\max}/V_{w,\min}$. A destra è mostrata la legge sigmoide al variare dell'esponente n, con τ_{50} determinato imponendo $h(\tau_{P10}) = 0.9$.

Il flusso di LDL attraverso l'endotelio mantiene invece la struttura generale della formulazione di Kedem–Katchalsky, ma utilizza parametri locali dipendenti dalla WSS:

$$J_s^{\mathrm{end}}(\tau) = P^{\mathrm{end}}(\tau)\,(C_l - C_w) + (1 - \sigma_f)\,J_v^{\mathrm{end}}(\tau) C_{\mathrm{end}}. \tag{2.32}$$

La dipendenza dalla WSS viene descritta mediante una funzione sigmoide decrescente:

$$S(\tau) = \frac{1}{1 + \left(\dfrac{\tau}{\tau_{50}}\right)^{n}}. \tag{2.33}$$

La conducibilità idraulica e la permeabilità diffusiva vengono quindi definite come:

$$L_p^{\mathrm{end}}(\tau) = L_{p,0}^{\mathrm{end}}\left[1 + A_L S(\tau)\right], \tag{2.34}$$

$$P^{\mathrm{end}}(\tau) = P_0^{\mathrm{end}}\left[1 + A_P S(\tau)\right]. \tag{2.35}$$

I parametri $L_{p,0}^{\mathrm{end}}$ e P_0^{end} rappresentano i valori basali, mentre A_L e A_P controllano l'aumento massimo rispettivamente della conducibilità idraulica e della permeabilità diffusiva. La funzione sigmoide è la stessa nei due casi, ma viene applicata a due grandezze fisicamente diverse: L_p^{end} regola il passaggio di fluido, mentre P^{end} regola il passaggio diffusivo delle LDL. Gli incrementi vengono mantenuti dell'ordine di poche volte il valore basale, in accordo con le evidenze sperimentali disponibili sulla modulazione shear-dependent della barriera endoteliale [28, 29].

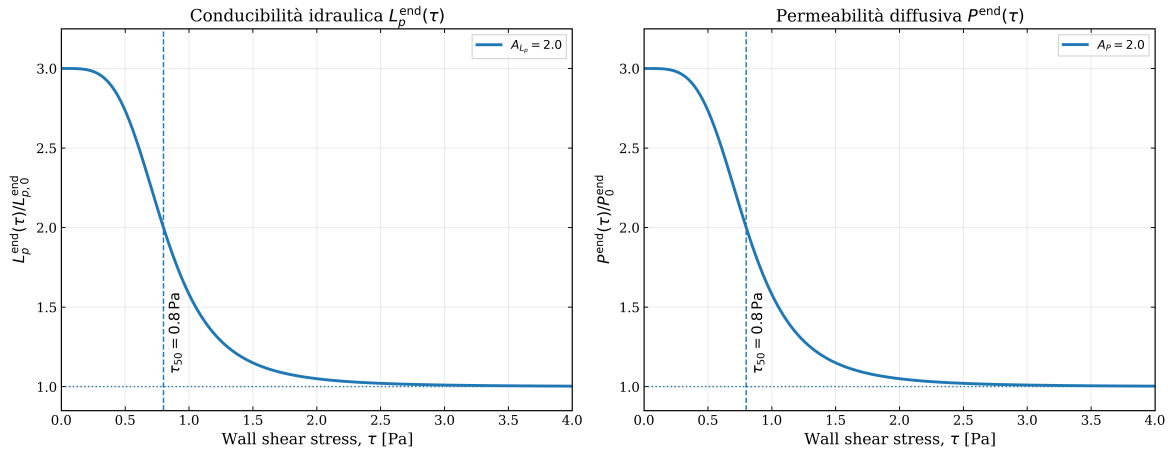


Figura 2.7: Leggi sigmoidi shear-dependent applicate ai parametri endoteliali del modello di Kedem–Katchalsky. A sinistra è mostrata la variazione normalizzata della conducibilità idraulica $L_p^{\text{end}}(\tau)$, mentre a destra è riportata la variazione della permeabilità diffusiva $P^{\text{end}}(\tau)$.

In questo modo, il trasporto delle LDL attraverso l'endotelio viene legato direttamente al WSS: nelle zone a basso shear la barriera risulta più permeabile, mentre per valori più elevati i parametri tornano verso il regime basale.

2.6 Trasporto di ossigeno

2.6.1 Ruolo dell'ossigeno nella formazione della placca

Nei modelli che descrivono la formazione e la progressione della placca aterosclerotica, la disponibilità locale di ossigeno nella parete arteriosa è un aspetto importante, perché la parete vascolare non può essere vista come un semplice contorno passivo, ma come un tessuto metabolicamente attivo [32]. La distribuzione di ossigeno dipende quindi da più contributi: l'apporto dal lume, la diffusione attraverso l'endotelio e nello spessore murale, il consumo cellulare e, nelle regioni più profonde, l'eventuale contributo dei *vasa vasorum* [32].

Una riduzione persistente dell'ossigenazione tissutale, indicata come ipossia, è stata associata in letteratura a disfunzione endoteliale, aumento della permeabilità vascolare e alterazioni del microambiente infiammatorio [33]. In particolare, condizioni di ipossia locale possono favorire la degradazione della barriera endoteliale e la formazione di gap inter-endoteliali, aumentando di conseguenza il passaggio di macromolecole attraverso la parete [33]. Questo aspetto diventa rilevante soprattutto in distretti caratterizzati da emodinamica disturbata, come biforcazioni e curvature, dove separazione di flusso e ricircoli possono ridurre l'efficienza del rifornimento di ossigeno alla parete [34].

Nella letteratura sul trasporto di ossigeno si possono distinguere due approcci principali. Il primo tratta la parete come una condizione al contorno, imponendo un valore di pressione parziale di ossigeno alla superficie vascolare [35]. Il secondo include invece esplicitamente la parete arteriosa, risolvendo diffusione e consumo intramurale in un modello accoppiato sangue–parete [32, 34].

2.6.2 Modelli con pressione parziale di ossigeno imposta alla parete

Nel primo tipo di modello, il trasporto di ossigeno viene risolto solo nel lume mediante un'equazione convettivo–diffusiva. La parete non viene quindi discretizzata, ma viene trattata come una condizione al contorno efficace, a cui si assegna un valore di pressione parziale scelto sulla base di dati sperimentali o di valori fisiologici medi [35].

In questa formulazione la parete si comporta come un assorbitore ideale: il sangue cede ossigeno alla superficie vascolare e il flusso di massa dipende principalmente dal gradiente di concentrazione nelle regioni vicino parete. Il vantaggio di questo approccio è che permette di ridurre il costo computazionale, evitando di risolvere esplicitamente il trasporto nello spessore murale. Per questo motivo è utile come primo strumento per valutare l'effetto dell'emodinamica locale sul trasferimento di massa e per calcolare grandezze sintetiche, come il numero di Sherwood [35].

Il limite principale è che la pressione parziale alla parete viene imposta a priori. In realtà, però, la PO_2 murale dovrebbe derivare dall'equilibrio tra apporto dal lume, diffusione nel tessuto, consumo metabolico e contributo dei *vasa vasorum*. I modelli con valore imposto sono quindi utili per isolare il ruolo del flusso nel lume, ma non descrivono direttamente l'ossigenazione interna della parete.

Anche in questa forma semplificata, il trasporto di ossigeno nel sangue è più complesso rispetto a quello di uno scalare passivo. L'ossigeno, infatti, è presente sia in forma libera disciolta nel plasma sia legato all'emoglobina. Per questo motivo il trasporto complessivo può essere descritto con un'equazione di advezione–diffusione in cui il contributo dell'emoglobina viene incluso attraverso la saturazione emoglobinica.

La variabile trasportata è la pressione parziale di ossigeno nel plasma, indicata con PO_2. L'equazione governante può essere scritta come:

$$\frac{\partial PO_2}{\partial t} + \left(1 + \frac{[Hb]}{\alpha}\frac{dS}{dPO_2}\right)\mathbf{u}\cdot\nabla PO_2 - \nabla\cdot\left[\left(D_b + \frac{[Hb]}{\alpha}D_c\frac{dS}{dPO_2}\right)\nabla PO_2\right] = 0. \quad (2.36)$$

dove $\mathbf{u}$ è il campo di velocità del sangue, $[Hb]$ la capacità totale di trasporto dell'emoglobina, α la solubilità dell'ossigeno nel plasma, D_b la diffusività dell'ossigeno libero,

D_c la diffusività dell'ossiemoglobina e S la funzione di saturazione emoglobinica.

Nel caso stazionario il termine temporale si annulla. La saturazione dell'emoglobina viene descritta mediante l'equazione di Hill:

$$S = \frac{PO_2^n}{PO_2^n + P_{50}^n} \tag{2.37}$$

dove n è il coefficiente di Hill e P_{50} è la pressione parziale di ossigeno corrispondente a una saturazione del 50

Per ridurre l'onerosità numerica dovuta alla non linearità della saturazione, la derivata dS/dPO_2 è stata linearizzata attorno a un valore di riferimento PO_2'. In questo modo si ottiene una diffusività efficace costante pari a circa:

$$D \approx 1.43 \times 10^{-9} \mathrm{m}^2/\mathrm{s}. \tag{2.38}$$

La curva di Hill e l'intervallo usato per la linearizzazione sono mostrati in Figura 2.8.

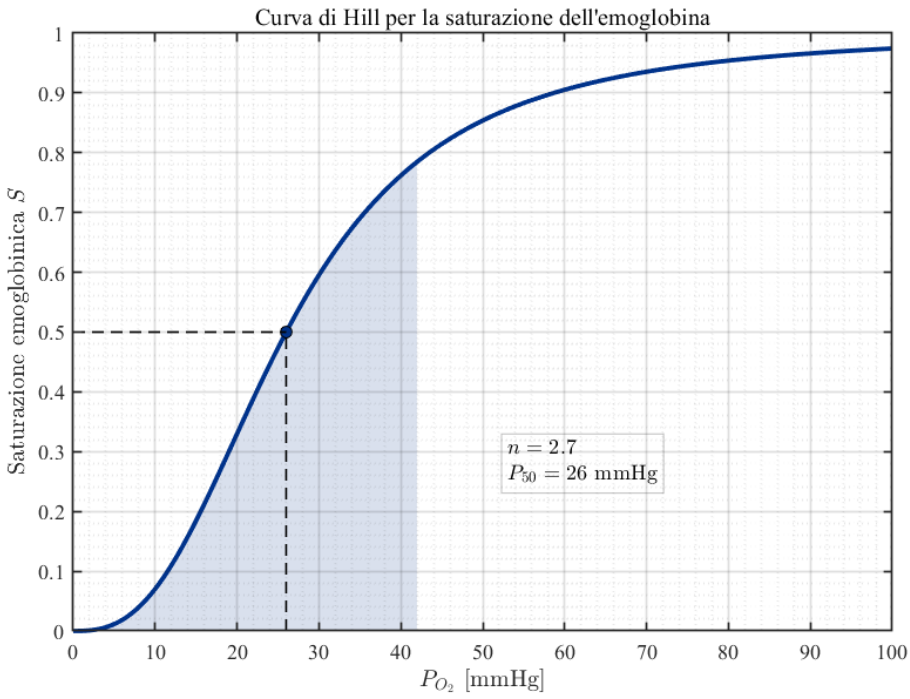


Figura 2.8: Curva di Hill per la saturazione dell'emoglobina ($n = 2.7$, $P_{50} = 26, \mathrm{mmHg}$). L'area evidenziata rappresenta l'intorno della pressione parziale di riferimento PO_2' utilizzato per la linearizzazione della derivata della funzione di saturazione.

Una volta ottenuta la distribuzione di PO_2 nel lume, il trasferimento di massa verso la parete può essere quantificato tramite il numero di Sherwood:

$$Sh = \frac{ka}{D} \tag{2.39}$$

dove k è il coefficiente di trasferimento di massa, a il diametro caratteristico del vaso e D la diffusività efficace. Il coefficiente k viene ricavato dal gradiente normale alla parete:

$$k = \frac{-D \left. \frac{\partial PO_2}{\partial n} \right|_{\text{wall}}}{PO_{2,\text{inlet}} - PO_{2,\text{wall}}}. \tag{2.40}$$

Valori elevati di Sherwood indicano un trasferimento efficiente di ossigeno verso la parete, mentre valori più bassi indicano una minore disponibilità locale.

Come condizioni al contorno, in ingresso è stata imposta una pressione parziale pari a:

$$PO_{2,\text{inlet}} = 85\text{mmHg}. \tag{2.41}$$

In uscita è stata applicata una condizione di gradiente nullo lungo la direzione normale alla sezione, mentre alla parete è stato imposto un valore costante pari a:

$$PO_{2,\text{wall}} = 60\text{mmHg}. \tag{2.42}$$

Il gradiente normale di PO_2 alla parete è stato poi utilizzato per valutare il flusso diffusivo locale e il numero di Sherwood.

2.6.3 Trasporto dell'ossigeno nella parete arteriosa

I modelli con pressione parziale imposta alla parete permettono di analizzare il trasferimento di ossigeno nel lume in modo semplice e con un costo computazionale ridotto. Tuttavia, non descrivono direttamente la distribuzione di ossigeno all'interno della parete. La PO_2 murale, infatti, non è un valore noto a priori, ma dipende dal bilancio tra trasporto dal sangue, diffusione nel tessuto e consumo metabolico locale.

Per rappresentare questi aspetti si può includere esplicitamente la parete arteriosa nel modello di trasporto, seguendo l'impostazione dei modelli accoppiati sangue–parete [36]. Nel dominio ematico, la pressione parziale di ossigeno nel sangue, indicata con $PO_{2,b}$, è descritta da un'equazione di convezione–diffusione:

$$\frac{\partial PO_{2,b}}{\partial t} + u_j \frac{\partial PO_{2,b}}{\partial x_j} = D \nabla^2 PO_{2,b} \tag{2.43}$$

dove u_j rappresenta le componenti del campo di velocità del sangue e D la diffusività dell'ossigeno nel plasma.

Nella parete arteriosa, la pressione parziale di ossigeno, indicata con $PO_{2,w}$, è invece descritta da un'equazione diffusiva con termine di consumo:

$$\frac{\partial PO_{2,w}}{\partial t} = D_w \nabla^2 PO_{2,w} - \frac{Q}{k} \tag{2.44}$$

dove D_w è la diffusività dell'ossigeno nel tessuto arterioso, Q il consumo volumetrico di ossigeno e k la solubilità dell'ossigeno.

All'interfaccia lume–parete si impone la continuità della pressione parziale:

$$PO_{2,b} = PO_{2,w} = PO_{2,s} \tag{2.45}$$

e la continuità del flusso diffusivo:

$$D\frac{\partial PO_{2,b}}{\partial n} = D_w \frac{\partial PO_{2,w}}{\partial n} \tag{2.46}$$

dove n indica la direzione normale alla superficie e il pedice s si riferisce all'interfaccia lume–parete. In questo modo il trasferimento di ossigeno tra sangue e parete viene descritto imponendo coerenza sia sulla variabile trasportata sia sul flusso.

Alla superficie esterna della parete, cioè sul lato avventiziale, può essere infine imposto un valore costante di pressione parziale di ossigeno, rappresentativo dell'apporto fornito dai *vasa vasorum* [36].

Come nella sezione precedente, il flusso di ossigeno alla parete è stato quantificato mediante il numero di Sherwood. Tutti i parametri adottati nel modello accoppiato sangue–parete per il trasporto di ossigeno sono riassunti in Tabella 2.3.

Tabella 2.3: Parametri utilizzati nel modello accoppiato sangue–parete per il trasporto di ossigeno.

Quantità	**Valore**	**Unità**
$PO_{2,\text{inlet}}$	90	mmHg
$PO_{2,\text{outlet}}$	0	mmHg
$PO_{2,\text{avventizia}}$	70	mmHg
Diffusività sangue (D)	2.1×10^{-9}	$\text{m}^2\ \text{s}^{-1}$
Diffusività parete (D_w)	1.8×10^{-9}	$\text{m}^2\ \text{s}^{-1}$
Consumo parete (Q)	5.3×10^{-5}	$\text{m}^3\text{O}_2\ \text{m}^{-3}\ \text{s}^{-1}$
Solubilità O_2 (α)	3.3×10^{-5}	$\text{m}^3\text{O}_2\ \text{m}^{-3}\ \text{mmHg}^{-1}$
Termine sorgente parete (Q/α)	1.61	$\text{mmHg}\ \text{s}^{-1}$

2.7 Ruolo del sistema NO–ROS nella parete arteriosa

Tra i meccanismi chimico–biologici coinvolti nelle prime fasi dell'aterogenesi, un ruolo importante è svolto dall'equilibrio redox locale. In particolare, l'interazione tra ossido nitrico (NO) e specie reattive dell'ossigeno (ROS) contribuisce a regolare il tono vascolare, lo stato ossidativo della parete e la risposta infiammatoria dell'endotelio [37, 32].

In condizioni fisiologiche, il NO prodotto dall'endotelio ha un effetto protettivo sulla parete vascolare: favorisce la vasodilatazione, limita l'aggregazione piastrinica e modula la risposta infiammatoria locale [38]. Per questo motivo, la sua biodisponibilità rappresenta un indicatore dello stato funzionale dell'endotelio. Al contrario, un aumento locale delle ROS è associato a stress ossidativo e disfunzione endoteliale, condizioni che possono favorire la progressione della lesione aterosclerotica [37, 32].

Le ROS comprendono diverse molecole reattive derivate dal metabolismo dell'ossigeno, tra cui superossido $O_2^{\bullet -}$, radicale idrossilico $HO^{\bullet}$ e perossido di idrogeno H_2O_2 [37]. Nel contesto vascolare esse hanno un ruolo duplice: a basse concentrazioni partecipano alla segnalazione cellulare, mentre in eccesso promuovono processi ossidativi coinvolti nella modificazione delle lipoproteine e nell'attivazione infiammatoria della parete.

Un meccanismo particolarmente rilevante è la reazione tra NO e superossido, che porta alla formazione di perossinitrito, $ONOO^-$, una specie reattiva dell'azoto:

$$NO + O_2^{\bullet -} \longrightarrow ONOO^-. \tag{2.47}$$

Questa reazione riduce la biodisponibilità del NO e contribuisce alla disfunzione endoteliale, sottraendo NO ai suoi normali effetti vasoprotettivi [37].

Il sistema NO–ROS viene descritto mediante un modello diffusivo–reattivo nella parete arteriosa, in accordo con formulazioni già adottate in letteratura [39]. Le due specie sono espresse in termini di concentrazione molare e indicate rispettivamente con C_{NO} e C_{ROS}.

Assumendo diffusione isotropa nel tessuto, coefficienti diffusivi costanti e cinetiche reattive locali, il bilancio del NO nella parete è scritto come:

$$D_{\mathrm{NO}} \frac{\partial^2 C_{\mathrm{NO}}}{\partial x^2} - \lambda_{\mathrm{NO}} C_{\mathrm{NO}} - k_{\mathrm{RNS}} C_{\mathrm{NO}} C_{\mathrm{ROS}} + P_{\mathrm{NO}}^b = 0. \tag{2.48}$$

Il bilancio delle ROS è invece dato da:

$$D_{\mathrm{ROS}}\frac{\partial^2 C_{\mathrm{ROS}}}{\partial x^2} - k_{\mathrm{RNS}}C_{\mathrm{NO}}C_{\mathrm{ROS}} - k_{\mathrm{ox}}C_{\mathrm{ROS}}C_{\mathrm{LDL}} + P^b_{\mathrm{ROS}} = 0. \tag{2.49}$$

Le concentrazioni endoteliali vengono ricavate dal bilancio locale delle due specie. Per le ROS, in assenza di una legge specifica dipendente dallo shear stress, si assume al bordo endoteliale il valore basale:

$$C_{\mathrm{ROS},e} = C^b_{\mathrm{ROS}}. \tag{2.50}$$

Il valore basale delle ROS viene scelto imponendo coerenza con il bilancio del NO in condizioni fisiologiche. In condizioni basali si assume:

$$P^b_{\mathrm{NO}} = \left(\lambda_{\mathrm{NO}} + k_{\mathrm{RNS}}C^b_{\mathrm{ROS}}\right) C^b_{\mathrm{NO}}. \tag{2.51}$$

Da questa relazione si ottiene:

$$C^b_{\mathrm{ROS}} = \frac{\dfrac{P^b_{\mathrm{NO}}}{C^b_{\mathrm{NO}}} - \lambda_{\mathrm{NO}}}{k_{\mathrm{RNS}}}. \tag{2.52}$$

La produzione basale di ROS viene quindi calcolata in modo coerente con lo stesso equilibrio:

$$P^b_{\mathrm{ROS}} = k_{\mathrm{RNS}}C^b_{\mathrm{ROS}}C^b_{\mathrm{NO}}. \tag{2.53}$$

La concentrazione endoteliale di NO è invece legata alla produzione locale $P_{\mathrm{NO},e}$. Una volta definita tale produzione, si assume un equilibrio locale tra produzione e consumo:

$$C_{\mathrm{NO},e} = \frac{P_{\mathrm{NO},e}}{\lambda_{\mathrm{NO}} + k_{\mathrm{RNS}}C_{\mathrm{ROS},e}}. \tag{2.54}$$

In questo modo, il valore imposto al bordo luminale non è una costante arbitraria, ma dipende dal valore locale di wall shear stress e dalla disponibilità di ossigeno.

Una prima formulazione della produzione endoteliale di NO può essere descritta mediante una dipendenza shear–dipendente di tipo lineare nell'intorno del valore fisiologico di riferimento τ_b:

$$P_{\mathrm{NO},e} = P^b_{\mathrm{NO}} + R^{\max}_{\mathrm{NO}}\frac{PO_2}{PO_2 + K_m}(\tau - \tau_b), \tag{2.55}$$

dove $R^{\max}_{\mathrm{NO}}$ rappresenta la massima velocità di produzione, PO_2 la pressione parziale locale di ossigeno, K_m la costante di Michaelis–Menten e τ la *wall shear stress*.

La produzione endoteliale di NO aumenta in maniera lineare solo in un intorno del valore basale τ_b, come mostrato in Figura 2.9.

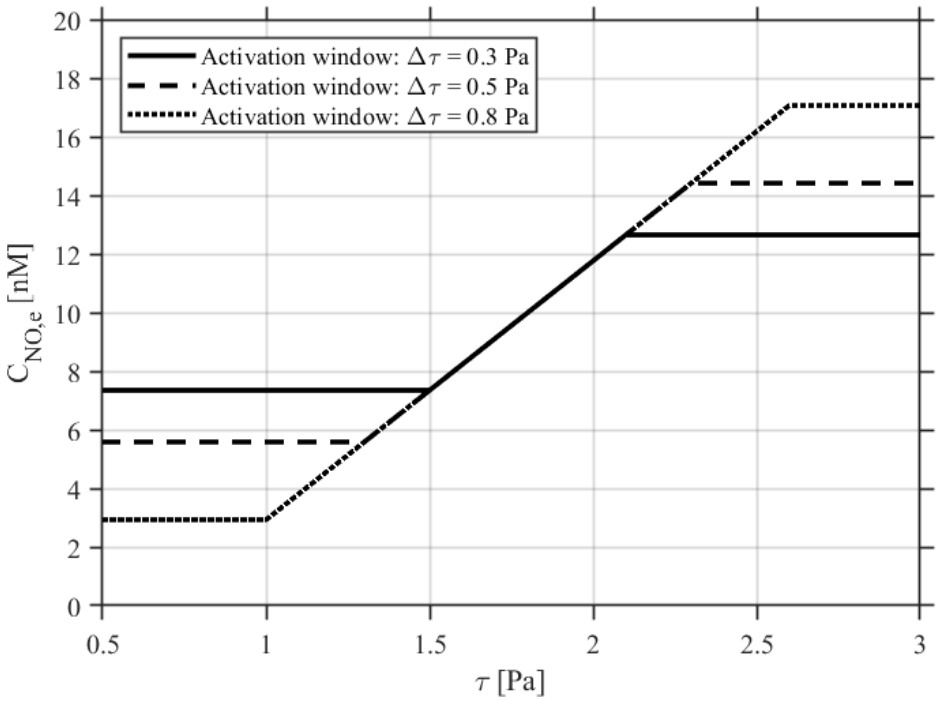


Figura 2.9: Produzione endoteliale di NO in funzione della *wall shear stress* τ per diversi valori della finestra di attivazione $\Delta\tau$. La produzione aumenta linearmente nell'intorno del valore basale τ_b e raggiunge un plateau costante al di fuori dell'intervallo di attivazione.

Nel complesso, il modello così formulato consente di descrivere in modo coerente l'equilibrio redox della parete arteriosa, evidenziando il ruolo centrale delle ROS nel modulare la biodisponibilità del NO e nel promuovere processi ossidativi coinvolti nelle fasi iniziali dell'aterogenesi.

2.7.1 Legge saturante NO–WSS

Per descrivere meglio il legame tra stimolo emodinamico e produzione endoteliale di NO, si introduce una legge saturante in funzione della *wall shear stress*. L'idea è che la risposta dell'eNOS allo shear stress non cresca indefinitamente in modo lineare: a bassi valori di shear la produzione di NO è ridotta, mentre per valori più elevati tende a raggiungere un plateau [40, 41].

Una legge lineare può quindi descrivere solo un intervallo ristretto attorno al valore fisiologico di riferimento. Una funzione sigmoide, invece, permette di rappresentare sia la riduzione della produzione in condizioni di low shear stress, sia la saturazione a valori elevati di shear.

La produzione endoteliale di NO viene scritta come:

$$P_{\mathrm{NO},e} = P^{b}_{\mathrm{NO}} + R^{\max}_{\mathrm{NO}}\, f(O_2)\, g(\tau). \tag{2.56}$$

In questa relazione P^{b}_{NO} è la produzione basale, $R^{\max}_{\mathrm{NO}}$ è la massima velocità di produzione, $f(O_2)$ tiene conto della disponibilità locale di ossigeno e $g(\tau)$ descrive la dipendenza dalla *wall shear stress*.

La dipendenza dall'ossigeno è descritta con una legge di tipo Michaelis–Menten:

$$f(O_2) = \frac{PO_2}{K_m + PO_2}. \tag{2.57}$$

La dipendenza dallo shear stress è invece introdotta tramite una funzione sigmoide:

$$g(\tau) = \Delta - \frac{\Delta + \gamma}{1 + \left(\dfrac{\tau}{\tau_{50}}\right)^{n}}. \tag{2.58}$$

Il parametro γ controlla l'ampiezza della risposta, τ_{50} fissa la posizione della transizione lungo l'asse della WSS, mentre n regola quanto rapidamente avviene il passaggio tra basso e alto shear.

La funzione è costruita in modo che, al valore fisiologico di riferimento τ_b, il contributo shear–dipendente sia nullo:

$$g(\tau_b) = 0. \tag{2.59}$$

Da questa condizione si ricava:

$$\Delta = \frac{\gamma}{\left(\dfrac{\tau_b}{\tau_{50}}\right)^{n}}. \tag{2.60}$$

Se la combinazione dei termini porta a una produzione negativa, il valore viene limitato a zero, così da evitare risultati non fisici:

$$P_{\mathrm{NO},e} = \max\left[P^{b}_{\mathrm{NO}} + R^{\max}_{\mathrm{NO}}\, f(O_2)\, g(\tau), 0\right]. \tag{2.61}$$

Gli effetti dei parametri del modello sigmoide sulla produzione di NO in funzione della *wall shear stress* sono illustrati in Figura 2.10. In particolare, il parametro γ modifica l'ampiezza della risposta a bassi valori di shear, τ_{50} sposta la transizione della sigmoide lungo l'asse della WSS, mentre l'esponente n regola la rapidità con cui avviene il passaggio tra il regime a basso shear e quello a shear elevato.

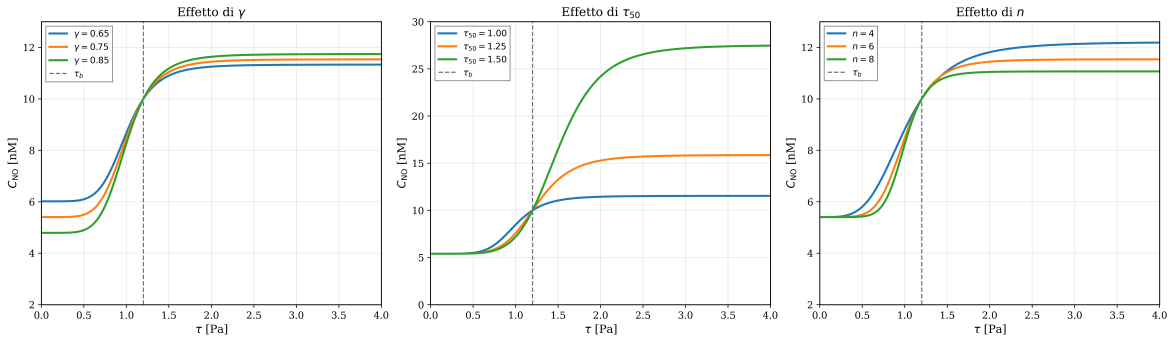


Figura 2.10: Analisi di sensibilità del modello sigmoide NO–WSS. Il parametro γ controlla l'ampiezza della risposta, modificando soprattutto la produzione di NO in condizioni di basso shear stress; il parametro τ_{50} determina la posizione della sigmoide lungo l'asse di wall shear stress; l'esponente n regola la ripidità della transizione tra i regimi a basso e alto shear.

2.7.2 Equazioni del modello completo

Il modello completo descrive l'accoppiamento tra trasporto lipidico, stato redox locale e formazione di LDL ossidate. Le LDL native, indicate con C_{LDL}, vengono trasportate nella parete arteriosa e possono essere ossidate in presenza di ROS. Le LDL ossidate, indicate con C_{OX}, sono quindi considerate una specie generata localmente nella parete e rimossa dall'azione dei macrofagi. Il sistema accoppia così ingresso e trasporto delle LDL, reazioni ossidative e rimozione biologica.

Il bilancio delle LDL native è scritto come:

$$\nabla \cdot (D_{\mathrm{LDL}} \nabla C_{\mathrm{LDL}}) - \mathbf{u}_{\mathrm{LDL}} \cdot \nabla C_{\mathrm{LDL}} - K_{\mathrm{ox}}\, C_{\mathrm{ROS}}\, C_{\mathrm{LDL}} - K_{\mathrm{gen}}\, C_{\mathrm{LDL}} = 0. \tag{2.62}$$

Il termine diffusivo descrive la distribuzione delle LDL nella parete, mentre il termine advettivo rappresenta il trasporto efficace associato alla filtrazione. Il termine $K_{\mathrm{ox}}\, C_{\mathrm{ROS}}\, C_{\mathrm{LDL}}$ rappresenta il consumo di LDL native dovuto all'ossidazione mediata dalle ROS, mentre $K_{\mathrm{gen}}\, C_{\mathrm{LDL}}$ descrive una rimozione efficace della forma nativa.

La concentrazione di oxLDL soddisfa il bilancio:

$$\nabla \cdot (D_{\mathrm{OX}} \nabla C_{\mathrm{OX}}) + K_{\mathrm{ox}}\, C_{\mathrm{ROS}}\, C_{\mathrm{LDL}} - K_{\mathrm{mac}}\, C_{\mathrm{OX}} = 0. \tag{2.63}$$

In questa equazione, il primo termine descrive la diffusione delle oxLDL nella parete. Il termine positivo rappresenta la produzione di oxLDL dovuta all'ossidazione delle LDL native:

$$R_{\mathrm{ox}} = K_{\mathrm{ox}}\, C_{\mathrm{ROS}}\, C_{\mathrm{LDL}}. \tag{2.64}$$

Questa cinetica dipende sia dalla concentrazione di LDL native sia dalla concentrazione di ROS. Lo stesso termine compare con segno negativo nel bilancio delle LDL,

perché consuma la forma nativa, e con segno positivo nel bilancio delle oxLDL, perché ne rappresenta la formazione. Inoltre, compare anche nel bilancio delle ROS come termine di consumo, rendendo esplicito l'accoppiamento tra modulo lipidico e modulo redox.

La rimozione macrofagica compare nell'equazione delle oxLDL attraverso il termine:

$$-K_{\mathrm{mac}}\, C_{\mathrm{OX}}. \tag{2.65}$$

Il corrispondente termine di rimozione può essere scritto come:

$$R_{\mathrm{mac}} = K_{\mathrm{mac}}\, C_{\mathrm{OX}}. \tag{2.66}$$

Il coefficiente K_{mac} rappresenta una costante efficace di rimozione macrofagica. Esso può essere espresso come prodotto tra una costante di internalizzazione delle oxLDL da parte dei macrofagi e la concentrazione volumetrica di macrofagi nella parete:

$$K_{\mathrm{mac}} = k_{\mathrm{mac}}\, C_{\mathrm{mac}}. \tag{2.67}$$

Nel modello si assume una concentrazione volumetrica macroscopicamente costante di macrofagi:

$$C_{\mathrm{mac}} = 0.05\,\mathrm{kg\,m^{-3}}. \tag{2.68}$$

La costante k_{mac} descrive la capacità di internalizzazione delle oxLDL da parte dei macrofagi, mentre C_{mac} rappresenta la quantità di macrofagi presente per unità di volume di parete. Di conseguenza, K_{mac} ha dimensioni di una frequenza di rimozione:

$$[K_{\mathrm{mac}}] = \mathrm{s}^{-1}. \tag{2.69}$$

Valori maggiori di K_{mac} indicano una rimozione più rapida delle oxLDL, mentre valori minori corrispondono a una rimozione più debole e quindi a un maggiore accumulo locale della specie ossidata.

Il bilancio del NO è dato da:

$$\nabla \cdot (D_{\mathrm{NO}} \nabla C_{\mathrm{NO}}) - \lambda_{\mathrm{NO}}\, C_{\mathrm{NO}} - k_{\mathrm{RNS}}\, C_{\mathrm{NO}}\, C_{\mathrm{ROS}} + P_{\mathrm{NO}} = 0. \tag{2.70}$$

Il NO diffonde nella parete, decade con una cinetica lineare e viene consumato nella reazione con le ROS. Il termine P_{NO} rappresenta la produzione locale di ossido nitrico.

Il bilancio delle ROS è scritto come:

$$\nabla \cdot (D_{\mathrm{ROS}} \nabla C_{\mathrm{ROS}}) - k_{\mathrm{RNS}}\, C_{\mathrm{NO}}\, C_{\mathrm{ROS}} - K_{\mathrm{ox}}\, C_{\mathrm{ROS}}\, C_{\mathrm{LDL}} + P_{\mathrm{ROS}} = 0. \tag{2.71}$$

Le ROS vengono consumate sia nella reazione con il NO sia durante l'ossidazione delle LDL native. Il termine P_{ROS} rappresenta invece la produzione locale di specie reattive dell'ossigeno.

Nel complesso, il modello descrive una catena accoppiata: le LDL native vengono trasportate nella parete, le ROS ne promuovono l'ossidazione, le oxLDL si formano localmente e vengono rimosse dai macrofagi. Il potenziale aterogeno emerge quindi dall'equilibrio tra accumulo di LDL, stato ossidativo locale, produzione di oxLDL e rimozione macrofagica [42, 4].

Capitolo 3

Metodo numerico

Nei capitoli precedenti è stata presentata la formulazione matematica del modello, descrivendo le equazioni governanti il trasporto delle specie scalari sia nel lume sia all'interno della parete. In letteratura, un approccio frequentemente adottato per affrontare questo tipo di problemi consiste nel discretizzare esplicitamente anche la parete mediante una mesh tridimensionale, ottenuta per estrusione della geometria del lume e accoppiata alla mesh fluida attraverso l'ambiente *ANSYS Workbench*, come illustrato in Figura 3.1.

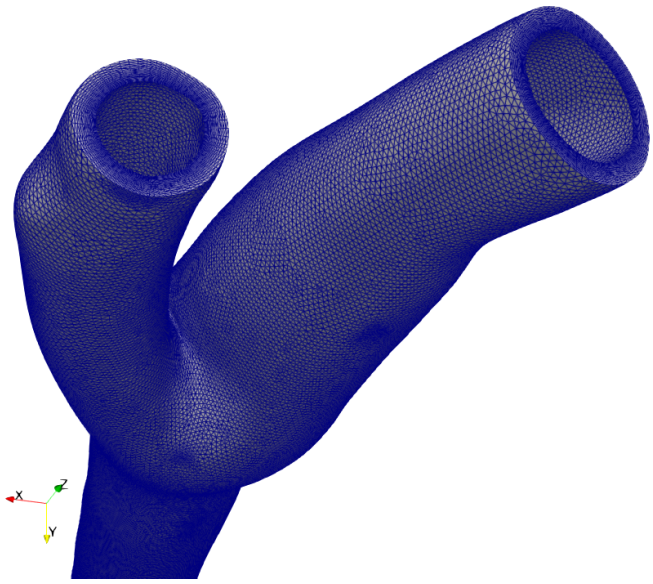


Figura 3.1: Esempio di discretizzazione tridimensionale della parete ottenuta per estrusione della geometria del lume.

Questi modelli, però, richiedono un costo numerico maggiore. La parete deve essere discretizzata insieme al lume, quindi il numero di elementi aumenta e la simulazione diventa più pesante. Inoltre, i due domini non possono essere trattati separatamente:

il trasporto nella parete dipende da ciò che avviene nel fluido e, allo stesso tempo, influenza il flusso attraverso l'interfaccia. Per questo motivo serve un accoppiamento più complesso tra lume e parete.

Per ovviare a questi problemi, in questo lavoro è stata adottata una strategia di accoppiamento di tipo monodimensionale. In particolare, la parete non è discretizzata mediante una mesh tridimensionale, ma rappresentata attraverso un modello monodimensionale associato localmente a ciascuna faccia della superficie del lume.

La parete è stata quindi modellata come un sottodominio monodimensionale (1D) lungo la direzione normale alla superficie. Tale dominio è discretizzato lungo lo spessore H mediante $N = 50$ nodi, con un raffinamento maggiore nella regione prossima al lume, come illustrato in Figura 3.2. In questa formulazione, a ogni faccia di parete del dominio fluido è associato un problema locale monodimensionale indipendente, che descrive il comportamento diffusivo–reattivo all'interno dello spessore murale.

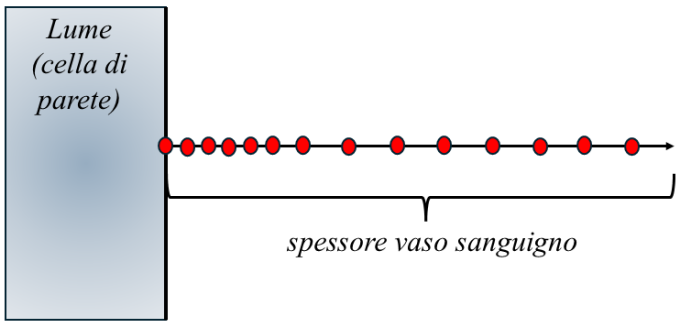


Figura 3.2: Schema del modello monodimensionale della parete associato a ciascuna faccia del dominio fluido. Il rettangolo azzurro rappresenta un elemento della parete, mentre i nodi rossi sono lungo la normale alla parete e rappresentano i nodi del dominio monodimensionsonale.

3.1 Approccio *free–wall*

3.1.1 Trasporto di LDL

Nell'approccio *free–wall* la parete non viene discretizzata come dominio separato, ma il suo effetto viene introdotto direttamente tramite una condizione di flusso sulla superficie luminale. Il trasporto delle LDL è quindi risolto solo nel fluido, mentre il passaggio verso la parete è rappresentato mediante un termine proporzionale alla concentrazione locale.

La condizione imposta è data da:

$$V_w C_w = D \left. \frac{\partial C}{\partial n} \right|_{\text{parete}}, \tag{3.1}$$

dove V_w è la velocità di filtrazione transmurale, C_w la concentrazione alla parete e D il coefficiente diffusivo delle LDL. In *ANSYS Fluent*, tuttavia, il coefficiente diffusivo della UDS entra nella forma $\Gamma = \rho D$, per cui il flusso diffusivo è scritto internamente come:

$$-\Gamma \nabla C \cdot \mathbf{n} = -\rho D \nabla C \cdot \mathbf{n}. \tag{3.2}$$

Per mantenere coerente la formulazione con la definizione usata da Fluent, la condizione è stata implementata tramite una `DEFINE_UDS_FLUX` imponendo il flusso come:

$$\texttt{flux} = -\rho V_w C_w. \tag{3.3}$$

3.1.2 Numero di Sherwood

Per il calcolo del numero di Sherwood è stata utilizzata una UDF *on demand*, eseguita dopo la convergenza della simulazione, quando il campo di concentrazione della UDS è già disponibile.

La procedura viene applicata localmente sulla superficie di parete. Per ogni elemento della parete si considera l'elemento fluido adiacente e si calcola la normale locale. Il gradiente della concentrazione fornito da Fluent viene quindi proiettato lungo questa direzione, in modo da ottenere il gradiente normale alla parete:

$$\frac{\partial C}{\partial n} = \nabla C \cdot \mathbf{n}. \tag{3.4}$$

Da questo gradiente si calcola il flusso diffusivo:

$$j_{\text{diff}} = -D\frac{\partial C}{\partial n}. \tag{3.5}$$

Questo viene quindi rapportato alla differenza tra la concentrazione di riferimento nel bulk e quella alla parete, ottenendo il coefficiente locale di trasferimento di massa:

$$k_m = \frac{j_{\text{diff}}}{C_{\text{bulk}} - C_w}. \tag{3.6}$$

Il numero di Sherwood è infine ricavato come:

$$Sh = \frac{k_m L}{D}, \tag{3.7}$$

dove L è la lunghezza caratteristica del problema, assunta pari al diametro di riferimento del vaso.

Durante la simulazione vengono salvate le grandezze necessarie al post-processing. Una volta ottenuto il campo finale di concentrazione, la UDF calcola il gradiente normale, il flusso diffusivo, il coefficiente k_m e il numero di Sherwood, salvandoli nelle UDM di Fluent. In questo modo la distribuzione locale di Sh può essere visualizzata direttamente sulla parete.

3.2 Approccio *fluid–wall*

Nell'approccio *fluid–wall* la parete non viene trattata solo come una condizione al contorno del lume, ma entra nel modello attraverso problemi monodimensionali locali. A ogni faccia della superficie luminale viene associato un dominio 1D orientato lungo la normale alla parete. In questo modo si mantiene l'accoppiamento tra sangue e tessuto, evitando però di costruire una mesh tridimensionale dello spessore murale.

Dal punto di vista numerico, Fluent risolve il trasporto nel lume e fornisce, per ogni faccia di parete, il valore della concentrazione nell'elemento fluido adiacente. Il modello 1D usa questo valore per aggiornare il profilo nella parete e restituisce la concentrazione al nodo endoteliale. Il flusso calcolato all'interfaccia viene quindi usato sia come perdita per il dominio fluido sia come ingresso per il dominio murale. L'accoppiamento viene aggiornato iterativamente durante la soluzione.

3.2.1 Modello con velocità di filtrazione V_w

Nel modello più semplice, il passaggio delle LDL attraverso l'interfaccia viene descritto tramite una velocità efficace di filtrazione V_w. Il flusso locale è scritto come:

$$J = V_w \left(C_l - C_p \right), \tag{3.8}$$

dove C_l è la concentrazione letta nel lume e C_p è la concentrazione al primo nodo della parete. Se C_l è maggiore di C_p, il flusso è diretto verso la parete; se invece la concentrazione murale cresce, il trasferimento si riduce.

La UDF calcola questo valore faccia per faccia. Per il dominio fluido, tenendo conto della convenzione di segno di Fluent, il flusso imposto alla UDS delle LDL viene scritto come:

$$\texttt{flux} = -\rho V_w \left(C_l - C_p \right). \tag{3.9}$$

Il segno meno indica che il flusso rappresenta una perdita di LDL dal lume. Lo stesso valore, con verso opposto, viene usato come condizione di ingresso del modello 1D. In pratica, la faccia del lume e il corrispondente dominio murale si scambiano solo le grandezze necessarie: concentrazione luminale, concentrazione al primo nodo e flusso di interfaccia.

3.2.2 Modello Kedem–Katchalsky

Nel modello di Kedem–Katchalsky l'accoppiamento numerico resta lo stesso, ma cambia il modo in cui viene calcolato il flusso attraverso l'endotelio. In questo caso non si usa una sola velocità efficace, ma si distinguono il flusso volumetrico del plasma e il flusso della specie trasportata.

Per ogni faccia, la UDF calcola prima il flusso volumetrico transendoteliale:

$$J_v^{\text{end}} = L_p^{\text{end}} \Delta p^{\text{end}}, \tag{3.10}$$

assumendo il salto di pressione transendoteliale costante. Successivamente viene valutato il flusso di LDL:

$$J_s^{\text{end}} = P^{\text{end}} \left(C_l - C_w \right) + \left(1 - \sigma_f \right) J_v^{\text{end}} C_l. \tag{3.11}$$

Il primo termine descrive il contributo diffusivo attraverso l'endotelio, mentre il secondo rappresenta il contributo convettivo legato alla filtrazione del plasma. Nel termine convettivo è stata usata la concentrazione luminale locale.

Il flusso J_s^{end} viene imposto a Fluent come flusso della UDS delle LDL e, nello stesso tempo, viene applicato come ingresso al dominio 1D. Con la convenzione di segno adottata nel codice, il termine imposto al lato fluido è:

$$\texttt{flux} = -\rho J_s^{\mathrm{end}}. \tag{3.12}$$

Nel dominio murale il bordo interno, posto in $x = 0$, riceve quindi il flusso proveniente dall'endotelio. La condizione al contorno è scritta come bilancio tra diffusione nella parete, trasporto convettivo intramurale e flusso transendoteliale:

$$-D_{\mathrm{LDL}} \left.\frac{\partial C_{\mathrm{LDL}}}{\partial x}\right|_{x=0} + K_{\mathrm{lag}} J_v^{\mathrm{end}} C_{\mathrm{LDL}}(0) = J_s^{\mathrm{end}}. \tag{3.13}$$

Il termine con K_{lag} tiene conto del fatto che le LDL non seguono completamente il moto del fluido interstiziale. Al bordo esterno della parete, in $x = H$, viene invece imposto flusso totale nullo:

$$-D_{\mathrm{LDL}} \left.\frac{\partial C_{\mathrm{LDL}}}{\partial x}\right|_{x=H} + K_{\mathrm{lag}} J_v^{\mathrm{end}} C_{\mathrm{LDL}}(H) = 0. \tag{3.14}$$

Questa condizione chiude il dominio 1D e impedisce una perdita netta di LDL dal lato esterno della parete. Rispetto al modello basato su V_w, quindi, la struttura numerica dell'accoppiamento rimane locale, ma il flusso di interfaccia viene costruito in modo più dettagliato.

3.2.3 Calcolo di P_{O_2}

L'ossigeno viene trattato con la stessa logica locale. Per ogni faccia della parete viene risolto un profilo monodimensionale di P_{O_2} lungo lo spessore murale. Il valore letto nel lume viene imposto al primo nodo del dominio 1D, mentre il lato avventiziale viene mantenuto a un valore di riferimento costante:

$$P_{O_2}(0) = P_{O_2}^{\mathrm{lume}}, \tag{3.15}$$

$$P_{O_2}(H) = P_{O_2}^{\mathrm{adv}}. \tag{3.16}$$

All'interno della parete si risolve un problema stazionario di diffusione con consumo su una griglia monodimensionale non uniforme. Una volta ottenuto il profilo, il gradiente al lato luminale viene calcolato dai primi due nodi:

$$\left.\frac{\partial P_{O_2}}{\partial n}\right|_{x=0} \simeq \frac{P_{O_2}(x_1) - P_{O_2}(x_0)}{x_1 - x_0}. \tag{3.17}$$

Da questo valore si ricava il flusso diffusivo verso la parete:

$$J_{O_2} = -D^w_{O_2} \left. \frac{\partial P_{O_2}}{\partial n} \right|_{x=0}. \tag{3.18}$$

Il flusso viene poi restituito a Fluent come condizione al contorno della UDS dell'ossigeno, con il segno coerente con la convenzione del software. In questo modo anche l'ossigeno entra nello stesso schema di scambio locale tra lume e parete: il lume fornisce il valore al contorno, la parete restituisce il flusso.

3.3 Risoluzione numerica del sistema accoppiato nella parete

Il modello biologico nella parete arteriosa è stato risolto localmente lungo la direzione normale alla superficie vascolare. Per ogni faccia di parete del dominio fluido viene costruito un problema monodimensionale nello spessore murale, nel quale sono descritte la diffusione e le reazioni tra le quattro specie considerate: ossido nitrico (NO), specie reattive dell'ossigeno (ROS), LDL e LDL ossidate (oxLDL).

Il dominio murale è stato discretizzato mediante una griglia monodimensionale non uniforme composta da $N = 50$ nodi. La griglia è più fitta nella zona prossima all'interfaccia lume–parete, dove avviene lo scambio con il dominio fluido e dove i gradienti di concentrazione sono generalmente più elevati. Per ciascun nodo i si introduce quindi il vettore delle incognite

$$\mathbf{u}_i = \begin{bmatrix} C_{\mathrm{NO},i} \\ C_{\mathrm{ROS},i} \\ C_{\mathrm{LDL},i} \\ C_{\mathrm{oxLDL},i} \end{bmatrix}, \tag{3.19}$$

mentre il vettore globale lungo lo spessore murale è dato da

$$\mathbf{u} = \begin{bmatrix} \mathbf{u}_1 \\ \mathbf{u}_2 \\ \vdots \\ \mathbf{u}_N \end{bmatrix} \in \mathbb{R}^{4N}. \tag{3.20}$$

Le quattro specie non vengono trattate come problemi indipendenti. Il NO reagisce con i ROS, le LDL vengono ossidate in presenza di ROS e le oxLDL vengono rimosse tramite un termine efficace associato all'azione macrofagica. Di conseguenza, in ogni nodo della parete le equazioni risultano accoppiate attraverso i termini di reazione.

Dopo la discretizzazione spaziale alle differenze finite, in ogni nodo interno si ottiene un residuo non lineare della forma

$$\mathbf{R}_i\left(\mathbf{u}_{i-1}, \mathbf{u}_i, \mathbf{u}_{i+1}\right) = \mathbf{0}, \qquad i = 2, \ldots, N-1. \tag{3.21}$$

La dipendenza dai nodi adiacenti deriva dai termini diffusivi lungo la direzione normale alla parete. Le reazioni, invece, agiscono localmente sul nodo i, ma accoppiano le specie tramite prodotti del tipo $C_{\mathrm{NO}}C_{\mathrm{ROS}}$ e $C_{\mathrm{ROS}}C_{\mathrm{LDL}}$.

Poiché il sistema contiene termini non lineari, la soluzione viene ottenuta tramite una procedura di Newton linearizzato. A ogni iterazione non lineare si calcola una correzione $\Delta\mathbf{u}^{(k)}$ e il profilo viene aggiornato con sotto-rilassamento:

$$\mathbf{u}^{(k+1)} = \mathbf{u}^{(k)} + \alpha\Delta\mathbf{u}^{(k)}. \tag{3.22}$$

Nel codice è stato utilizzato un fattore di sotto-rilassamento $\alpha = 0.01$, introdotto per rendere più stabile l'aggiornamento dei profili, soprattutto nelle zone in cui i termini reattivi sono più intensi.

Linearizzando il sistema attorno alla soluzione corrente, per ciascun nodo si ottiene un sistema lineare per le correzioni:

$$\mathbf{A}_i\Delta\mathbf{u}_{i-1} + \mathbf{B}_i\Delta\mathbf{u}_i + \mathbf{C}_i\Delta\mathbf{u}_{i+1} = \mathbf{r}_i, \tag{3.23}$$

dove $\mathbf{r}_i = -\mathbf{R}_i$ rappresenta il residuo cambiato di segno. I blocchi $\mathbf{A}_i$, $\mathbf{B}_i$ e $\mathbf{C}_i$ sono matrici 4×4: i blocchi laterali raccolgono i contributi dei nodi vicini, dovuti principalmente alla diffusione e, per le LDL, anche al trasporto convettivo nella parete; il blocco centrale contiene i contributi locali di diffusione, advezione e reazione, insieme ai termini derivanti dalla linearizzazione dei prodotti non lineari.

Assemblando idealmente tutti i nodi, il sistema assume una struttura blocco–tridiagonale:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{B}_1 & \mathbf{C}_1 & 0 & \cdots & 0 \\ \mathbf{A}_2 & \mathbf{B}_2 & \mathbf{C}_2 & \cdots & 0 \\ 0 & \mathbf{A}_3 & \mathbf{B}_3 & \ddots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \ddots & \mathbf{C}_{N-1} \\ 0 & 0 & 0 & \mathbf{A}_N & \mathbf{B}_N \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Delta\mathbf{u}_1 \\ \Delta\mathbf{u}_2 \\ \Delta\mathbf{u}_3 \\ \vdots \\ \Delta\mathbf{u}_N \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{r}_1 \\ \mathbf{r}_2 \\ \mathbf{r}_3 \\ \vdots \\ \mathbf{r}_N \end{bmatrix}. \tag{3.24}$$

Questa struttura consente di evitare l'inversione di una matrice globale piena di dimensione $4N \times 4N$. Il sistema viene invece risolto sfruttando direttamente la forma tridiagonale a blocchi mediante un algoritmo *block–TDMA*.

L'algoritmo *block–TDMA* è l'estensione dell'algoritmo di Thomas al caso in cui gli elementi della matrice tridiagonale siano blocchi matriciali. La risoluzione avviene in due fasi. Nella prima, detta *forward sweep*, vengono eliminati progressivamente i contributi provenienti dai nodi precedenti. Definendo i blocchi modificati $\widetilde{\mathbf{C}}_i$ e i termini noti modificati $\widetilde{\mathbf{r}}_i$, si ha inizialmente

$$\widetilde{\mathbf{C}}_1 = \mathbf{B}_1^{-1}\mathbf{C}_1, \qquad \widetilde{\mathbf{r}}_1 = \mathbf{B}_1^{-1}\mathbf{r}_1. \tag{3.25}$$

Per i nodi successivi si procede in forma ricorsiva:

$$\widetilde{\mathbf{B}}_i = \mathbf{B}_i - \mathbf{A}_i\widetilde{\mathbf{C}}_{i-1}, \tag{3.26}$$

$$\widetilde{\mathbf{C}}_i = \widetilde{\mathbf{B}}_i^{-1}\mathbf{C}_i, \qquad \widetilde{\mathbf{r}}_i = \widetilde{\mathbf{B}}_i^{-1}\left(\mathbf{r}_i - \mathbf{A}_i\widetilde{\mathbf{r}}_{i-1}\right). \tag{3.27}$$

Terminata l'eliminazione in avanti, la soluzione viene ricostruita tramite *back substitution*. L'ultima correzione è data da

$$\Delta\mathbf{u}_N = \widetilde{\mathbf{r}}_N, \tag{3.28}$$

mentre per i nodi precedenti si procede a ritroso:

$$\Delta\mathbf{u}_i = \widetilde{\mathbf{r}}_i - \widetilde{\mathbf{C}}_i\Delta\mathbf{u}_{i+1}, \qquad i = N-1, \ldots, 1. \tag{3.29}$$

Le condizioni al contorno vengono inserite modificando direttamente i blocchi del primo e dell'ultimo nodo. Al lato luminale, posto in $x = 0$, NO e ROS vengono imposti come valori di Dirichlet. Per il NO viene utilizzato il valore endoteliale calcolato localmente, dipendente dalla produzione endoteliale e dalla disponibilità di ossigeno:

$$C_{\mathrm{NO}}(0) = C_{\mathrm{NO}}^{\mathrm{end}}. \tag{3.30}$$

Per i ROS viene invece imposto il valore basale adottato nel modello:

$$C_{\mathrm{ROS}}(0) = C_{\mathrm{ROS}}^{b}. \tag{3.31}$$

Per le LDL, al nodo luminale viene applicata una condizione di flusso. Nel modello basato su V_w, il bilancio al primo nodo è scritto come

$$-D_{\mathrm{LDL}}\left.\frac{\partial C_{\mathrm{LDL}}}{\partial x}\right|_{x=0} + U_{\mathrm{LDL}}C_{\mathrm{LDL}}(0) = V_w\left(C_l - C_{\mathrm{LDL}}(0)\right), \tag{3.32}$$

dove C_l è la concentrazione luminale delle LDL e

$$U_{\mathrm{LDL}} = K_{\mathrm{lag}} V_w \tag{3.33}$$

è la velocità convettiva efficace nella parete. Nel caso in cui venga usata la formulazione di Kedem–Katchalsky, la stessa condizione viene scritta sostituendo al termine $V_w(C_l - C_{\mathrm{LDL}}(0))$ il flusso transendoteliale J_s^{end}:

$$-D_{\mathrm{LDL}} \left.\frac{\partial C_{\mathrm{LDL}}}{\partial x}\right|_{x=0} + K_{\mathrm{lag}} J_v^{\mathrm{end}} C_{\mathrm{LDL}}(0) = J_s^{\mathrm{end}}. \tag{3.34}$$

Le oxLDL, invece, non vengono imposte dal lume, ma sono generate all'interno della parete dall'ossidazione delle LDL. Per questo motivo al lato luminale viene adottata una condizione di gradiente nullo:

$$\left.\frac{\partial C_{\mathrm{oxLDL}}}{\partial x}\right|_{x=0} = 0. \tag{3.35}$$

Al lato avventiziale, posto in $x = H$, vengono imposte condizioni di chiusura. Per NO, ROS e oxLDL si assume gradiente nullo:

$$\left.\frac{\partial C_{\mathrm{NO}}}{\partial x}\right|_{x=H} = 0, \qquad \left.\frac{\partial C_{\mathrm{ROS}}}{\partial x}\right|_{x=H} = 0, \qquad \left.\frac{\partial C_{\mathrm{oxLDL}}}{\partial x}\right|_{x=H} = 0. \tag{3.36}$$

Per le LDL viene invece imposto flusso totale nullo. Nel caso basato su V_w la condizione assume la forma

$$-D_{\mathrm{LDL}} \left.\frac{\partial C_{\mathrm{LDL}}}{\partial x}\right|_{x=H} + U_{\mathrm{LDL}} C_{\mathrm{LDL}}(H) = 0, \tag{3.37}$$

mentre nel caso Kedem–Katchalsky diventa

$$-D_{\mathrm{LDL}} \left.\frac{\partial C_{\mathrm{LDL}}}{\partial x}\right|_{x=H} + K_{\mathrm{lag}} J_v^{\mathrm{end}} C_{\mathrm{LDL}}(H) = 0. \tag{3.38}$$

Questa condizione evita una perdita netta di LDL dal bordo esterno del dominio murale.

Dal punto di vista implementativo, la procedura viene eseguita all'interno di una UDF durante la simulazione CFD. A ogni iterazione Fluent aggiorna il campo luminale; la UDF legge, per ogni faccia di parete, la WSS locale, la concentrazione luminale delle LDL e i profili murali salvati nelle UDM. Viene quindi risolto prima il profilo di ossigeno nella parete, usato per aggiornare la produzione locale di NO, e successivamente il sistema accoppiato NO–ROS–LDL–oxLDL. I nuovi valori vengono salvati nelle memorie utente di Fluent, così da essere riutilizzati all'iterazione successiva e da poter essere esportati nel post-processing.

Capitolo 4

Risultati

In questa sezione si analizzano i risultati ottenuti dalle simulazioni stazionarie andando a vedere l'influenza dei vari parametri nel modello. Prima di analizzare nel dettaglio la distribuzione delle specie scalari, in figura 4.1 sono riportate le mappe di WSS e dello scheletro topologico del WSS.

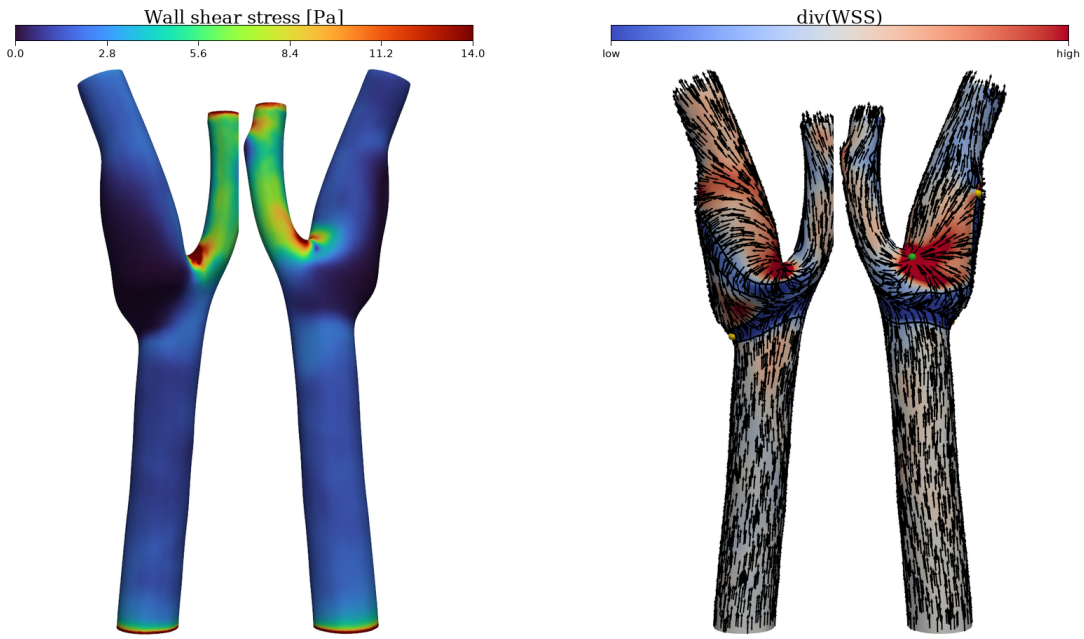


Figura 4.1: Distribuzione del wall shear stress (a sinistra) e mappa topologica del campo di WSS sulla superficie della biforcazione carotidea (a destra).

Come analisi preliminare queste mappe sono utili in quanto permettono di individuare le regioni in cui è più probabile la presenza di flusso disturbato, insieme alle zone di contrazione ed espansione del campo di moto in prossimità della parete.

4.1 Risultati del modello free-wall

4.1.1 Caso con V_w costante

In questa sezione vengono analizzate le distribuzioni della concentrazione di LDL alla parete e del numero di Sherwood ottenute mediante il modello free-wall nel caso con permeabilità endoteliale costante. I risultati sono riportati in Figura 4.2, nella quale ciascuna grandezza è rappresentata attraverso le viste anteriore e posteriore della biforcazione carotidea.

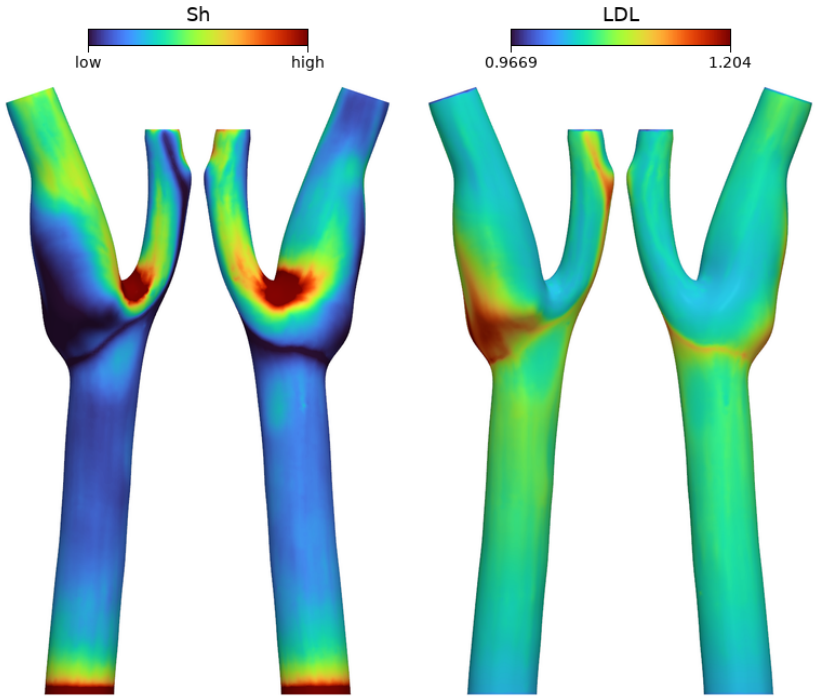


Figura 4.2: Risultati del modello free-wall nel caso con V_w costante. A sinistra è riportata la distribuzione del numero di Sherwood, mentre a destra è mostrata la distribuzione della concentrazione normalizzata di LDL alla parete, C_w/C_0. Per ciascuna grandezza sono rappresentate la vista posteriore e la vista anteriore della biforcazione carotidea.

La distribuzione di C_w/C_0 consente di individuare le regioni caratterizzate da una maggiore polarizzazione della concentrazione e, quindi, da un maggiore accumulo locale di LDL in prossimità della parete. I valori più elevati si localizzano prevalentemente nella regione del seno carotideo e in prossimità della biforcazione, mentre nel resto del dominio la concentrazione risulta più uniforme e maggiormente prossima al valore di bulk.

La distribuzione del numero di Sherwood fornisce invece un'indicazione dell'efficienza locale del trasporto scalare convettivo-diffusivo. Nella regione del seno carotideo si osservano valori relativamente bassi di Sherwood, associati a un trasporto di

massa meno efficiente e, di conseguenza, a una maggiore tendenza alla polarizzazione della concentrazione di LDL. Tale corrispondenza mette in evidenza il legame tra le caratteristiche emodinamiche locali e la formazione degli accumuli lipidici alla parete.

4.1.2 Variazione shear-dependent del parametro V_w

Come descritto nelle sezioni precedenti, diverse evidenze sperimentali indicano che condizioni di basso wall shear stress possono essere associate a un aumento della permeabilità endoteliale. Al fine di includere tale effetto nel modello free-wall, sono state effettuate ulteriori simulazioni nelle quali il parametro V_w è stato reso dipendente dal WSS locale, secondo le formulazioni introdotte in precedenza.

Variazione lineare di V_w

Un primo confronto è stato effettuato tra il caso di riferimento, caratterizzato da un valore costante di V_w, e il caso nel quale la permeabilità endoteliale aumenta linearmente al diminuire del WSS. Le corrispondenti distribuzioni della concentrazione normalizzata di LDL alla parete sono riportate in Figura 4.3.

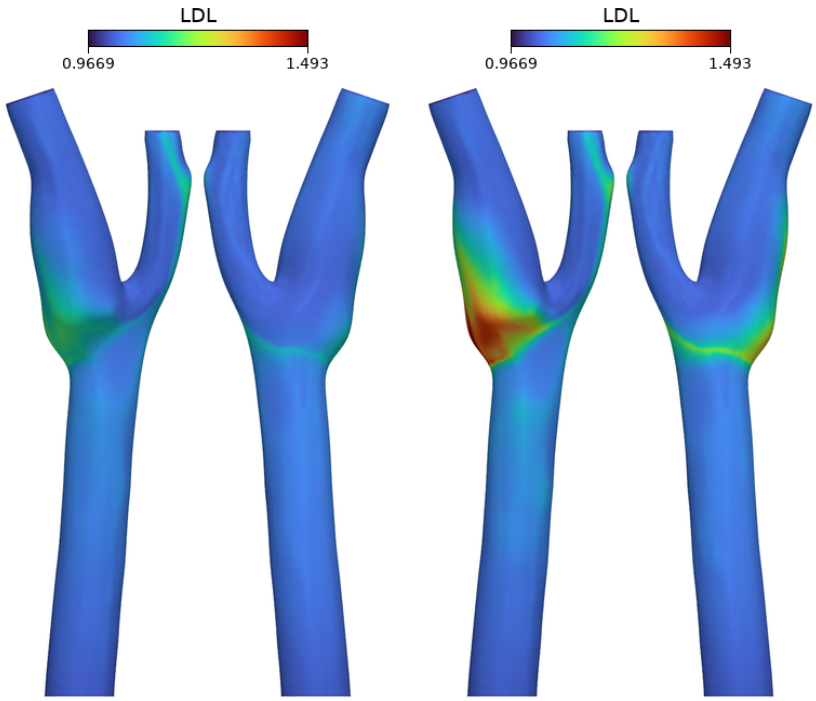


Figura 4.3: Confronto tra le distribuzioni della concentrazione normalizzata di LDL alla parete, C_w/C_0, ottenute con il modello free-wall. A sinistra è riportato il caso con V_w costante, mentre a destra è mostrato il caso con variazione lineare shear-dependent di V_w. Per ciascun caso sono rappresentate la vista posteriore e la vista anteriore della biforcazione carotidea.

Dal confronto si osserva che la posizione delle regioni maggiormente interessate dalla polarizzazione della concentrazione rimane sostanzialmente invariata. In entrambi i casi, infatti, gli accumuli principali si localizzano nella regione del seno carotideo e in prossimità della biforcazione.

La dipendenza di V_w dal WSS modifica invece in maniera significativa l'intensità della polarizzazione. Nel caso con permeabilità costante il valore massimo di C_w/C_0 è pari a circa 1.21, mentre nel caso con aumento lineare di V_w il valore massimo raggiunge circa 1.50. L'introduzione della dipendenza dal WSS amplifica pertanto gli accumuli di LDL nelle regioni già predisposte alla polarizzazione, senza modificarne in maniera sostanziale la localizzazione spaziale.

Variazione sigmoidale di V_w

Lo stesso tipo di analisi è stato successivamente ripetuto introducendo una dipendenza sigmoidale della permeabilità endoteliale dal WSS. In particolare, è stato inizialmente considerato il caso con esponente $n = 4$ e con

$$\tau_{50} = 1.6\,\mathrm{Pa},$$

valore corrispondente approssimativamente al WSS medio calcolato nel dominio. La distribuzione ottenuta è mostrata in Figura 4.4.

Anche in questo caso, le regioni caratterizzate dai valori più elevati di C_w/C_0 risultano concentrate principalmente nel seno carotideo e in prossimità della biforcazione. La distribuzione spaziale ottenuta mediante la legge sigmoidale appare quindi qualitativamente simile a quella osservata nel caso lineare.

Per valutare più approfonditamente l'influenza della forma della funzione sigmoidale, sono state eseguite ulteriori simulazioni considerando differenti valori dell'esponente n. In Figura 4.5 sono confrontati il caso con V_w costante, il caso con variazione lineare e i casi con variazione sigmoidale per $n = 4$, $n = 6$ e $n = 8$.

Nel complesso, i confronti mostrano che la modifica della legge utilizzata per descrivere la dipendenza di V_w dal WSS influenza prevalentemente l'intensità della polarizzazione, mentre produce variazioni limitate nella localizzazione spaziale delle regioni maggiormente interessate dall'accumulo di LDL.

In particolare, le distribuzioni ottenute con la legge lineare e con le diverse leggi sigmoidali risultano qualitativamente simili. L'aumento dell'esponente n rende più marcata la transizione della funzione sigmoidale attorno a τ_{50}, ma non determina uno spostamento sostanziale degli hotspot di concentrazione.

Pertanto, nell'ambito del modello considerato, sia la formulazione lineare sia quella sigmoidale sono in grado di rappresentare l'aumento della filtrazione di LDL associato

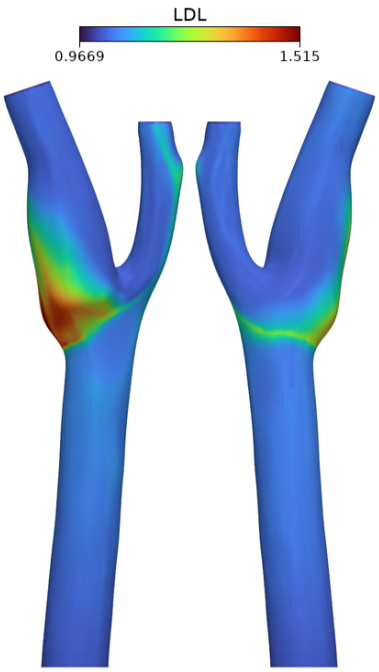


Figura 4.4: Distribuzione della concentrazione normalizzata di LDL alla parete, C_w/C_0, ottenuta adottando una legge sigmoidale per $V_w(\tau)$ con $n = 4$ e $\tau_{50} = 1.6\,\text{Pa}$. Sono riportate la vista posteriore e la vista anteriore della biforcazione carotidea.

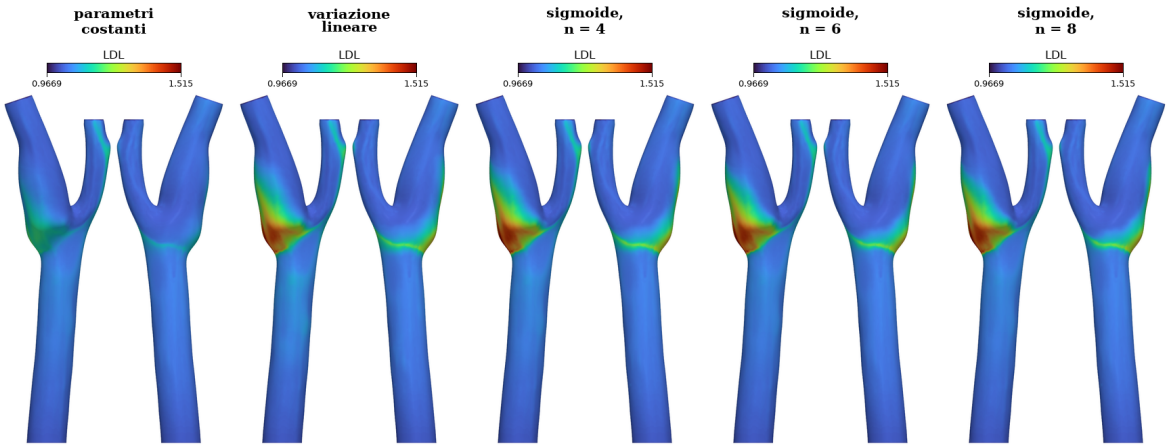


Figura 4.5: Confronto tra le distribuzioni della concentrazione normalizzata di LDL alla parete, C_w/C_0, ottenute con V_w costante, con variazione lineare shear-dependent e con legge sigmoidale per $n = 4$, $n = 6$ e $n = 8$. Tutti i casi sono rappresentati mediante una scala cromatica comune, così da consentire un confronto diretto dell'intensità e della localizzazione degli accumuli di LDL.

alle regioni caratterizzate da basso WSS. La scelta della specifica formulazione incide soprattutto sull'entità dell'incremento locale di C_w/C_0, mentre le regioni potenzialmente più critiche rimangono principalmente determinate dalla distribuzione emodinamica della biforcazione carotidea.

4.2 Analisi modello *fluid–wall*

4.2.1 PO2

In questa sezione sono presentati i risultati ottenuti accoppiando al dominio fluido (fluent) il dominio solido della parete (UDF). Rispetto al modello *free-wall*, la parete non viene più trattata con una semplice condizione al contorno, ma viene modellata in maniera esplicita, entrando direttamente all'interno delle equazioni del modello.

Prima di analizzare i risultati dello studio parametrico delle grandezze che regolano il sistema NO-ROS-LDL-oxLDL, si analizzano le mappe di distribuzione della pressione parziale d'ossigeno, in quanto quest'ultimo compare direttamente nell'equazione di NO. Le mappe sono riportate in figura 4.6.

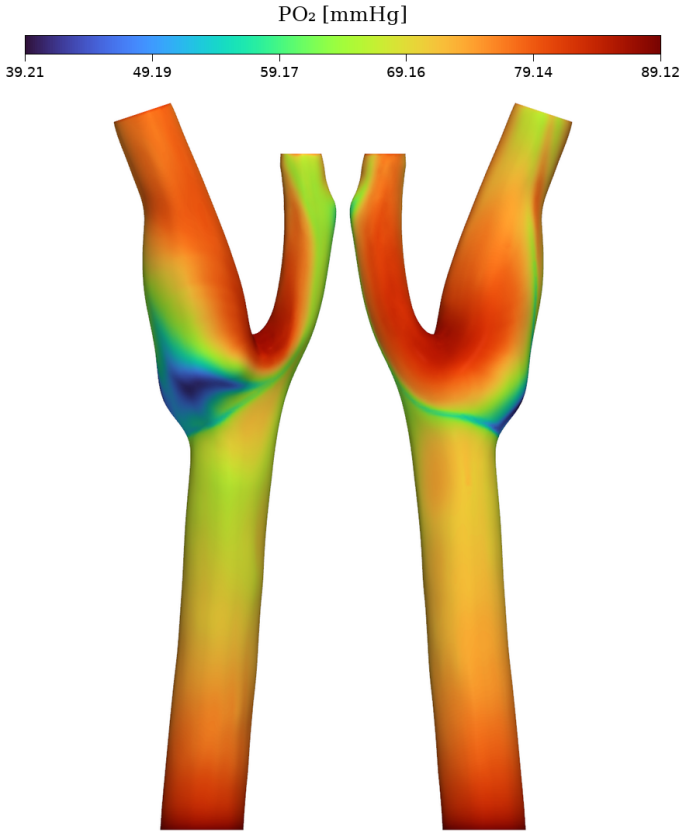


Figura 4.6: Distribuzione della pressione parziale di ossigeno PO_2 nel modello fluid–wall.

Coerentemente con quanto mostrato in **??**, si evidenziano valori più bassi di PO_2 nella regione del seno carotideo, mentre nelle zone caratterizzate da numeri di Sherwood elevati si osservano valori elevati di PO2. Questo andamento è coerente con quanto dimostrato da [36]. Il profilo transmurale di ossigeno è parabolico, come riportato in 4.7, con il valore minimo locato a circa metà dello spessore murale pari a 24mmHg.

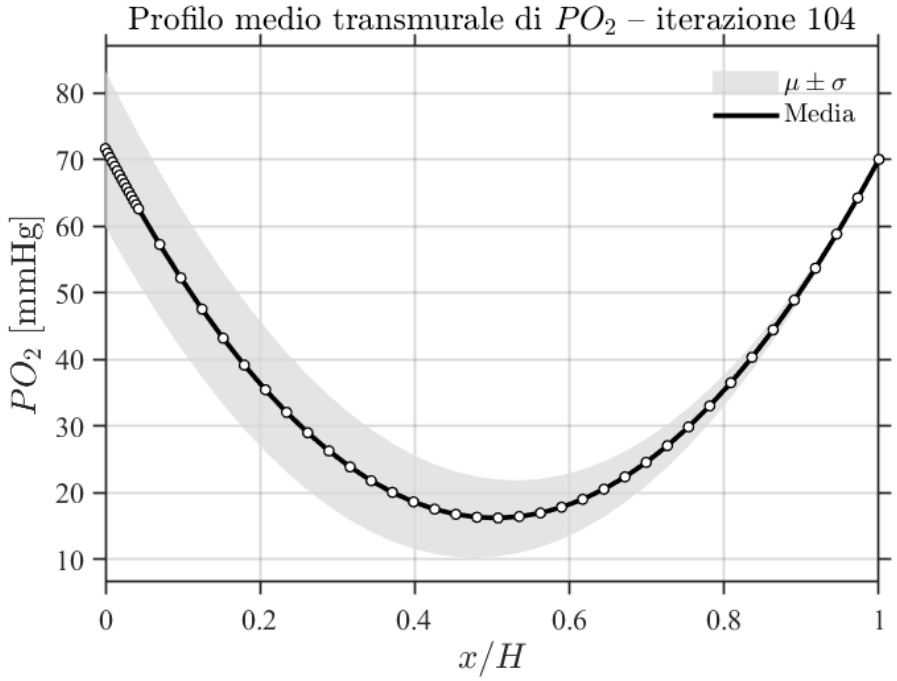


Figura 4.7: Profilo transmurale medio della pressione parziale di ossigeno (P_{O_2}) lungo la parete, normalizzato rispetto alla coordinata x/H.

4.2.2 LDL

Dopo aver riportato le distribuzioni di PO2, si analizzando le mappe di LDL normalizzate ottenute con i modelli discussi nelle sezioni precedenti, ovvero quelli basati sulla velocità efficace di filtrazione V_w e il modello di Kedem-Katchalsky.

Così come descritto nelle sezioni precedenti, per entrambi i modelli sono state fatte due simulazioni. In una prima simulazione sono stati considerati i parametri del modello costanti, mentre in una seconda simulazione sono stati fatti variare con il WSS tramite una legge sigmoide. Il confronto tra i risultati sono riportati in figura 4.8.

Per tutti i 4 casi le regioni di maggiori accumulo risultano localizzate prevalentemente nel seno carotideo. Si osserva come ciò che cambia non è l'hotspot della polarizzazione, ma quanto la polarizzazione è intensa. Rispetto al modello free-wall l'intensità della polarizzazione è ridotta di circa un ordine di grandezza, raggiungendo

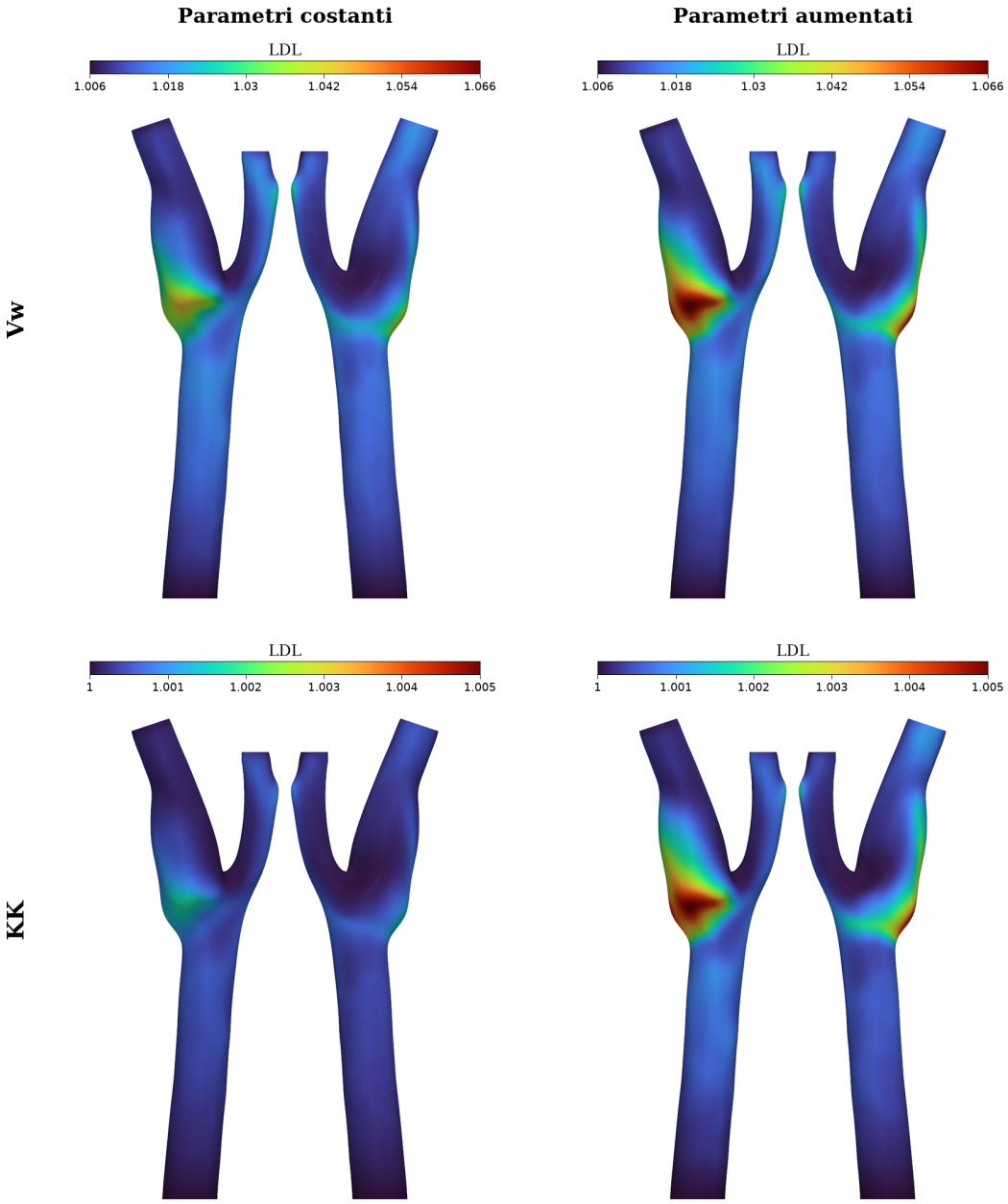


Figura 4.8: Confronto della distribuzione di LDL nel modello *fluid–wall* per le due formulazioni di trasporto attraverso l'endotelio. Sono riportati il modello basato su V_w e il modello di Kedem–Katchalsky, nei casi con parametri costanti e con parametri dipendenti dal wall shear stress.

valori massimi di C_w/C_0 di circa 1.05, di molto inferiore del valore di 1.5 raggiunto nel modello free-wall.

Il confronto tra le due formulazioni inoltre mette in risalto la diversa natura dei due modelli, in quanto nel modello basato sulle equazioni di Kedem-Kaltchasky si vedono valori di C_w/C_0 molto più bassi rispetto al modello basato su V_w. Questo è coerente con la natura del modello, in quanto descrive l'endotelio come una barriera semipermeabile che introduce una maggiore selettività nel passaggio delle LDL dal lume alla parete.

4.2.3 Analisi distribuzione NO

Prima di analizzare i profili transmurali di LDL nella parete si analizzano i risultati derivanti dall'analisi parametrica del modello accoppiato, in particolare ci si concentra sui parametri che influenzano la produzione di NO. L'obiettivo di quest'analisi è quella di individuare come i parametri che regolano la produzione endoteliale shear-dependent di NO influenzino la distribuzione delle specie chimiche coinvolte, in modo da selezionare solo alcuni casi studio significativi.

4.2.4 Variazione NO con legge lineare

In questa fase è stata considerata la formulazione lineare della produzione endoteliale di NO. In particolare, sono stati fatti variare il valore massimo di produzione $R_{\max}$ e l'ampiezza della finestra di attivazione $\Delta\tau$. Il confronto è riportato in Figura 4.9, dove le righe corrispondono a valori crescenti di $R_{\max}$, mentre le colonne rappresentano valori crescenti di $\Delta\tau$. Dall'analisi si evidenzia come un aumento del parametro $R_{\max}$ determina un incremento del valore di NO, mentre l'aumento di $\Delta\tau$ aumenta l'intervallo di WSS entro cui la produzione endoteliale viene modulata.

4.2.5 Variazione NO con legge sigmoide

Successivamente è stata considerata la formulazione mediante la funzione a sigmoide, più adatta a rappresentare una risposta non lineare e saturante dell'endotelio. In questa analisi sono stati testati diversi valori di $R_{\max}$, γ e τ_{50}. Le distribuzioni ottenute da questi test sono riportate in 4.10–4.12.

In ciascuna figura, le colonne corrispondono a valori crescenti di τ_{50}, mentre le righe rappresentano valori crescenti di γ.

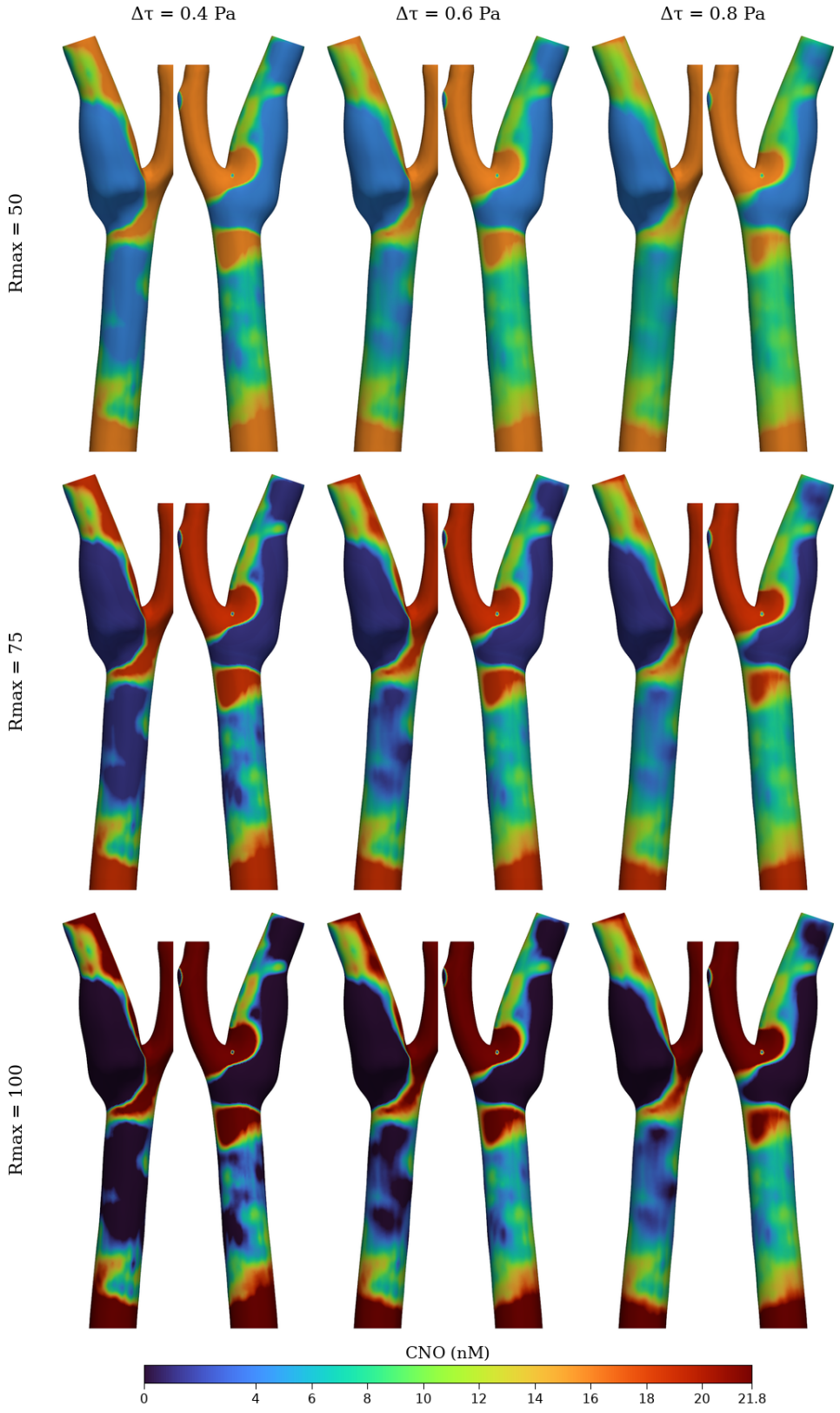


Figura 4.9: Distribuzione della concentrazione di NO alla parete ottenuta con la legge lineare shear-dependent. Le righe corrispondono a valori crescenti di $R_{\max}$, mentre le colonne rappresentano valori crescenti della finestra di attivazione $\Delta\tau$.

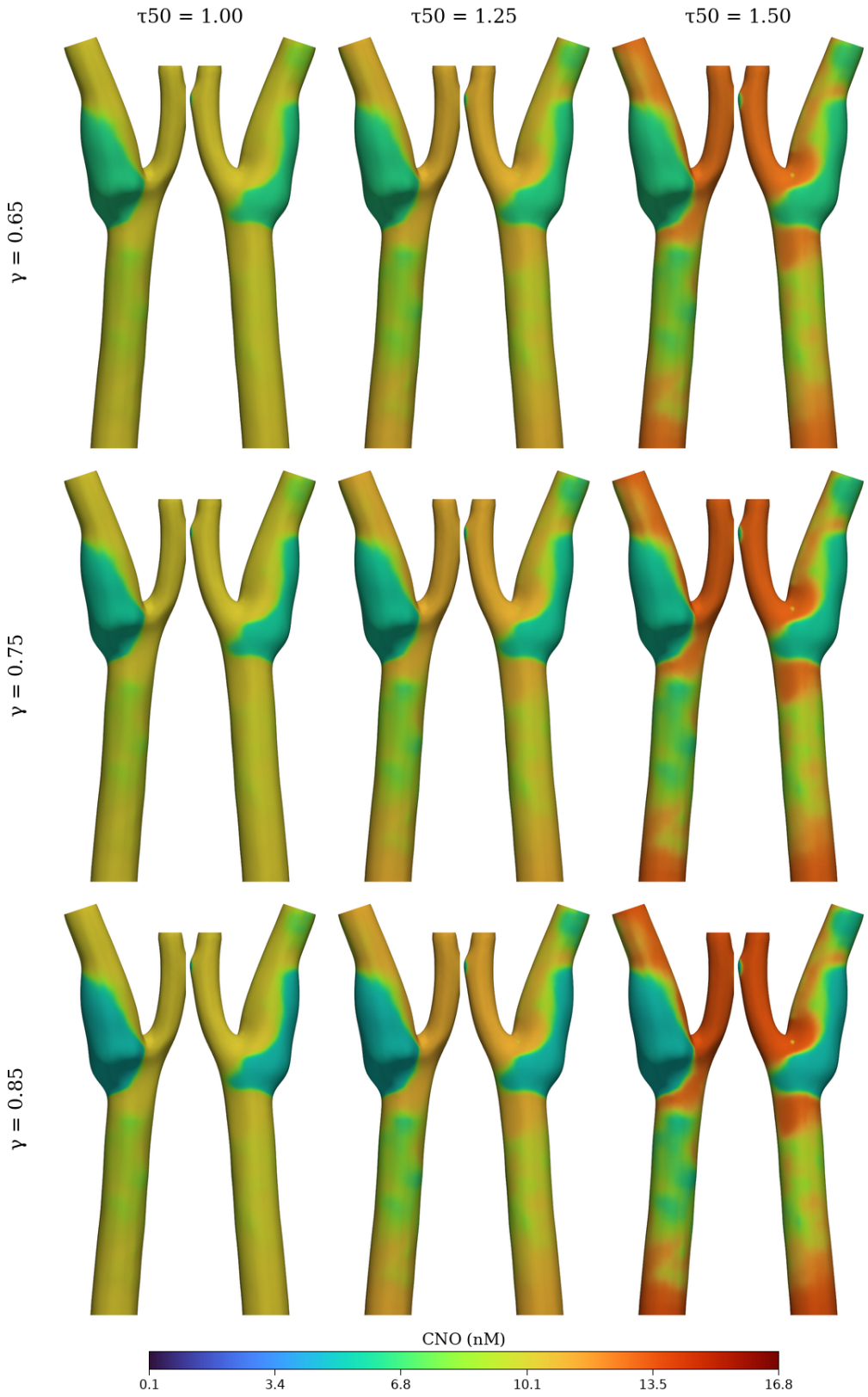


Figura 4.10: Distribuzione della concentrazione di NO per $R_{\max} = 50$ nM s^{-1} al variare dei parametri della funzione sigmoide. Le colonne corrispondono a valori crescenti di τ_{50}, mentre le righe rappresentano valori crescenti di γ.

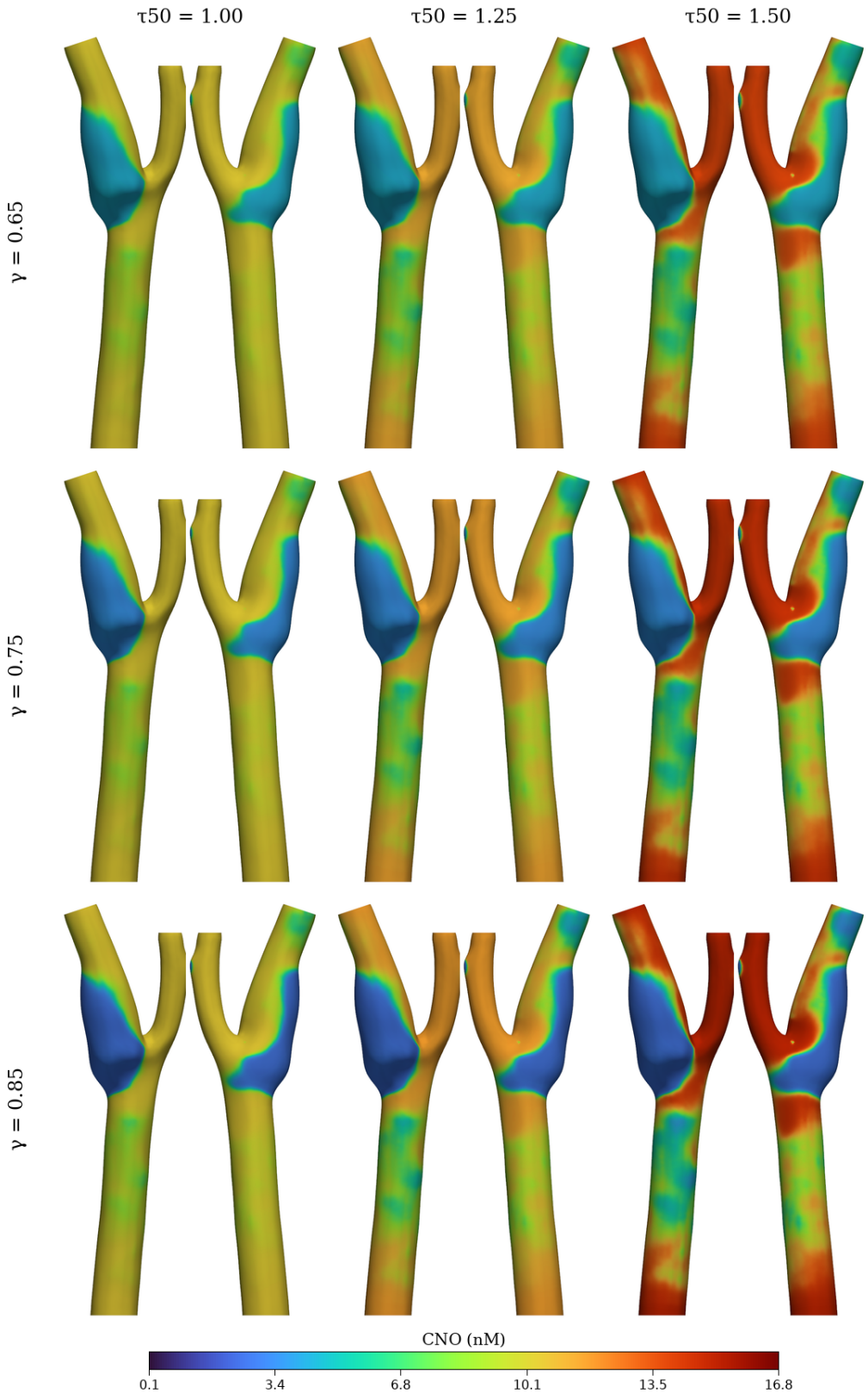


Figura 4.11: Distribuzione della concentrazione di NO per $R_{\max} = 75$ nM s^{-1} al variare dei parametri della funzione sigmoide. Le colonne corrispondono a valori crescenti di τ_{50}, mentre le righe rappresentano valori crescenti di γ.

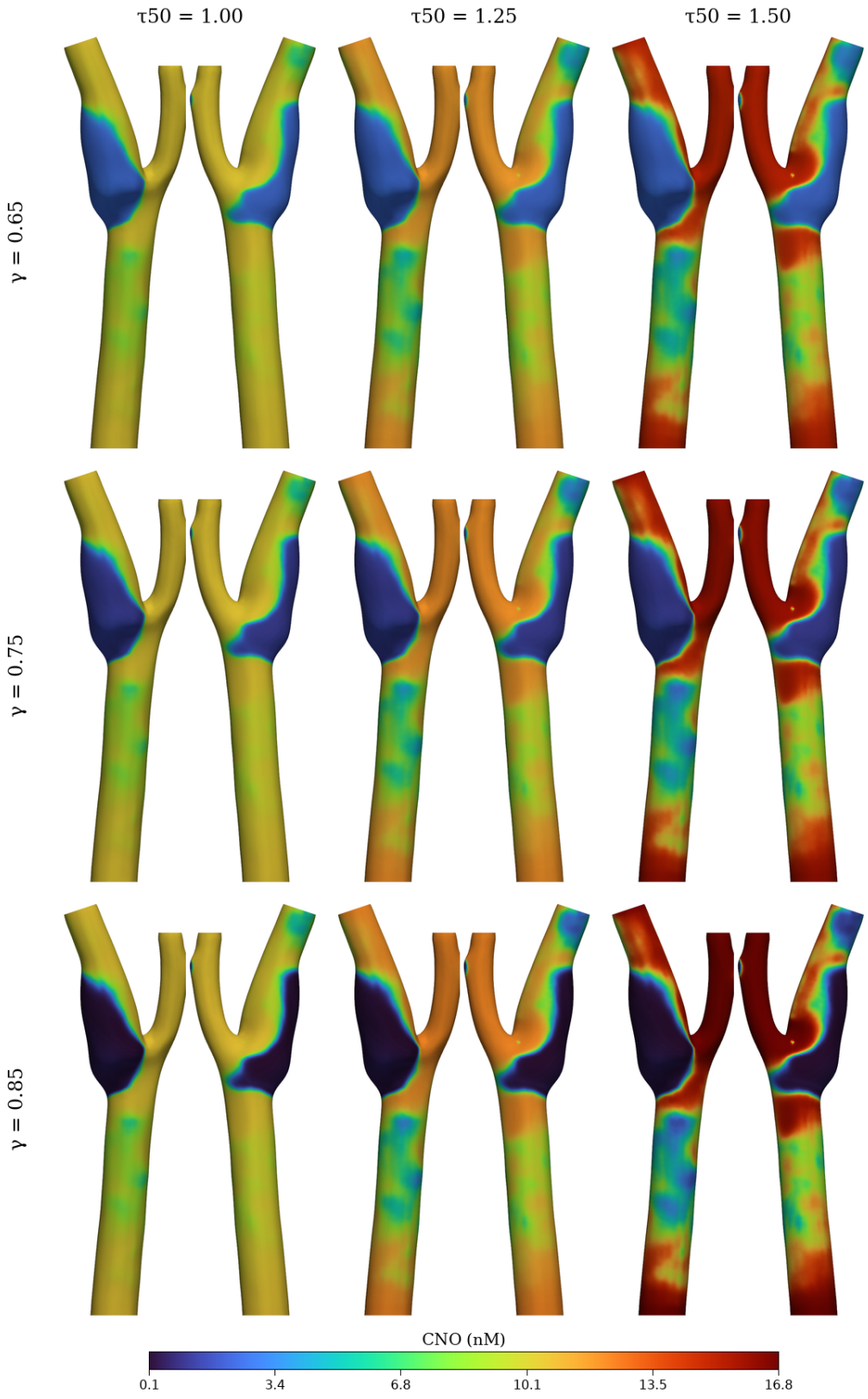


Figura 4.12: Distribuzione della concentrazione di NO per $R_{\max} = 100$ nM s^{-1} al variare dei parametri della funzione sigmoide. Le colonne corrispondono a valori crescenti di τ_{50}, mentre le righe rappresentano valori crescenti di γ.

Per interpretare in maniera diretta l'effetto dei parametri della legge sigmoide sulla distribuzione spaziale di NO, è stata condotta un'analisi statistica, ovvero per ciascuna configurazione sono stati costruiti istogrammi normalizzati dei valori di C_{NO} rispetto al numero totale di punti e si è osservato che:

- **Effetto di $R_{\max}$:** l'aumento di $R_{\max}$ determina una dispersione maggiori dei valori di C_{NO}, con conseguente aumento della separazione tra i picchi. Questo indica che $R_{\max}$, piuttosto che aumentare in maniera uniforme il livello globale di NO, amplifica le differenze spaziali tra regioni caratterizzate da diverso WSS.

- **Effetto di γ:** valori più elevati di γ aumentano l'ampiezza della risposta sigmoide e, di conseguenza, accentuano il contrasto tra regioni a basso e alto WSS, in quanto sposta il picco caratterizzato da bassi valori C_{NO} verso valori più bassi. Anche in questo caso quindi l'effetto più che sul valor medio è sull'eterogeneità spaziale della distribuzione.

- **Effetto di τ_{50}:** l'incremento di τ_{50} sposta la soglia di attivazione della funzione a sigmoide, causando un aumento maniera globale i valori di C_{NO}.

Nel complesso, l'analisi evidenzia che la distribuzione del NO è controllata dall'interazione tra $R_{\max}$, γ e τ_{50}. Il parametro $R_{\max}$ regola l'intensità massima della risposta, mentre γ e τ_{50} modulano rispettivamente l'ampiezza e la soglia di attivazione della funzione sigmoide.

Alla luce dei risultati ottenuti nel primo intervallo di analisi, il parametro τ_{50} è stato ulteriormente esplorato considerando valori più elevati, pari a 1.5, 1.75 e 2.0. Questa scelta consente di verificare se le tendenze già osservate si mantengano anche per soglie di attivazione più alte della funzione sigmoide e di individuare eventuali configurazioni limite del modello.

I risultati di queste analisi sono riportati in 4.19–4.21. I risultati confermano i trend osservati in precedenza, ma con effetti più marcati rispetto al caso precedente.

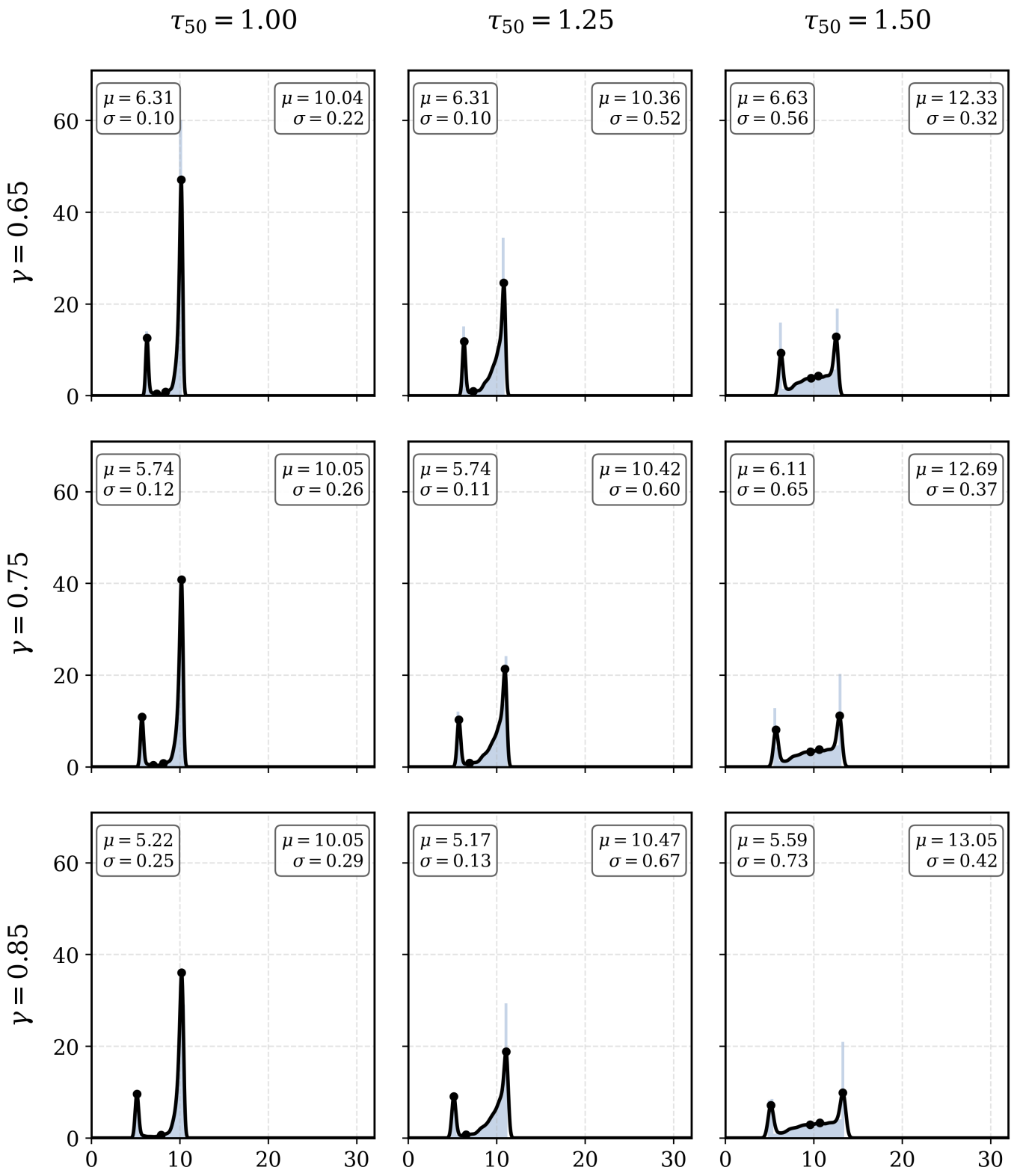


Figura 4.13: $R_{max} = 50$ nM s^{-1}: distribuzioni di C_{NO} per diverse combinazioni di γ e τ_{50}. Le colonne corrispondono a valori crescenti di τ_{50}, mentre le righe rappresentano valori crescenti di γ.

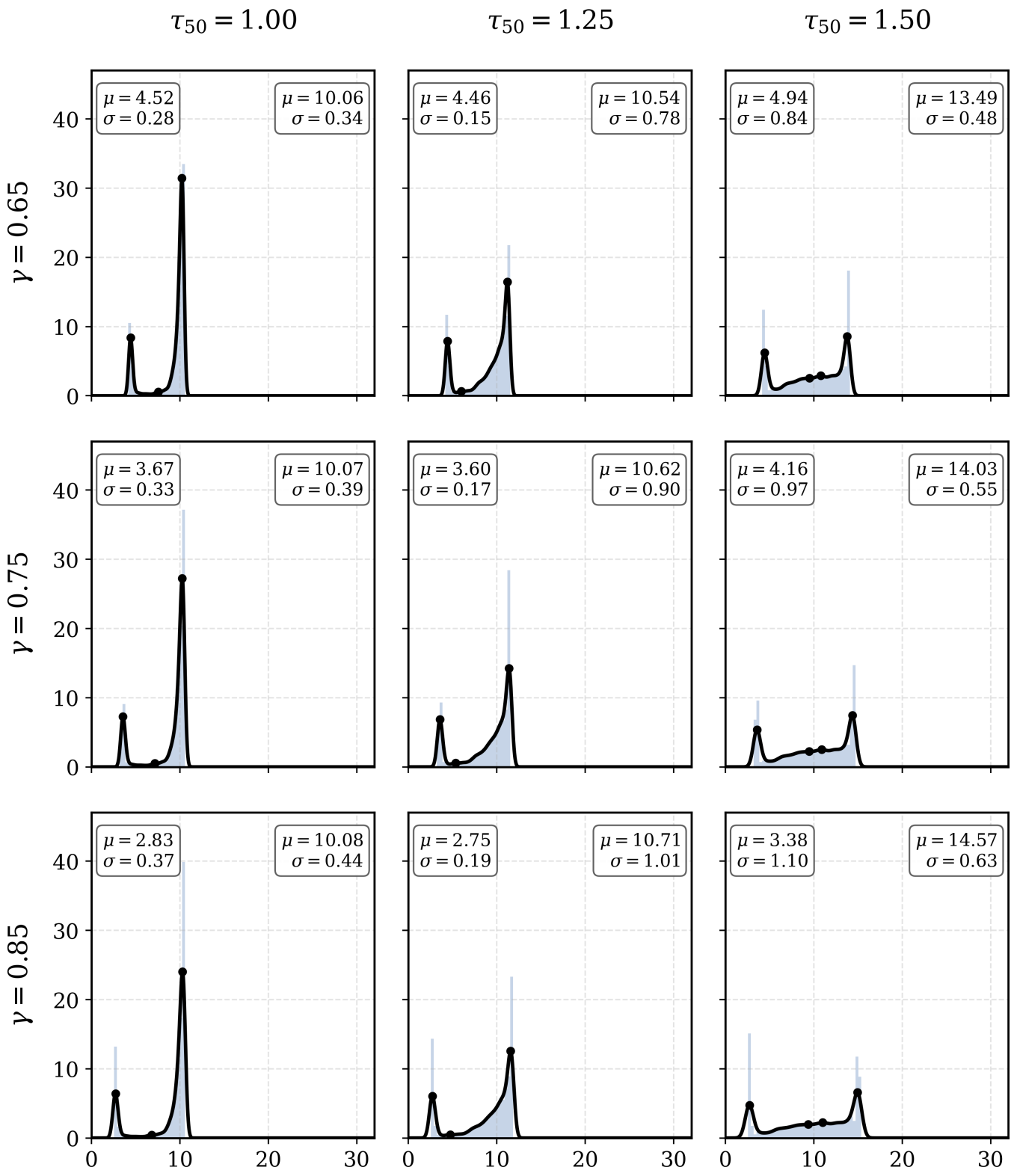


Figura 4.14: $R_{max} = 75$ nM s^{-1}: distribuzioni di C_{NO} per diverse combinazioni di γ e τ_{50}. L'aumento di R_{max} determina una maggiore separazione tra le popolazioni di concentrazione.

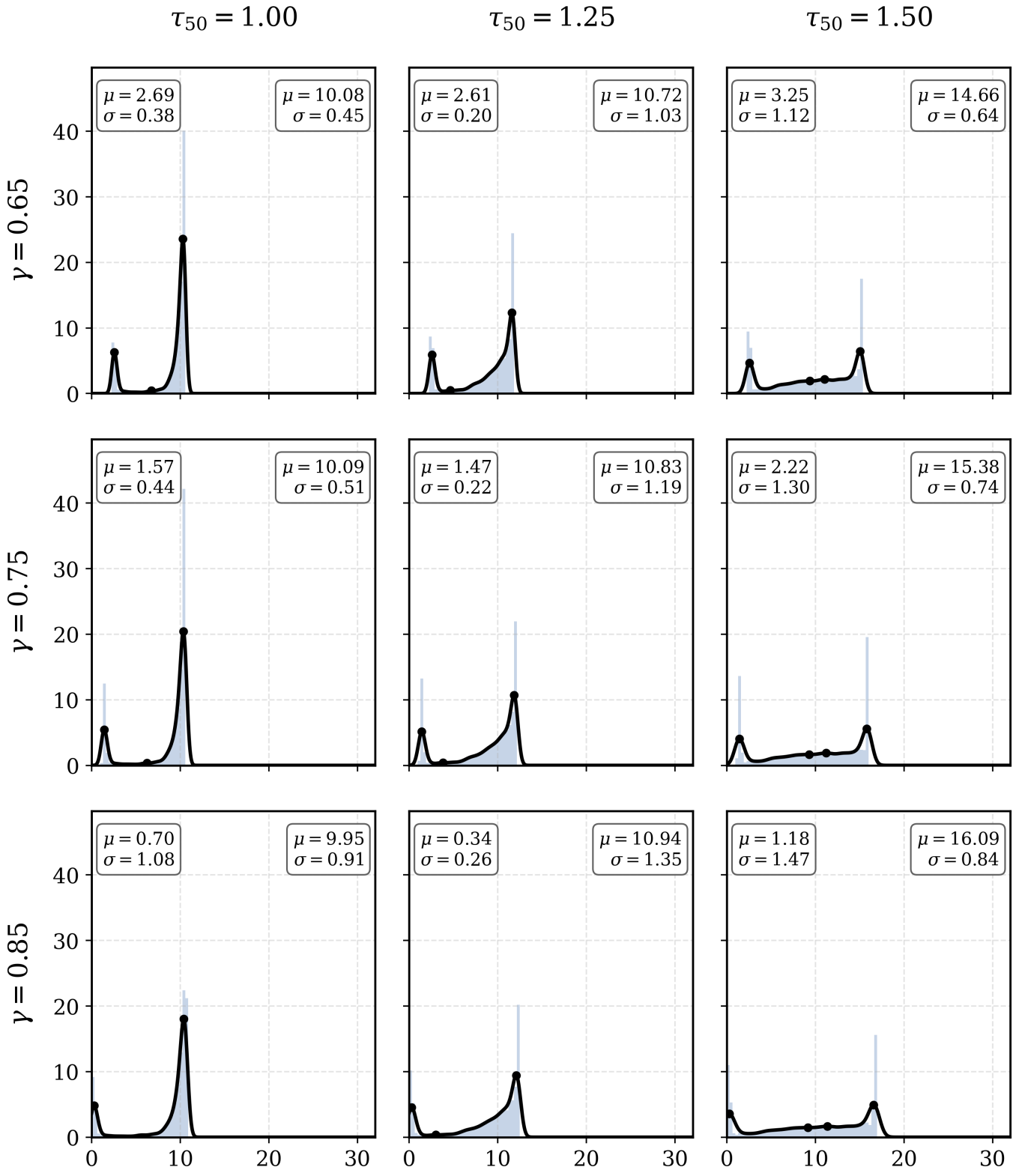


Figura 4.15: $R_{max} = 100$ nM s^{-1}: distribuzioni di C_{NO} per diverse combinazioni di γ e τ_{50}. In questo caso si osserva la massima separazione tra le popolazioni e una maggiore dispersione del picco associato alle basse concentrazioni.

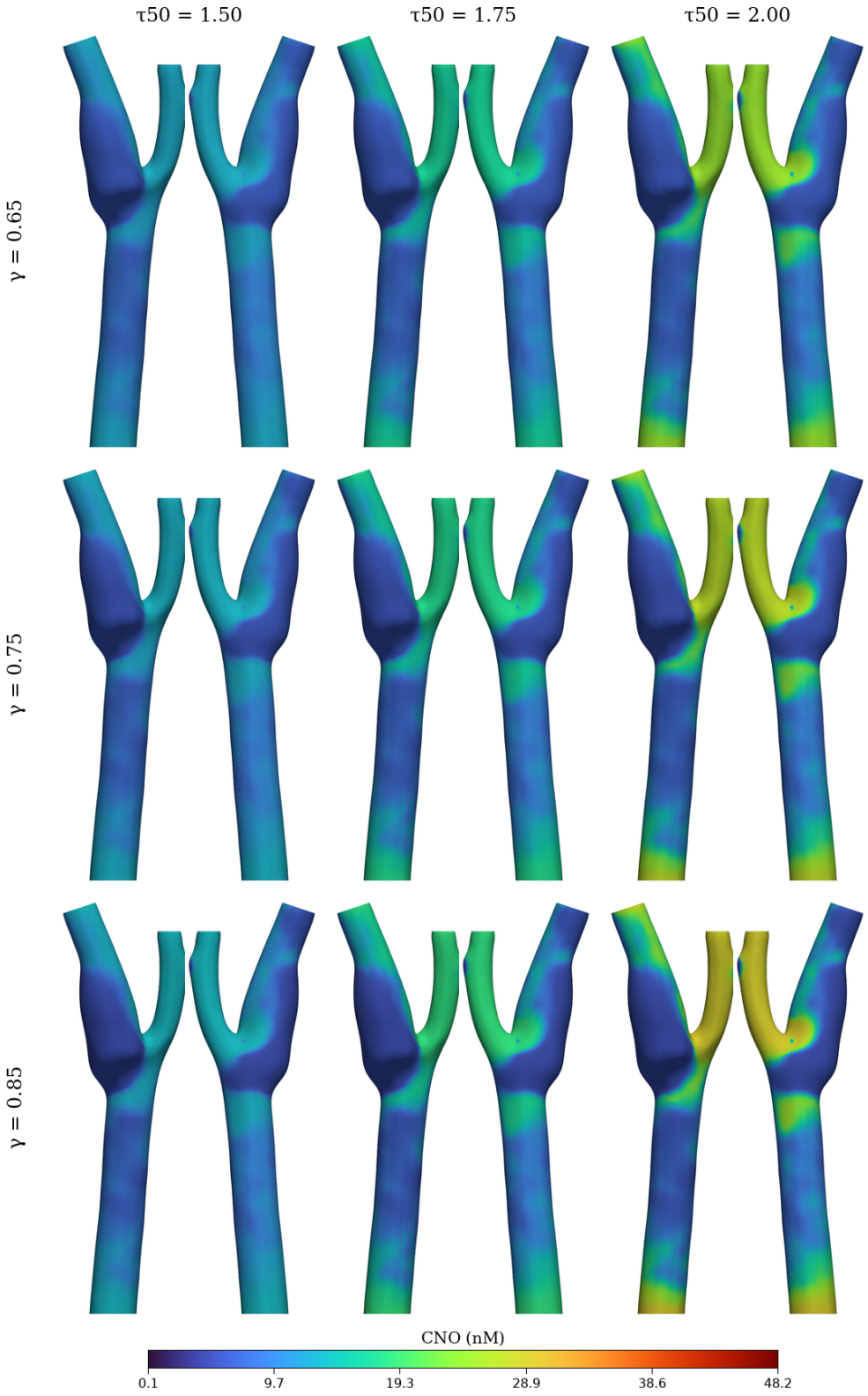


Figura 4.16: Distribuzione della concentrazione di C_{NO} per $R_{max} = 50$ nM s^{-1} al variare dei parametri della funzione sigmoide, considerando valori estesi di τ_{50}.

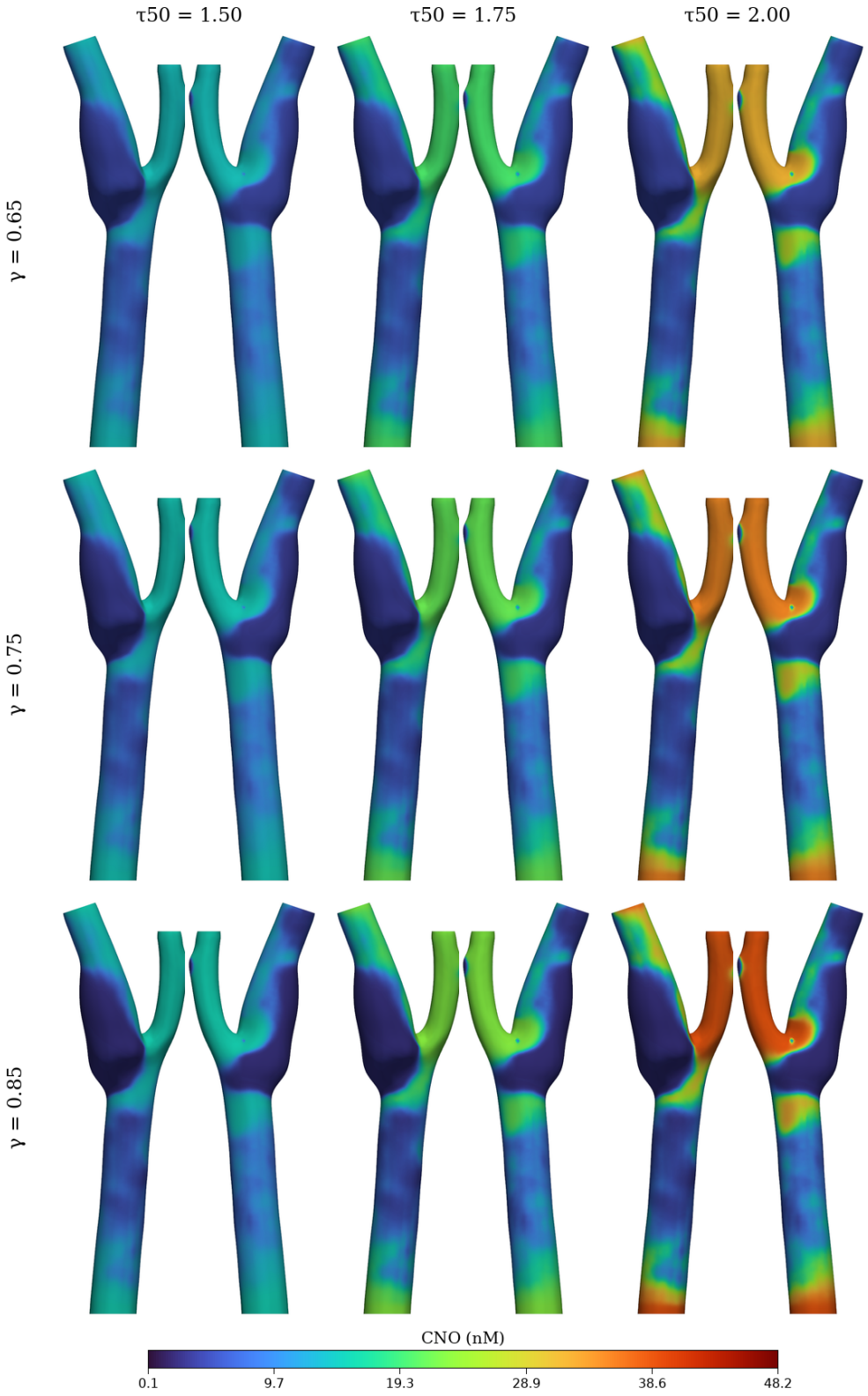


Figura 4.17: Distribuzione della concentrazione di C_{NO} per $R_{max} = 75$ nM s^{-1} al variare dei parametri della funzione sigmoide, considerando valori estesi di τ_{50}.

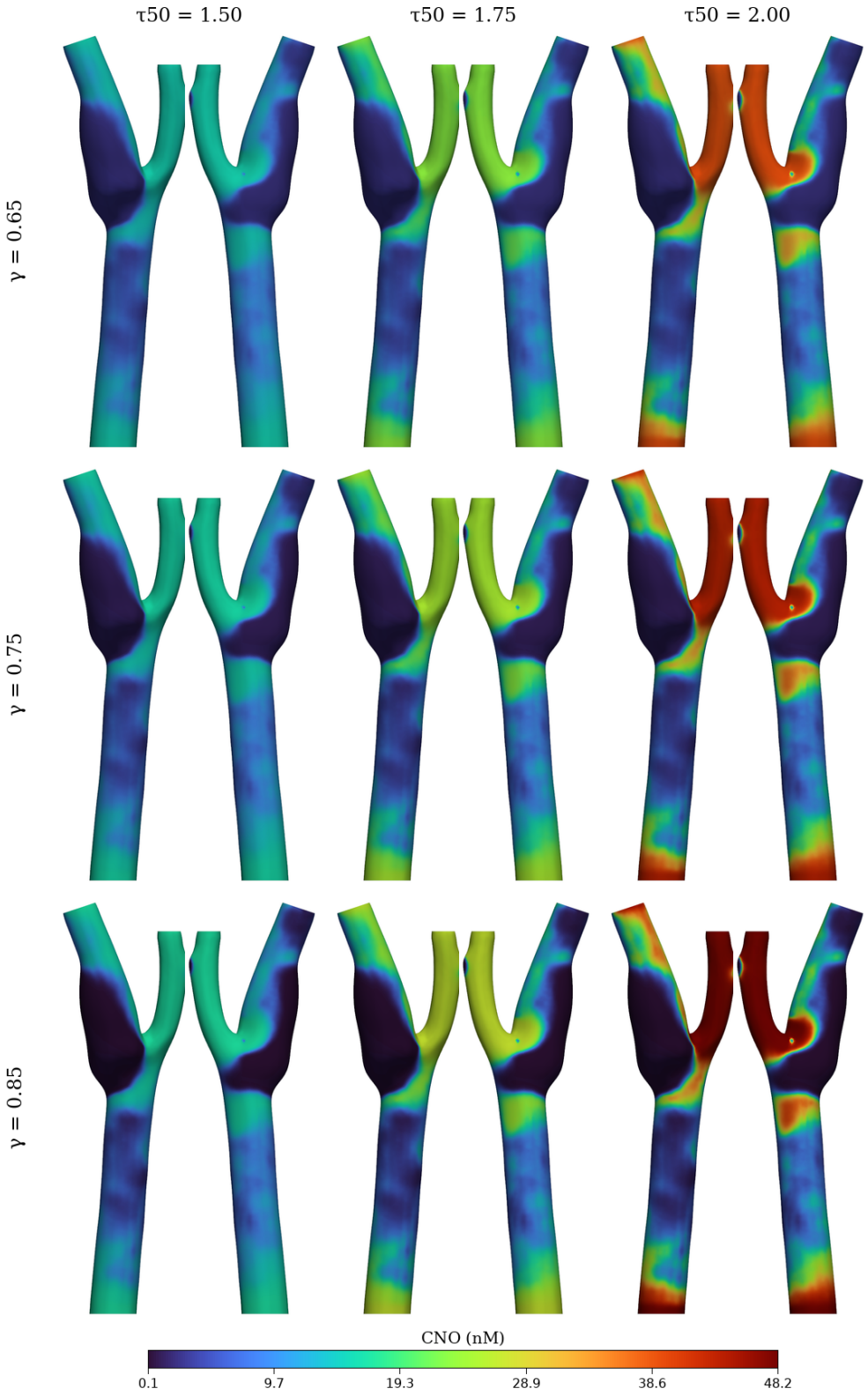


Figura 4.18: Distribuzione della concentrazione di C_{NO} per $R_{max} = 100$ nM s^{-1} al variare dei parametri della funzione sigmoide, considerando valori estesi di τ_{50}.

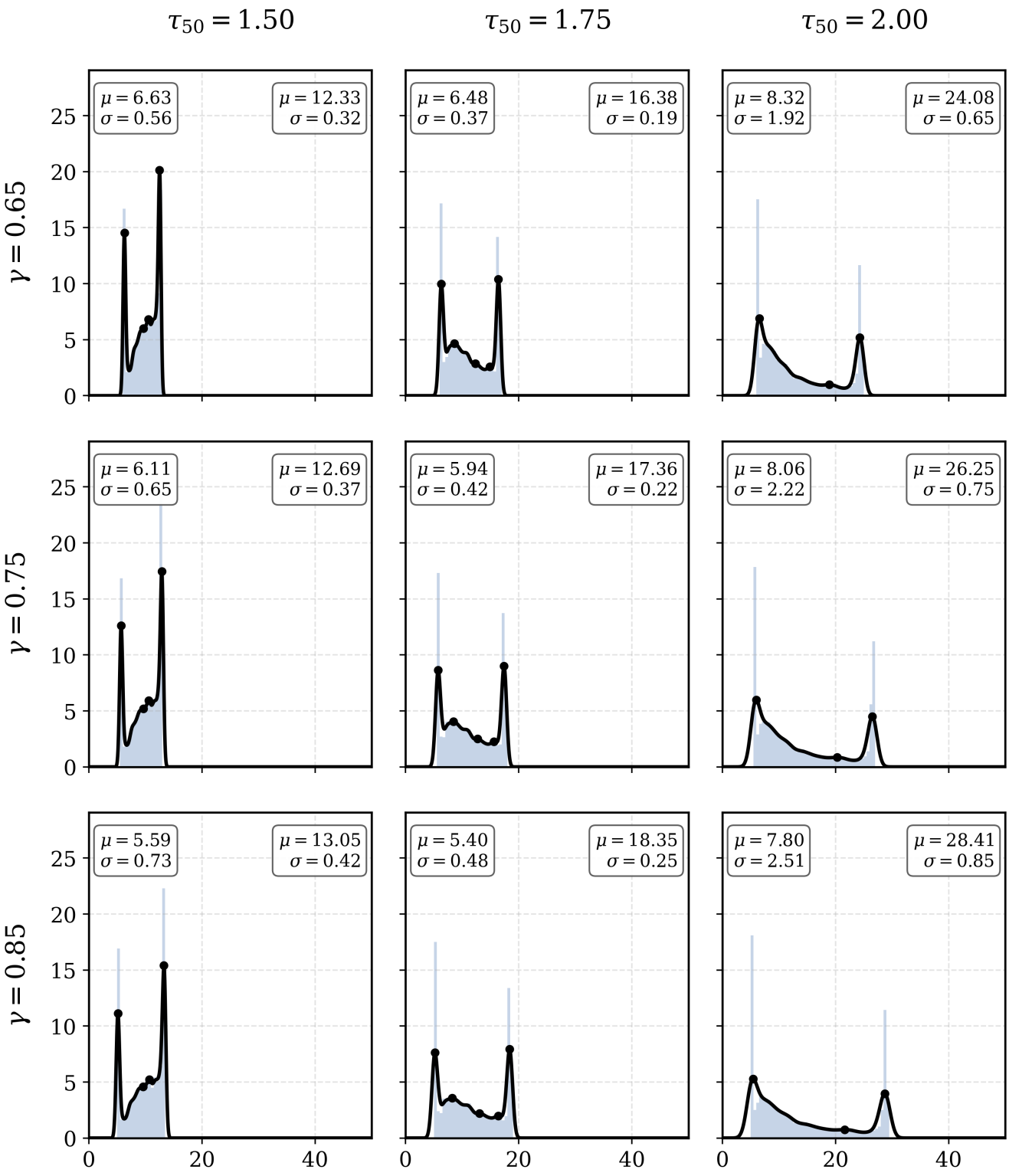


Figura 4.19: $R_{max} = 50$ nM s^{-1}: distribuzioni di C_{NO} per diverse combinazioni di γ e τ_{50}, considerando valori estesi di τ_{50}. Nei casi a τ_{50} più basso si osserva una chiara bimodalità, mentre per valori più elevati emergono ulteriori popolazioni secondarie.

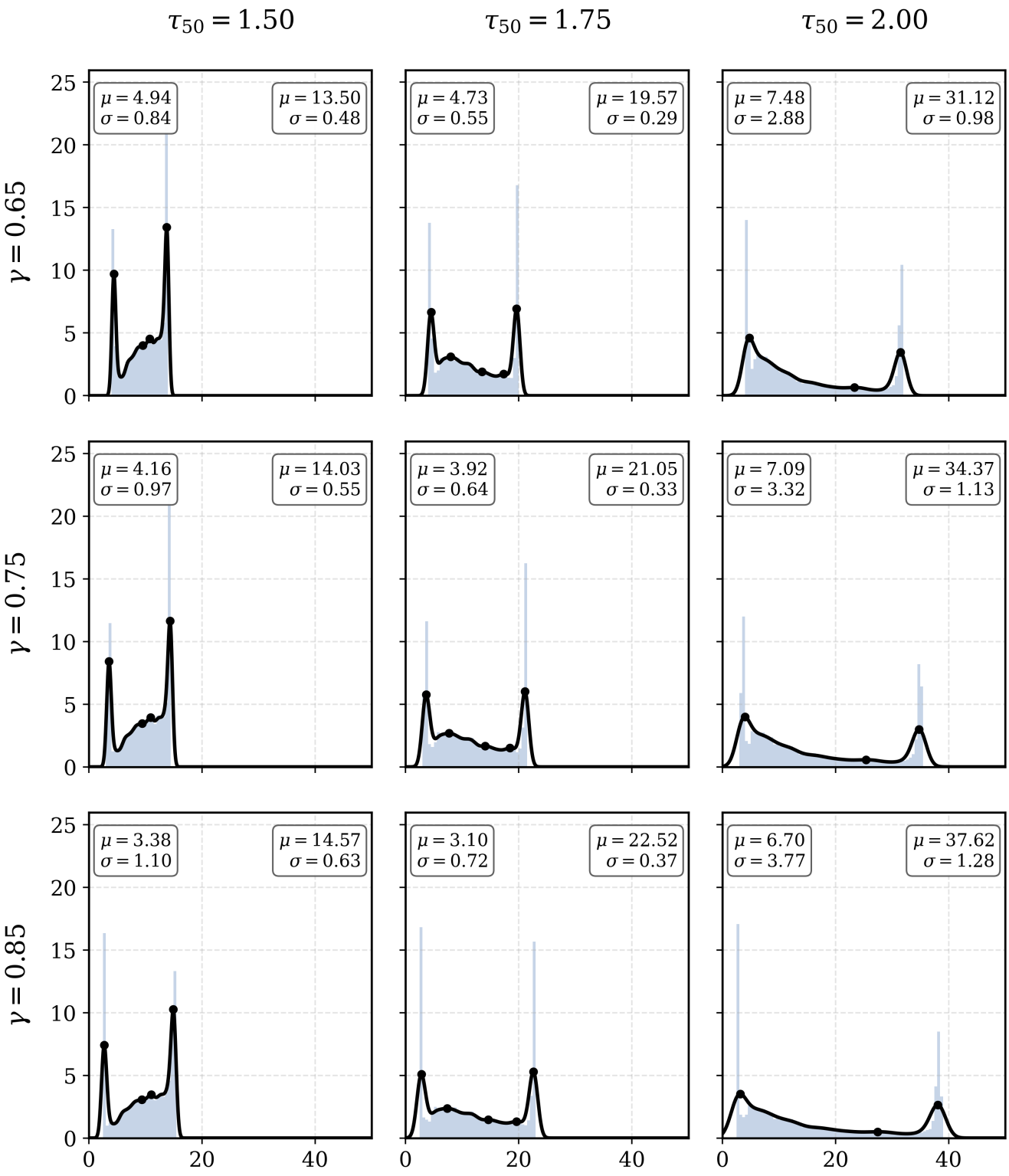


Figura 4.20: $R_{max} = 75$ nM s^{-1}: distribuzioni di C_{NO} per diverse combinazioni di γ e τ_{50}, considerando valori estesi di τ_{50}. Si osserva un aumento della separazione tra le popolazioni e la comparsa di strutture più articolate, con una maggiore dispersione del picco a basse concentrazioni.

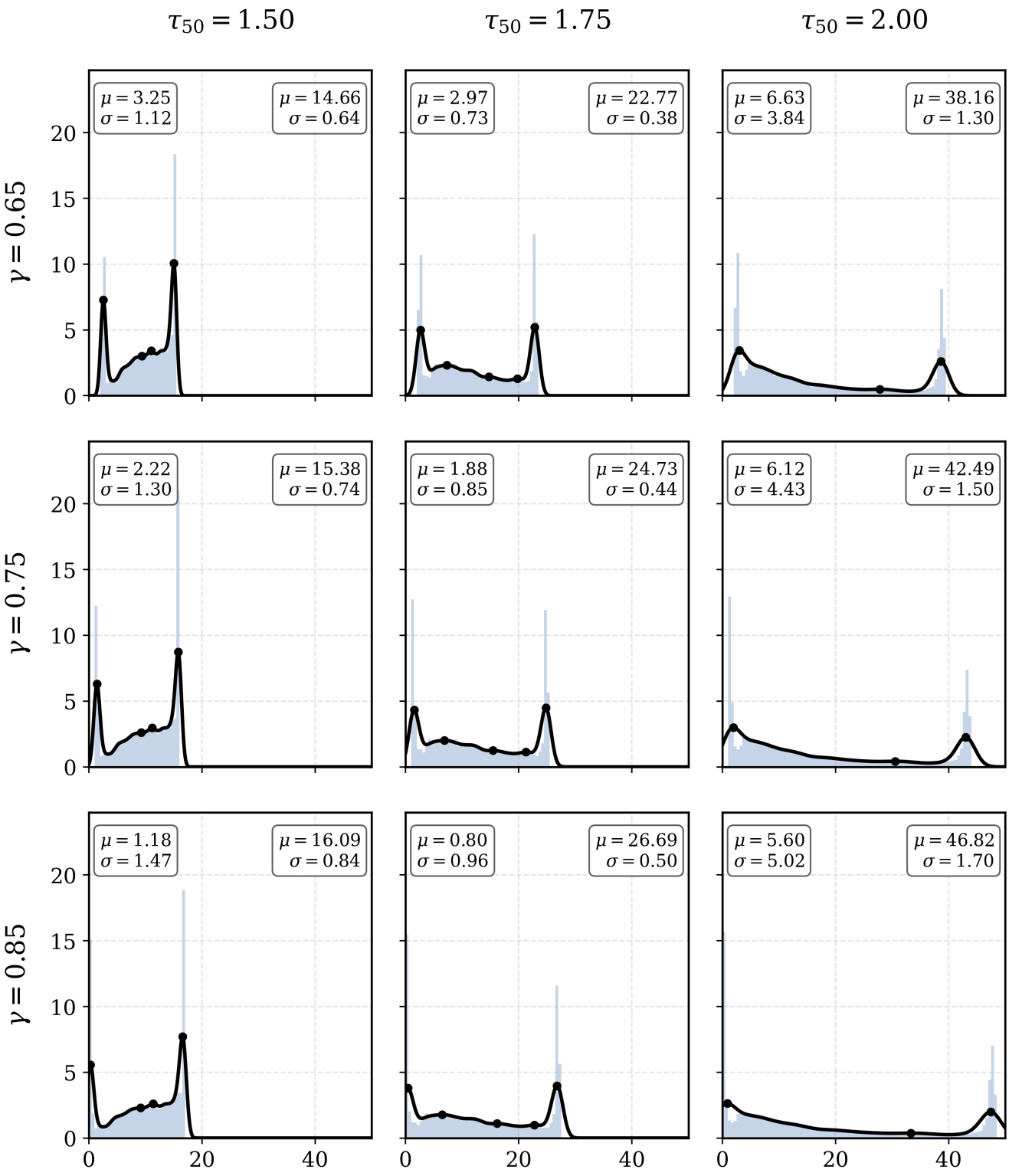


Figura 4.21: $R_{max} = 100$ nM s^{-1}: distribuzioni di C_{NO} per diverse combinazioni di γ e τ_{50}, considerando valori estesi di τ_{50}. In questo caso si osserva la massima eterogeneità del sistema, con distribuzioni fortemente multimodali e presenza di numerosi picchi distinti, indicativi di diversi regimi locali di concentrazione.

4.3 Analisi profili transmurali

Dopo aver definito e discusso i parametri che regolano la distribuzione spaziale di NO, è stata condotta un'analisi di sensibilità sui termini che controllano la formazione e la rimozione delle LDL ossidate nella parete.

L'analisi è stata articolata in tre fasi. Inizialmente è stato valutato il peso del termine K_{ox} nel modulo redox NO–ROS; successivamente è stato valutato il contributo del coefficiente di rimozione macrofagica K_{macro}, mantenendo fissi i parametri della produzione shear-dependent di NO; infine è stato analizzato l'effetto del parametro τ_{50} sulla risposta redox e sulla produzione di oxLDL.

4.3.1 Contributo K_{ox} nel modulo redox

Nella prima simulazione sono stati fissati $\gamma = 0.75$, $\tau_{50} = 1\,\text{Pa}$ e $K_{macro} = 5\times10^{-4}\,\text{s}^{-1}$. Il termine K_{macro} è stato definito a priori, poiché non interviene direttamente nel modulo redox; in questa fase, infatti, si vuole isolare l'effetto di K_{ox}, che agisce sul termine sorgente delle ROS. L'effetto di K_{ox} sui profili transmurali di NO e ROS è riportato in Figura 4.22.

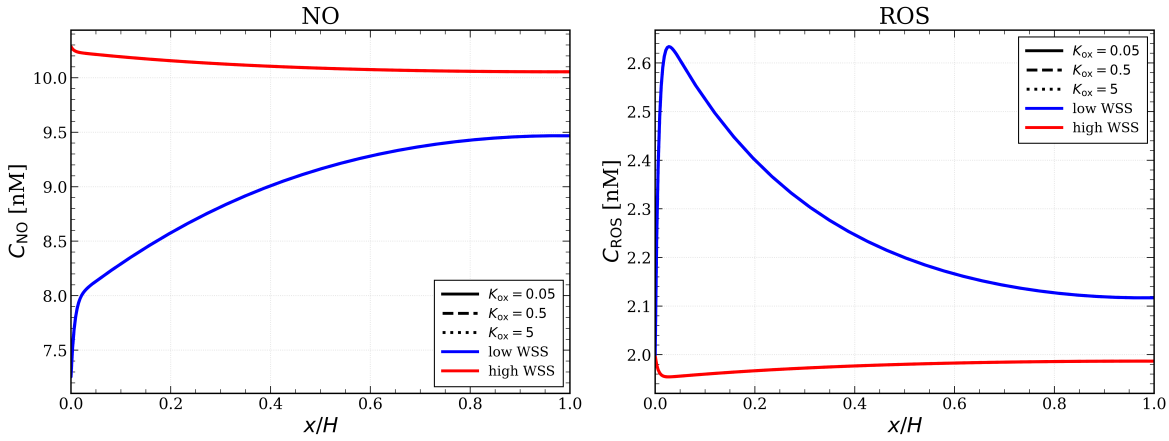


Figura 4.22: Profili transmurali di NO e ROS per $\gamma = 0.75$, $\tau_{50} = 1,\text{Pa}$ e $K_{macro} = 5 \times 10^{-4}\text{s}^{-1}$, al variare di K_{ox}.

Dall'analisi dei profili si osserva che, al variare di K_{macro}, i profili di NO e ROS rimangono invariati. Questo comportamento è dovuto al fatto che il termine di rimozione ha un effetto molto piu debole su ROS rispetto gli altri termini di rimozione/degradazione. Per far si che questo termine diventi competitivo con gli altri, il parametro K_{ox} dovrebbe avere valori molto più alti, ma questo causerebbe valori fisicamente errati per le oxLDL.

Per questo motivo, il confronto tra diversi valori di K_{ox} può essere interpretato soprattutto in termini di distribuzione di LDL e oxLDL.

4.3.2 Contributo K_{macro} nel modulo lipidico

In questa analisi è stato valutato il ruolo del coefficiente di rimozione macrofagica K_{macro} sulla distribuzione transmurale delle LDL e delle oxLDL. In particolare, sono stati testati quattro valori di K_{macro}, compresi tra $5 \times 10^{-5}\,\text{s}^{-1}$ e $5 \times 10^{-2}\,\text{s}^{-1}$, mantenendo fissati gli altri parametri del modello.

Una prima analisi è stata condotta confrontando i casi $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-5}\,\text{s}^{-1}$ e $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-4}\,\text{s}^{-1}$, come riportato in Figura 4.23.

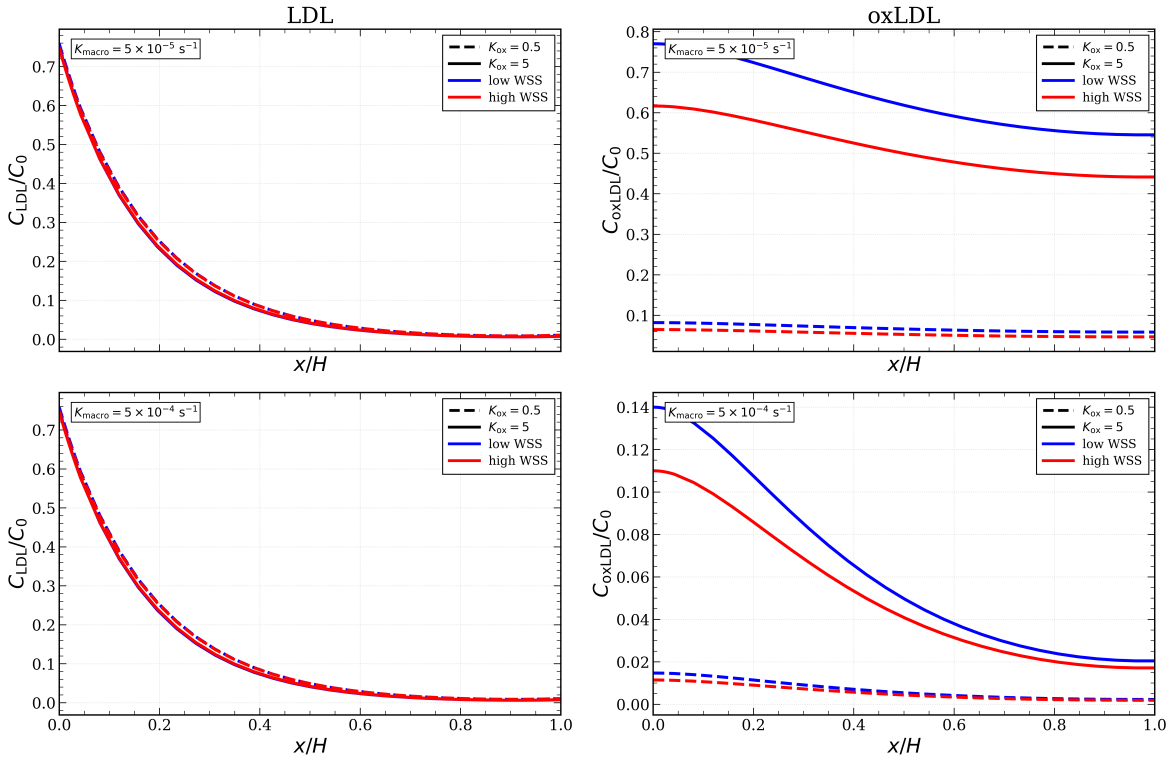


Figura 4.23: Confronto dei profili transmurali normalizzati di LDL e oxLDL per $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-5}\,\text{s}^{-1}$ e $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-4}\,\text{s}^{-1}$.

Dai profili si osserva come, per entrambi i valori considerati, la concentrazione di oxLDL non si annulla completamente nella regione più esterna della parete. Questo comportamento indica che la rimozione macrofagica risulta ancora troppo debole rispetto alla produzione e alla diffusione della specie ossidata. Di conseguenza, una parte delle oxLDL riesce comunque a raggiungere la zona avventiziale, portando a una distribuzione meno localizzata rispetto a quanto atteso nelle prime fasi del processo aterogeno.

Per questo motivo sono stati considerati due valori più elevati del coefficiente di rimozione, aumentando K_{macro} di due ordini di grandezza. In Figura 4.24 sono riportati i profili ottenuti per $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-3}\,\text{s}^{-1}$ e $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-2}\,\text{s}^{-1}$.

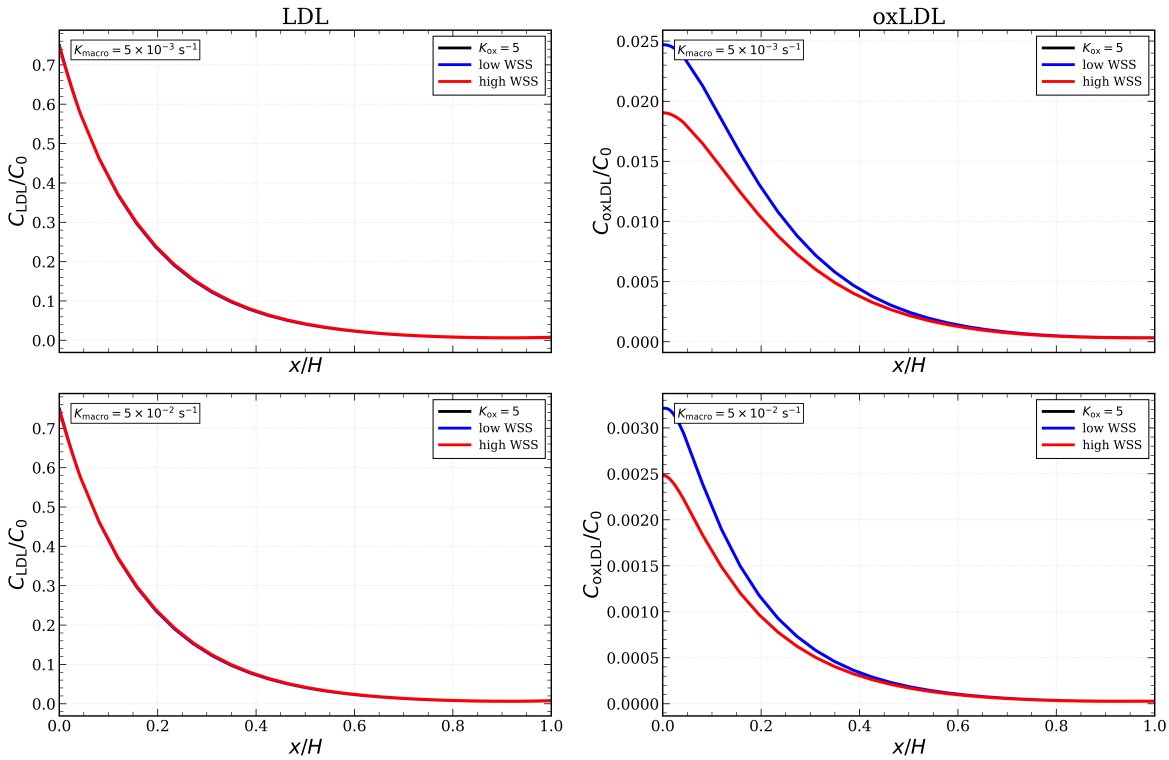


Figura 4.24: Confronto dei profili transmurali normalizzati di LDL e oxLDL per $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-3}\,\text{s}^{-1}$ e $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-2}\,\text{s}^{-1}$.

In questo secondo confronto si osserva che la concentrazione di oxLDL tende ad annullarsi nella regione avventiziale. L'aumento di K_{macro} rende quindi la rimozione della specie ossidata più efficace e porta a una distribuzione maggiormente confinata nella porzione prossimale all'intima. Questo andamento risulta più coerente con l'idea che, nelle prime fasi dell'aterogenesi, l'accumulo di oxLDL sia concentrato soprattutto vicino all'interfaccia lume-parete, dove si ha maggiore ingresso di LDL e dove avvengono i primi processi ossidativi.

Tra i due valori più elevati, è stato scelto $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-3}\,\text{s}^{-1}$. Questo valore rappresenta un compromesso adeguato: è sufficientemente alto da evitare un accumulo residuo di oxLDL nella regione avventiziale, ma rimane comunque un ordine di grandezza inferiore rispetto al caso $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-2}\,\text{s}^{-1}$, che introdurrebbe una rimozione molto più intensa.

Da questa analaisi prametrica si mette in risalto come il modello sia in grado, a parità di equazioni, di rappresentare scenari differenti: valori più bassi di K_{macro} descrivono una condizione in cui la rimozione delle oxLDL è meno efficace e la specie ossidata tende a diffondere più in profondità nella parete, mentre valori più elevati rappresentano una risposta macrofagica più intensa. In questo senso, il modello non restituisce un unico comportamento possibile, ma permette di esplorare diverse condizioni locali

della parete arteriosa attraverso la calibrazione dei parametri.

4.3.3 Contributo τ_{50}

Fissato il valore di K_{macro}, è stato studiato l'effetto del parametro τ_{50} sulla risposta redox e sulla formazione di oxLDL. Sono state considerate tre configurazioni, corrispondenti a $\tau_{50} = 1\,\text{Pa}$, $\tau_{50} = 1.5\,\text{Pa}$ e $\tau_{50} = 2\,\text{Pa}$. Sulla base dell'analisi precedente,è stato fissato $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-3}\,\text{s}^{-1}$, in quanto permette di ottenere una distribuzione di oxLDL confinata nella porzione più interna della parete, senza accumulo residuo significativo nella regione avventiziale.

Per questa analisi è stato inoltre assunto $K_{\text{ox}} = 5\,\text{m}^3\,\text{mol}^{-1}\,\text{s}^{-1}$. Il valore più basso precedentemente considerato, pari a $K_{\text{ox}} = 0.5\,\text{m}^3\,\text{mol}^{-1}\,\text{s}^{-1}$, produce infatti concentrazioni di oxLDL molto ridotte, poco utili per evidenziare le differenze causate dalle diverse scelte parametriche.

Nel caso $\tau_{50} = 1\,\text{Pa}$, riportato in Figura 4.25, il modello mostra una risposta redox più marcata nelle regioni a basso WSS. In queste zone la produzione di NO risulta più limitata, di conseguenza la concentrazione di ROS rimane più elevata. Da questo ne deriva che la formazione di oxLDL è più evidente nelle regioni a bassoWSS. La distribuzione delle LDL, invece, presenta variazioni più contenute.

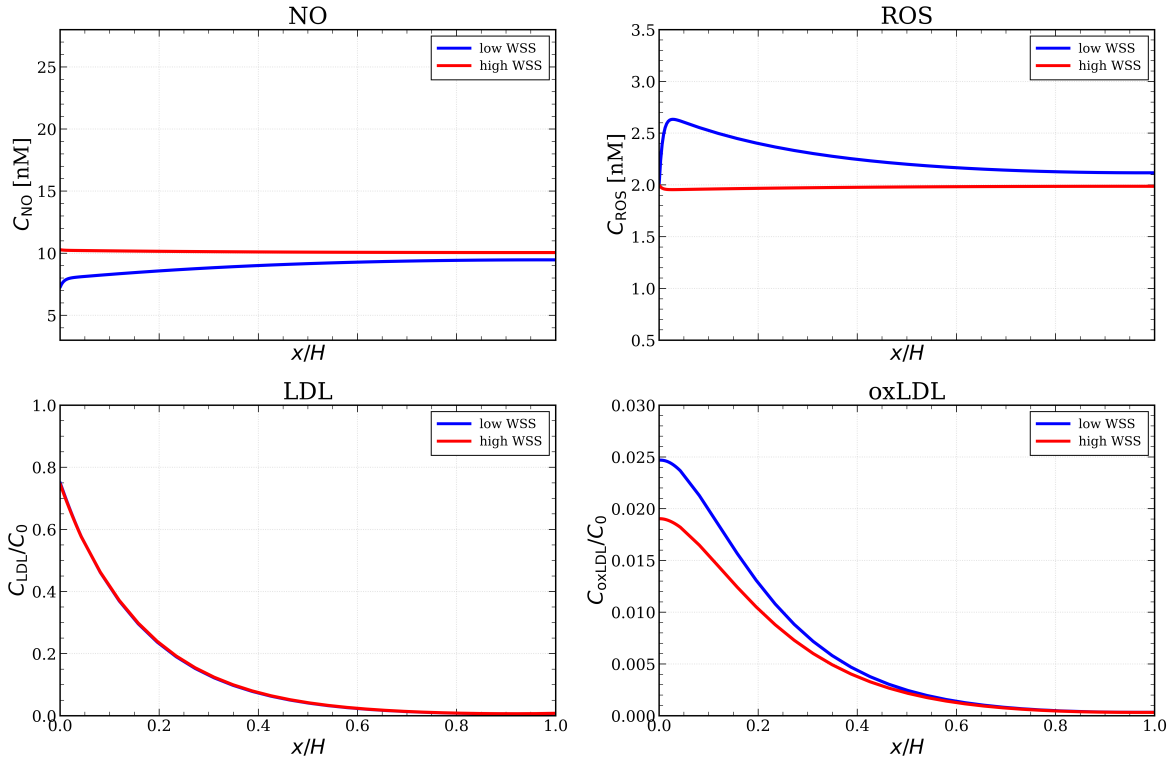


Figura 4.25: Profili transmurali di NO, ROS, LDL e oxLDL per $\gamma = 0.75$, $\tau_{50} = 1\,\text{Pa}$, $K_{\text{macro}} = 5 \times 10^{-3}\,\text{s}^{-1}$ e $K_{\text{ox}} = 5\,\text{m}^3\,\text{mol}^{-1}\,\text{s}^{-1}$.

Per $\tau_{50} = 1.5, \mathrm{Pa}$, riportato in Figura 4.26, si osserva una modifica della risposta del sistema NO–ROS. L'aumento di τ_{50} sposta la funzione shear-dipendente verso valori più elevati di WSS, determinando una maggiore produzione di NO nelle regioni ad alto WSS e, di conseguenza, una riduzione locale di ROS. Questo comportamento si riflette sulla distribuzione delle oxLDL, che risultano più elevate nelle zone a basso WSS e più contenute in quelle ad alto WSS. Inoltre, nelle regioni a basso WSS i profili di LDL appaiono leggermente più ristretti e con valori più bassi, coerentemente con un maggiore consumo di LDL dovuto alla loro conversione in oxLDL.

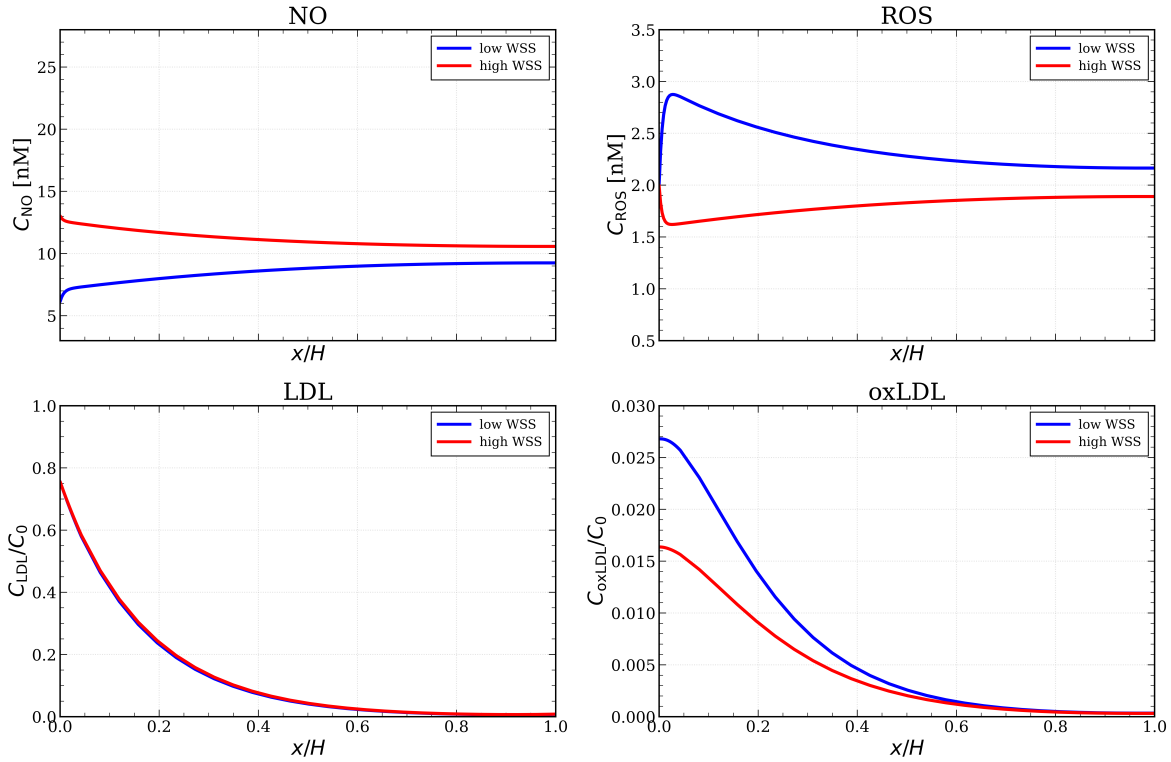


Figura 4.26: Profili transmurali di NO, ROS, LDL e oxLDL per $\gamma = 0.75$, $\tau_{50} = 1.5\,\mathrm{Pa}$, $K_{\mathrm{macro}} = 5 \times 10^{-3}\,\mathrm{s}^{-1}$ e $K_{\mathrm{ox}} = 5\,\mathrm{m}^3\,\mathrm{mol}^{-1}\,\mathrm{s}^{-1}$.

L'effetto risulta ancora più marcato per $\tau_{50} = 2, \mathrm{Pa}$, come mostrato in Figura 4.27. In questo caso, lo spostamento della risposta shear-dipendente accentua il contrasto tra le regioni a basso e ad alto WSS. Le oxLDL raggiungono infatti valori più elevati nelle zone a low WSS, dove la minore produzione di NO favorisce l'ambiente ossidativo, mentre risultano più contenute nelle regioni ad high WSS. Questa distribuzione si riflette anche sui profili di LDL: nelle zone a basso WSS il maggiore consumo di LDL, dovuto alla conversione in oxLDL, determina valori più ridotti, mentre nelle regioni ad alto WSS la specie risulta maggiormente preservata.

Nel complesso, il confronto tra i tre valori di τ_{50} evidenzia il ruolo di questo parametro nel modulare la risposta redox della parete. A parità di K_{macro} e K_{ox}, la

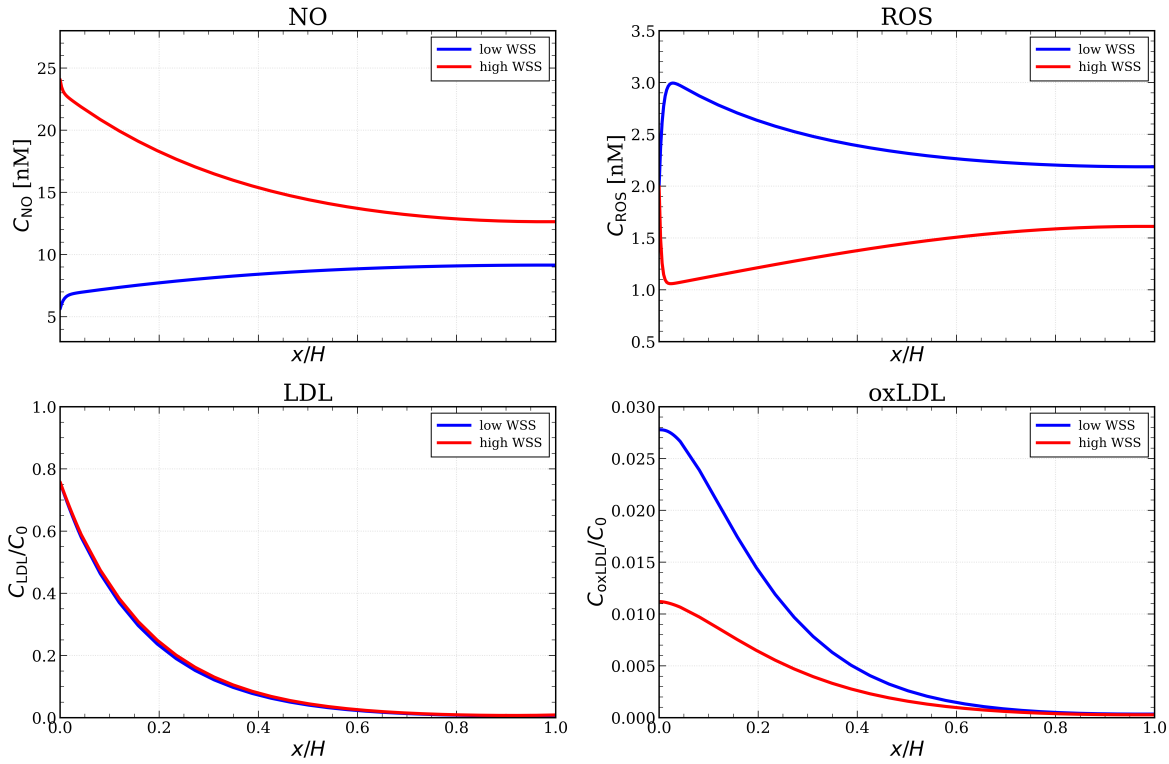


Figura 4.27: Profili transmurali di NO, ROS, LDL e oxLDL per $\gamma = 0.75$, $\tau_{50} = 2\,\mathrm{Pa}$, $K_{\mathrm{macro}} = 5 \times 10^{-3}\,\mathrm{s}^{-1}$ e $K_{\mathrm{ox}} = 5\,\mathrm{m}^3\,\mathrm{mol}^{-1}\,\mathrm{s}^{-1}$.

variazione di τ_{50} modifica il bilancio locale tra NO e ROS, influenzando direttamente la conversione delle LDL in oxLDL.

4.3.4 Percentuale lipidica ossidata

Per quantificare l'effetto di τ_{50} sulla componente lipidica, è stata calcolata la percentuale di oxLDL accumulata rispetto al contenuto lipidico totale nella parete:

$$\mathrm{oxLDL}_{\mathrm{acc}}[\%] = 100\,\frac{\int C_{\mathrm{oxLDL}}(x)\,dx}{\int C_{\mathrm{LDL}}(x)\,dx + \int C_{\mathrm{oxLDL}}(x)\,dx}. \tag{4.1}$$

I risultati, riportati in Figura 4.28, mostrano che l'aumento di τ_{50} riduce la percentuale di oxLDL accumulata per entrambi i valori di K_{ox}. La riduzione è più evidente per $K_{\mathrm{ox}} = 5$, cioè quando il termine di ossidazione è più intenso. Tale andamento è coerente con i profili transmurali: una maggiore biodisponibilità di NO riduce la concentrazione di ROS e limita la conversione delle LDL native in oxLDL.

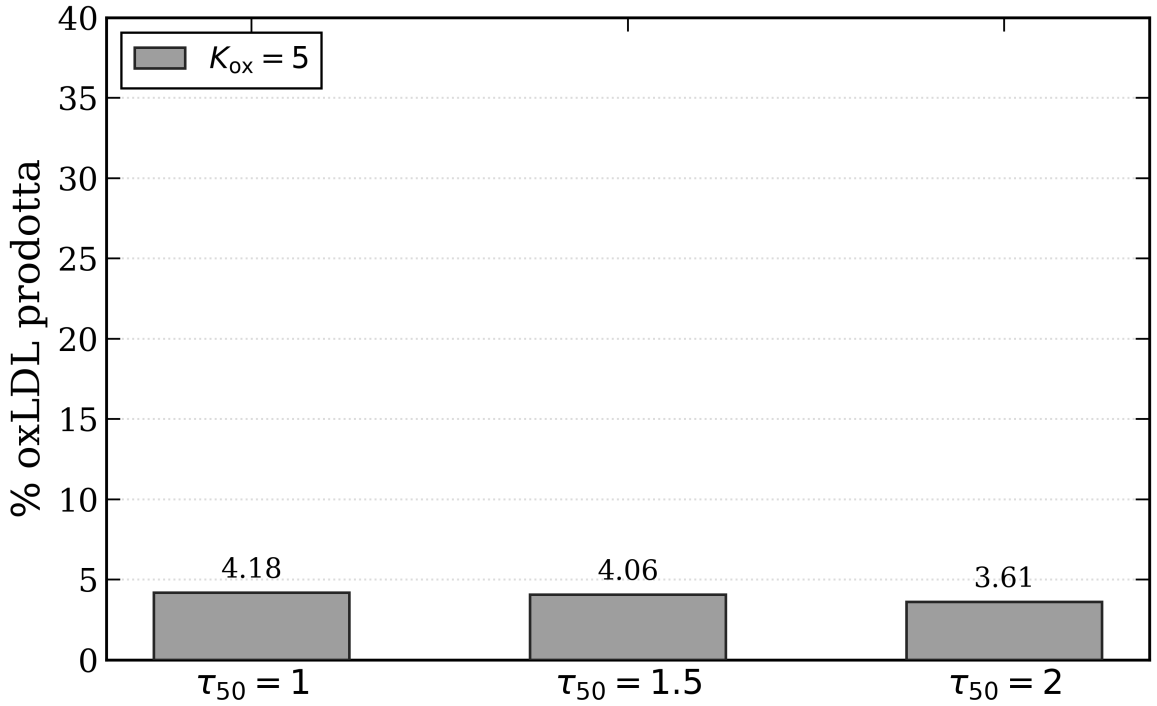


Figura 4.28: Percentuale di oxLDL accumulata nella parete al variare di τ_{50}, per $K_{ox} = 0.5$ e $K_{ox} = 5$.

4.4 Confrontro tra V_w e Kk

Dopo aver definito il set di parametri da utilizzare nelle simulazioni, si analizza la distribuzione spaziale delle principali specie scalari lungo la parete arteriosa. In questa prima parte si considera il modello basato sulla permeabilità endoteliale V_w, confrontando il caso con parametri costanti con quello in cui i parametri sono aumentati in funzione dello shear stress.

Si riportano innanzitutto le distribuzioni di NO e ROS, mostrate in Figura 4.29.

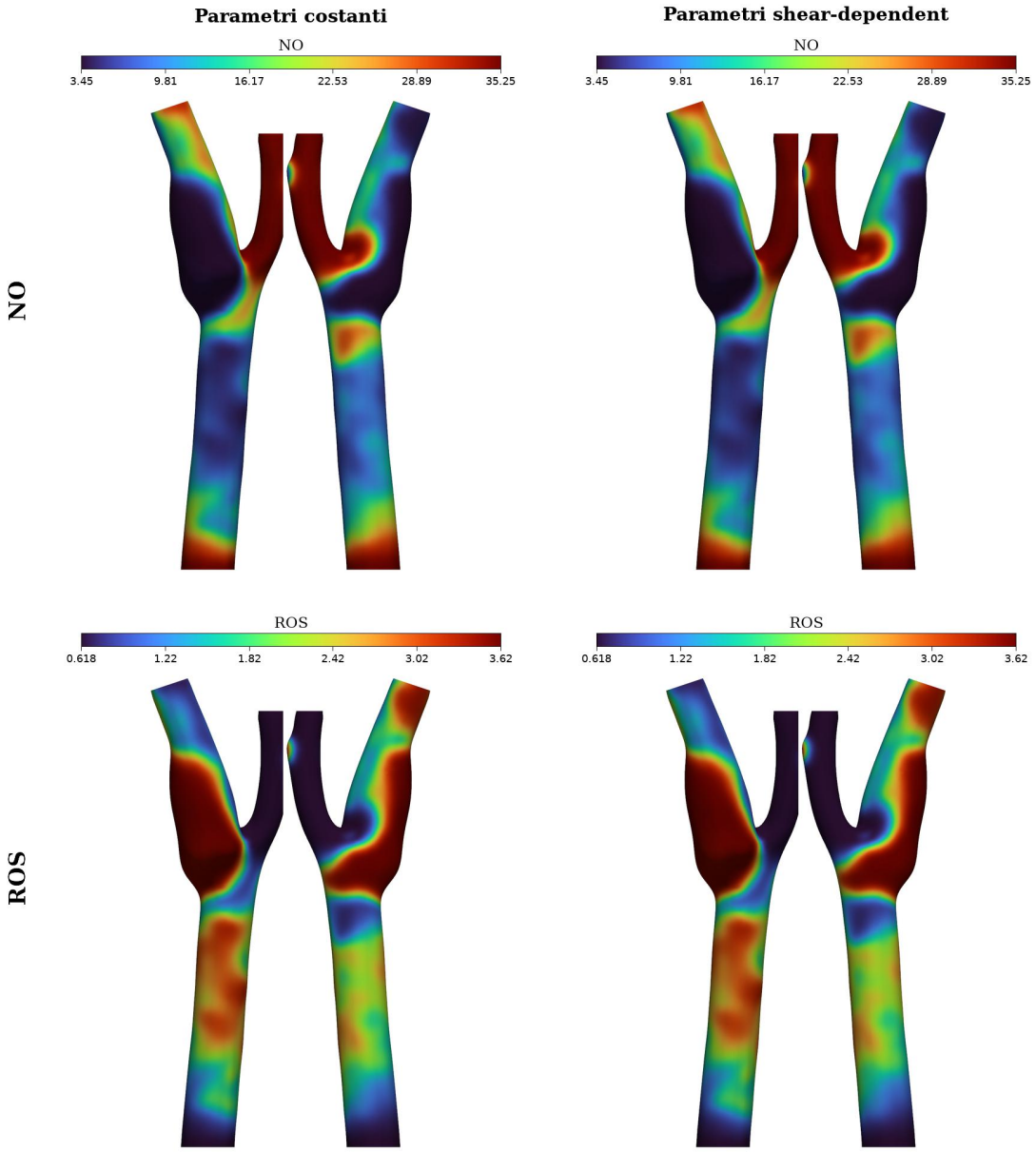


Figura 4.29: Distribuzione spaziale di NO e ROS per il modello con permeabilità endoteliale V_w.

Per il NO è stato considerato il nodo 0 del dominio monodimensionale della parete, corrispondente all'interfaccia lume–parete, mentre per le ROS è stato considerato il nodo 9, in corrispondenza della posizione in cui la concentrazione risulta massima nel dominio 1D.

Successivamente si analizzano le distribuzioni di LDL e oxLDL, riportate in Figura 4.30.

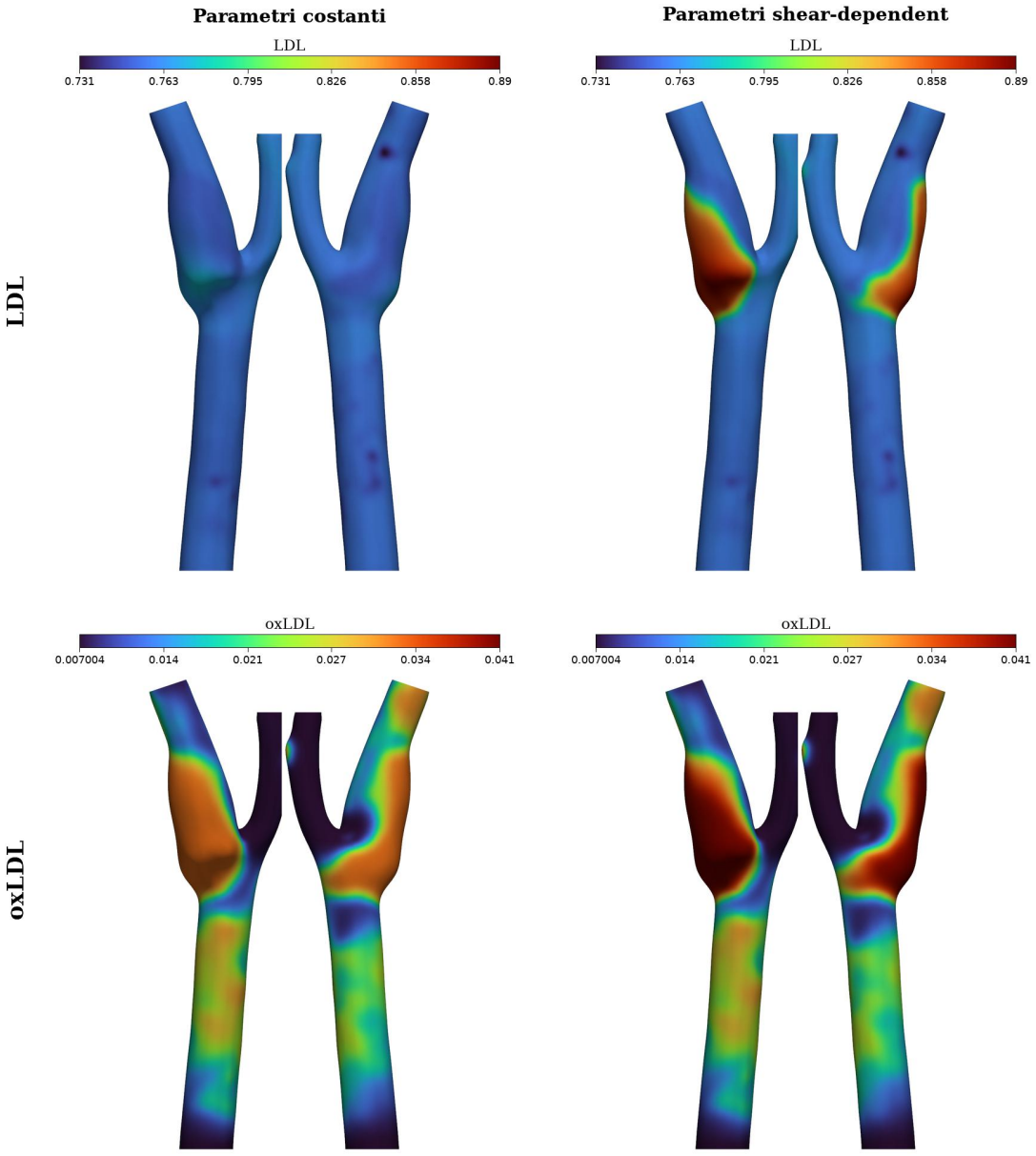


Figura 4.30: Distribuzione spaziale di LDL e oxLDL per il modello con permeabilità endoteliale V_w.

In questo caso entrambe le specie sono state valutate al nodo 0 del dominio monodimensionale, così da descrivere il comportamento locale in corrispondenza dell'interfac-

cia lume–parete. La concentrazione di oxLDL è rappresentata in forma normalizzata rispetto alla concentrazione di riferimento C_0 delle LDL, pari a $2.86 \times 10^{-9}\,\mathrm{mol/m^3}$.

Le stesse analisi sono state quindi ripetute anche per il modello di Kedem–Katchalsky. In Figura 4.31 sono riportate le distribuzioni spaziali di NO e ROS, mentre in figura 4.32 sono riportate le distribuzioni di LDL e oxLDL.

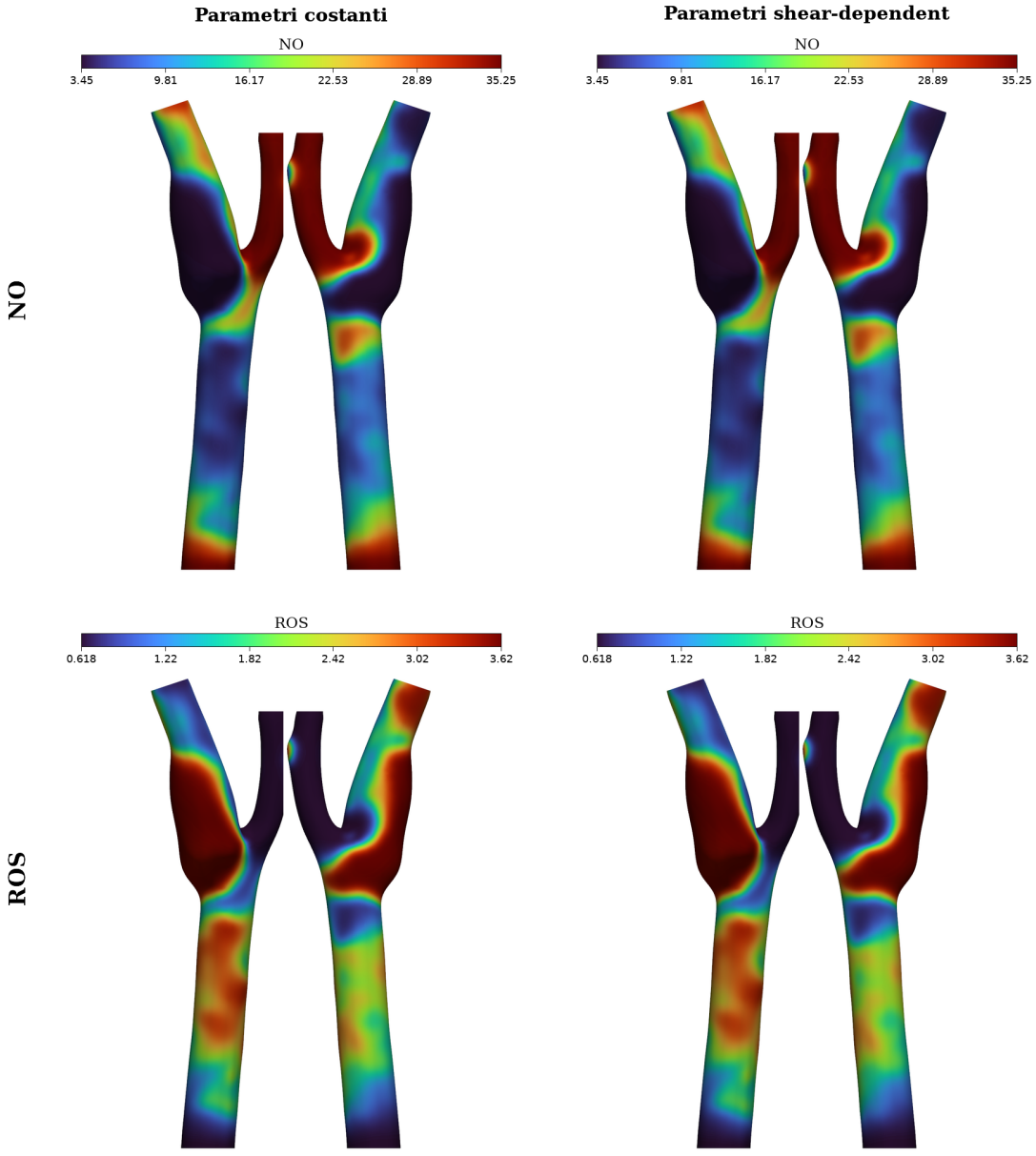


Figura 4.31: Distribuzione spaziale di NO e ROS per il modello di Kedem–Katchalsky. Sono confrontati il caso con parametri costanti e quello con parametro τ aumentato.

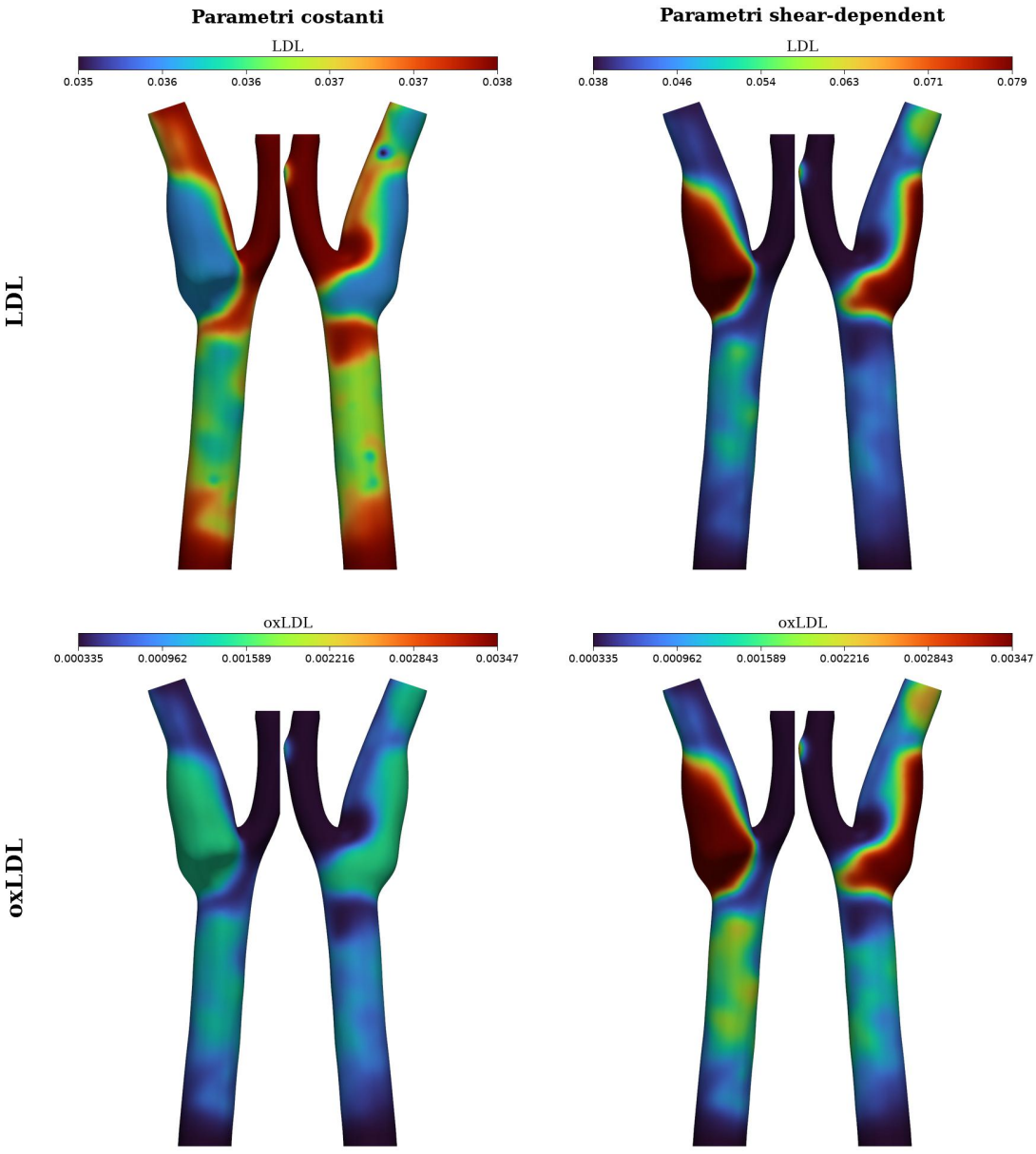


Figura 4.32: Distribuzione spaziale di LDL e oxLDL per il modello di Kedem–Katchalsky. Le mappe di oxLDL sono riportate in forma normalizzata rispetto alla concentrazione di riferimento C_0 delle LDL.

Per approfondire ulteriormente il confronto tra i due modelli di trasporto, in figura 4.33 sono stati analizzati e confrontati il 90° percentile di oxLDL nei 4 casi.

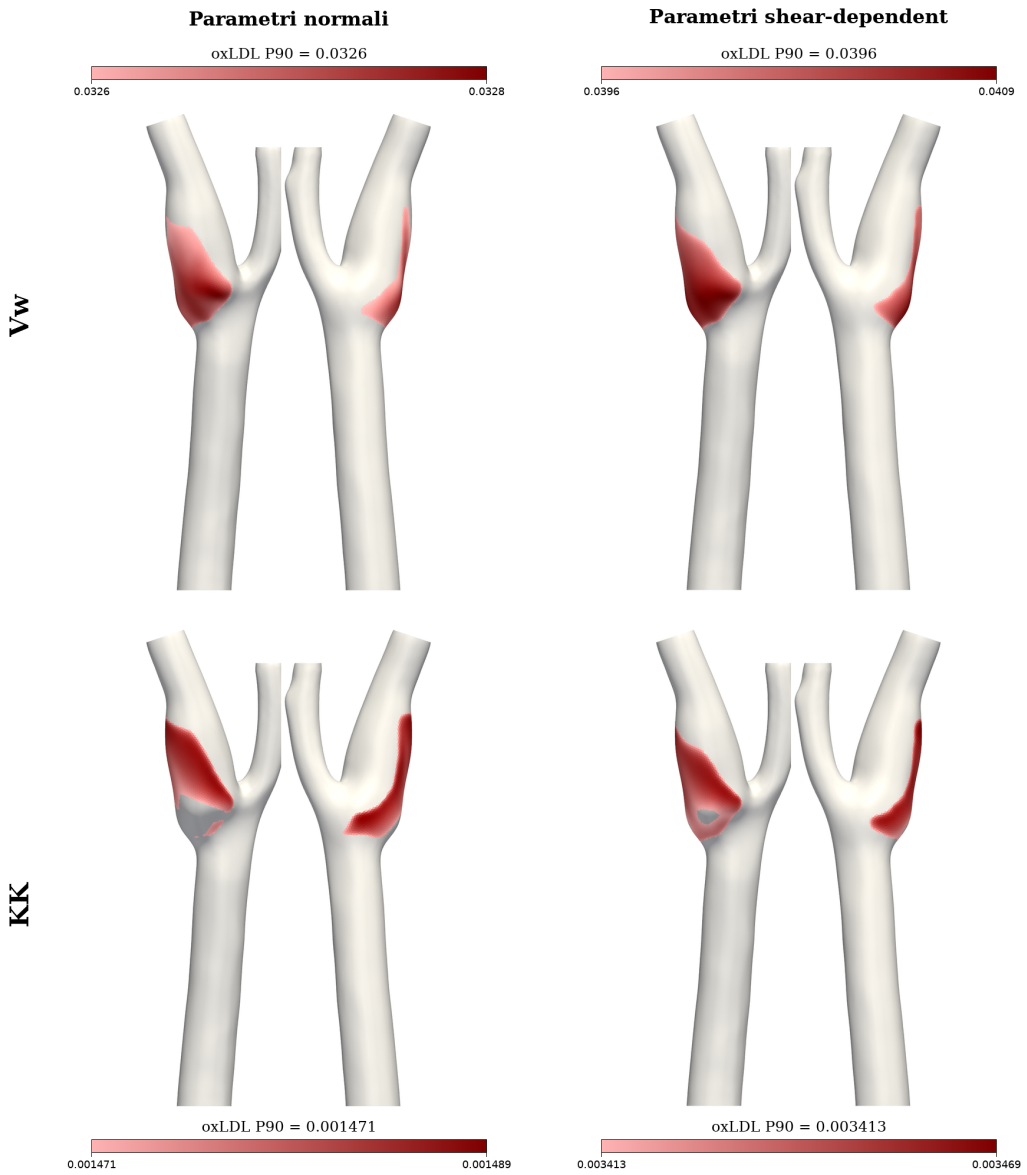


Figura 4.33: Distribuzione spaziale delle regioni appartenenti al 90° percentile di oxLDL normalizzata rispetto a C_0 nei quattro casi analizzati.

Il confronto tra la formulazione basata sulla velocità di filtrazione V_w e il modello di Kedem–Katchalsky è stato effettuato a parità di parametri. In Figura 4.34 sono riportati i profili transmurali di LDL ottenuti con i due modelli. Si osserva come, per entrambi i casi, i profili seguono lo stesso trend, ovvero concentrazione è massima vicino all'interfaccia lume–parete, per poi ridursi procedendo verso gli strati più profondi della parete.

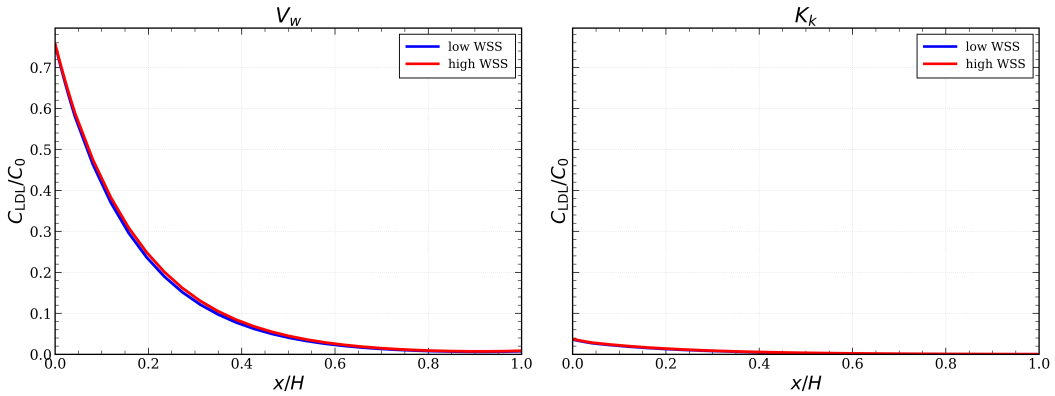


Figura 4.34: Profili transmurali normalizzati di LDL ottenuti con la formulazione basata su V_w e con il modello di Kedem–Katchalsky, a parità di parametri ($K_{ox} = 5$, $K_{macro} = 5 \times 10^{-3}$, $\tau_{50} = 2$). Le curve distinguono le regioni a basso e alto WSS.

La differenza principale riguarda la quantità di LDL che penetra nella parete. Con la formulazione V_w l'ingresso delle LDL nella parete è governato da una velocità efficace di filtrazione, per cui il trasferimento dal lume al dominio murale risulta più diretto, mentre nel modello di Kedem–Katchalsky il passaggio attraverso l'endotelio è regolato da una condizione di membrana semipermeabile, per cui la quantità di lipidi che entra è nettamente inferiore rispetto al primo caso.

Un andamento analogo si osserva per la oxLDL, riportata in Figura 4.35. La specie ossidata rimane concentrata nella porzione più vicina al lume e decade rapidamente lungo la direzione transmurale. Anche in questo caso, però, l'intensità dei profili cambia in modo netto tra le due formulazioni: il modello V_w porta a valori più elevati, mentre nel caso Kedem–Katchalsky la oxLDL resta su livelli molto più bassi.

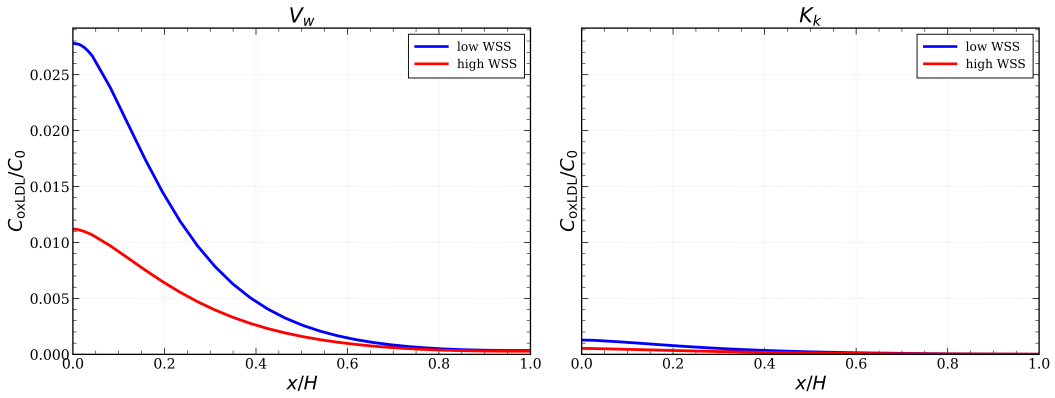


Figura 4.35: Profili transmurali normalizzati di oxLDL ottenuti con la formulazione basata su V_w e con il modello di Kedem–Katchalsky, a parità di parametri ($K_{ox} = 5$, $K_{macro} = 5 \times 10^{-3}$, $\tau_{50} = 2$). Le curve distinguono le regioni a basso e alto WSS.

Per confrontare la distribuzione spaziale della oxLDL sono state considerate le regioni appartenenti al 90° percentile della concentrazione normalizzata rispetto a C_0. L'o-

verlap è stato valutato sia visivamente, tramite patch e contorni, sia quantitativamente mediante l'indice di similarità.

In Figura 4.36 è riportato il confronto tra caso con parametri coostante normale e caso con parametri aumentati con WSS, separatamente per i due modelli. La patch blu indica il caso normale, mentre il contorno nero indica il caso aumentato.

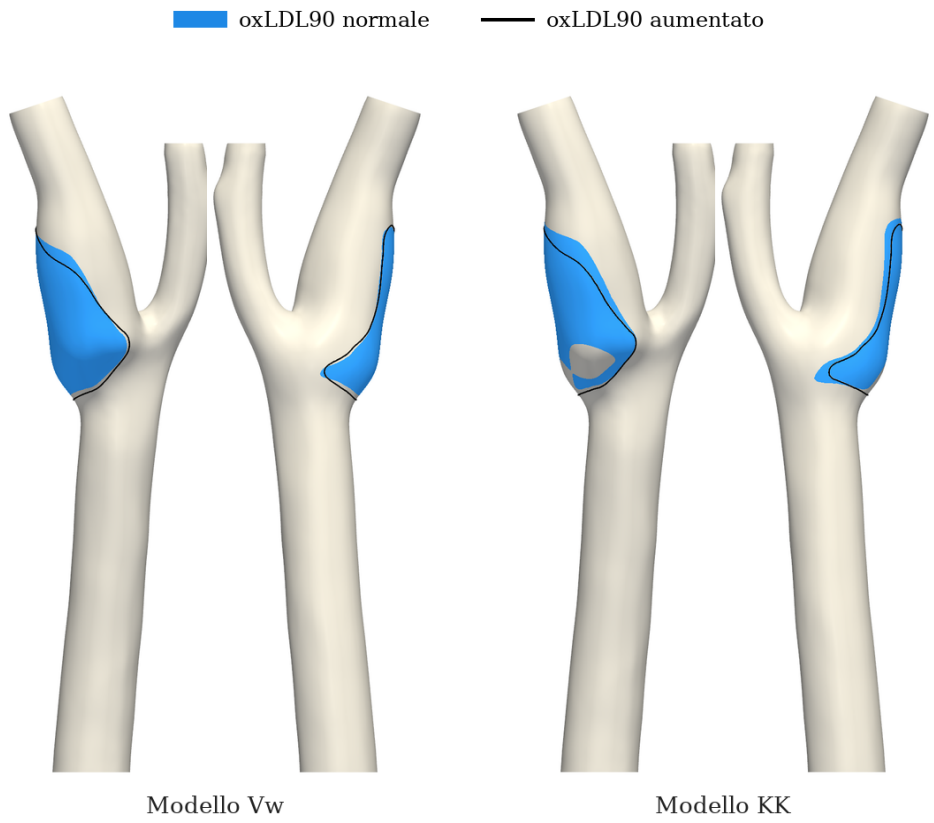


Figura 4.36: Overlap delle regioni ad alta concentrazione di oxLDL nel confronto tra caso a parametri normali e caso a parametri aumentati. La patch blu rappresenta il caso normale, il contorno nero il caso aumentato.

In Figura 4.37 è mostrato invece il confronto tra il modello V_w e il modello Kedem–Katchalsky, sia nel caso a parametri costanti sia nel caso a parametri aumentati. In questo caso la patch blu rappresenta il modello V_w, mentre il contorno nero rappresenta il modello Kedem–Katchalsky.

Gli indici di similarità riportati in Tabella 4.1 confermano una buona sovrapposizione tra le regioni individuate. Il valore più alto si osserva nel confronto tra V_w e Kedem–Katchalsky nel caso aumentato, mentre la minore sovrapposizione si ha tra caso normale e aumentato nel modello Kedem–Katchalsky.

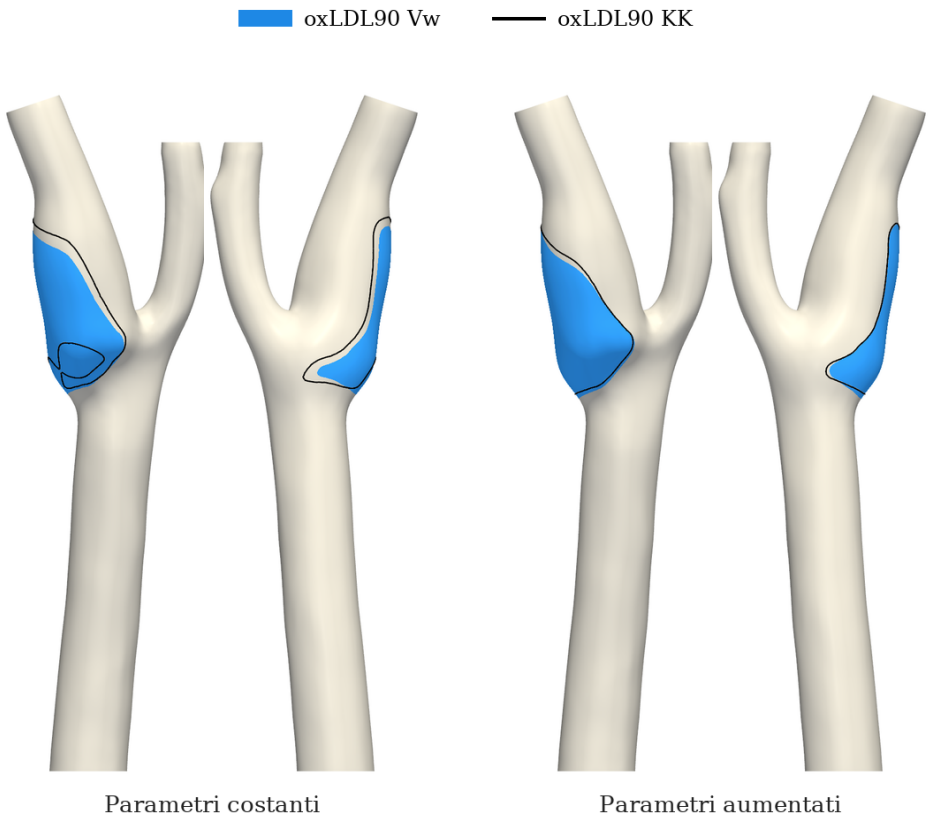


Figura 4.37: Overlap delle regioni ad alta concentrazione di oxLDL tra il modello V_w e il modello Kedem–Katchalsky. La patch blu rappresenta il modello V_w, il contorno nero il modello Kedem–Katchalsky.

Tabella 4.1: Indice di Dice area-weighted calcolato sulle regioni di oxLDL superiori al 90° percentile.

Confronto	**Dice**
V_w: normale vs aumentato	0,9533
Kedem–Katchalsky: normale vs aumentato	0,8368
Parametri normali: V_w vs Kedem–Katchalsky	0,8374
Parametri aumentati: V_w vs Kedem–Katchalsky	0,9687

4.4.1 Effetto della variazione di diffusività

Oltre alla configurazione già analizzata, caratterizzata da $\tau_{50} = 2$ e $\gamma = 0.75$, è stato considerato anche il caso con $\tau_{50} = 1$ e $\gamma = 0.65$. Questa scelta permette di confrontare condizioni parametriche più distanti tra loro, valutando sia il comportamento dei casi a parametro costante sia quello dei casi a parametro aumentato, per entrambi i modelli V_w e Kedem–Katchalsky.

Le mappe di NO e ROS sono riportate in Figura 4.38, mentre le distribuzioni di LDL e oxLDL sono mostrate in Figura 4.39. Queste figure permettono di osservare come la variazione dei parametri legati alla produzione di NO modifichi l'intensità delle specie nella parete, mantenendo però una distribuzione spaziale complessivamente simile nelle diverse configurazioni.

Successivamente è stata introdotta un'ulteriore ipotesi modellistica. Si assume che, a seguito di un possibile rimodellamento locale del tessuto, alcune regioni della parete possano essere caratterizzate da una diffusività maggiore per le LDL. L'obiettivo non è descrivere direttamente l'evoluzione meccanica della parete, ma valutare quanto la posizione degli hotspot lipidici cambi se l'aumento di diffusività viene imposto in zone diverse.

Sono stati quindi considerati due casi. Nel caso 1 l'aumento della diffusività è stato applicato nelle regioni pericolose, cioè nelle zone in cui, nella configurazione di riferimento, si osservano valori elevati di LDL. Nel caso 2, invece, lo stesso aumento è stato applicato in regioni non pericolose, cioè in zone che nella configurazione di riferimento non presentano un'elevata concentrazione di LDL. In questo modo è possibile distinguere l'effetto di un rimodellamento localizzato in aree già critiche da quello di un rimodellamento imposto in aree inizialmente meno coinvolte.

Il confronto della distribuzione di LDL è riportato in Figura 4.40, per entrambi i modelli V_w e Kedem–Katchalsky.

Per valutare se la variazione dei parametri NO-dipendenti e l'aumento locale della diffusività modifichino la posizione delle regioni maggiormente ossidate, è stata poi svolta un'analisi basata sul 90° percentile della concentrazione di oxLDL normalizzata rispetto a C_0.

Le Figure 4.41 e 4.42 mostrano, rispettivamente per il modello Kedem–Katchalsky e per il modello V_w, le regioni appartenenti a tale percentile. Il confronto permette di osservare se gli hotspot di oxLDL rimangano localizzati nelle stesse aree della biforcazione oppure se si redistribuiscano al variare delle condizioni considerate.

È stata inoltre condotta un'analisi quantitativa nelle regioni a basso e alto WSS, così da confrontare i valori medi di oxLDL/C_0 nei diversi scenari. I risultati sono

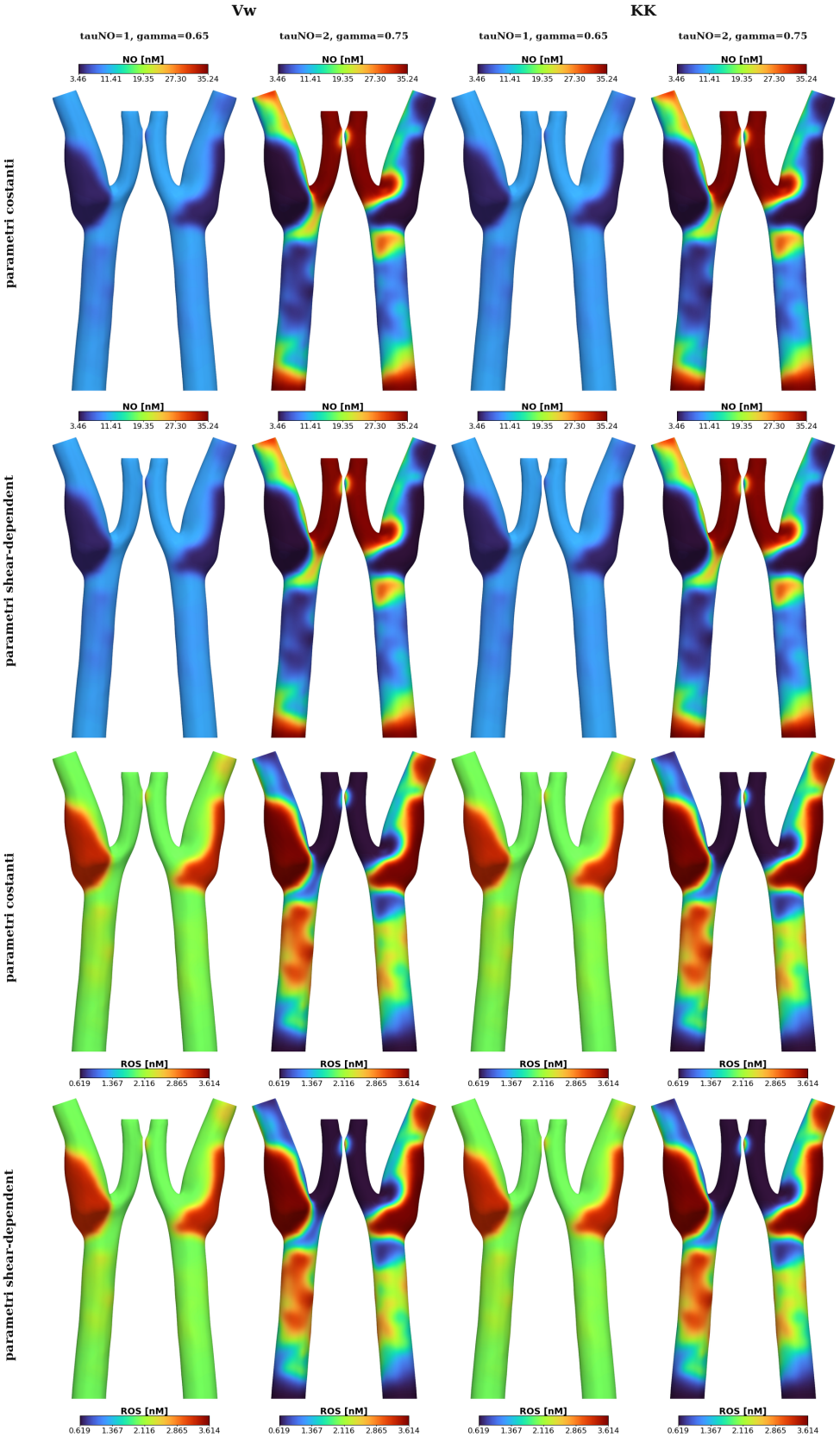


Figura 4.38: Distribuzioni di NO e ROS per i modelli V_w e Kedem–Katchalsky, confrontando le configurazioni con $\tau_{50} = 1$, $\gamma = 0.65$ e con $\tau_{50} = 2$, $\gamma = 0.75$, nei casi a parametro costante e aumentato.

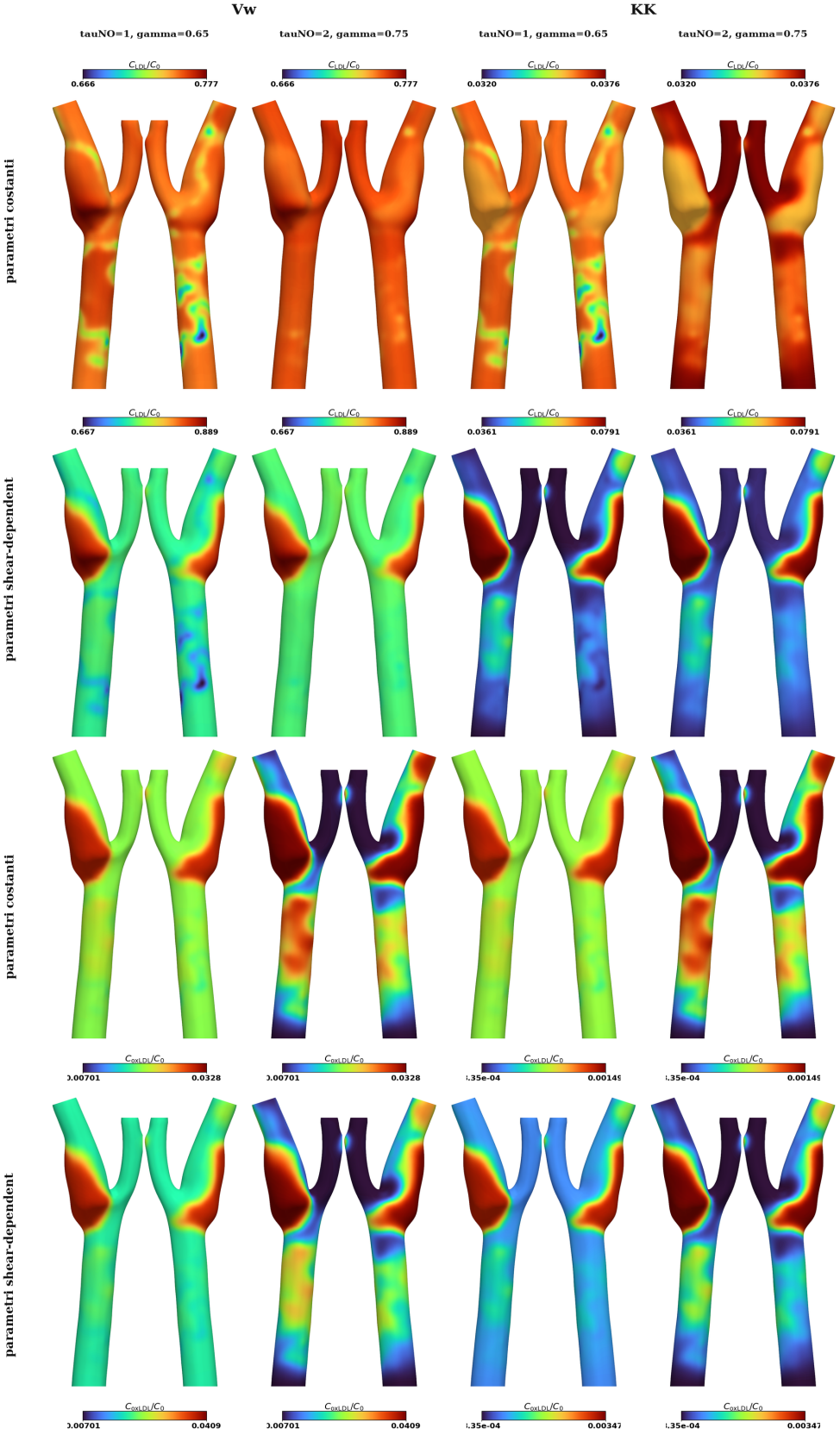


Figura 4.39: Distribuzioni di LDL e oxLDL per i modelli V_w e Kedem–Katchalsky, confrontando le configurazioni con $\tau_{50} = 1$, $\gamma = 0.65$ e con $\tau_{50} = 2$, $\gamma = 0.75$, nei casi a parametro costante e aumentato.

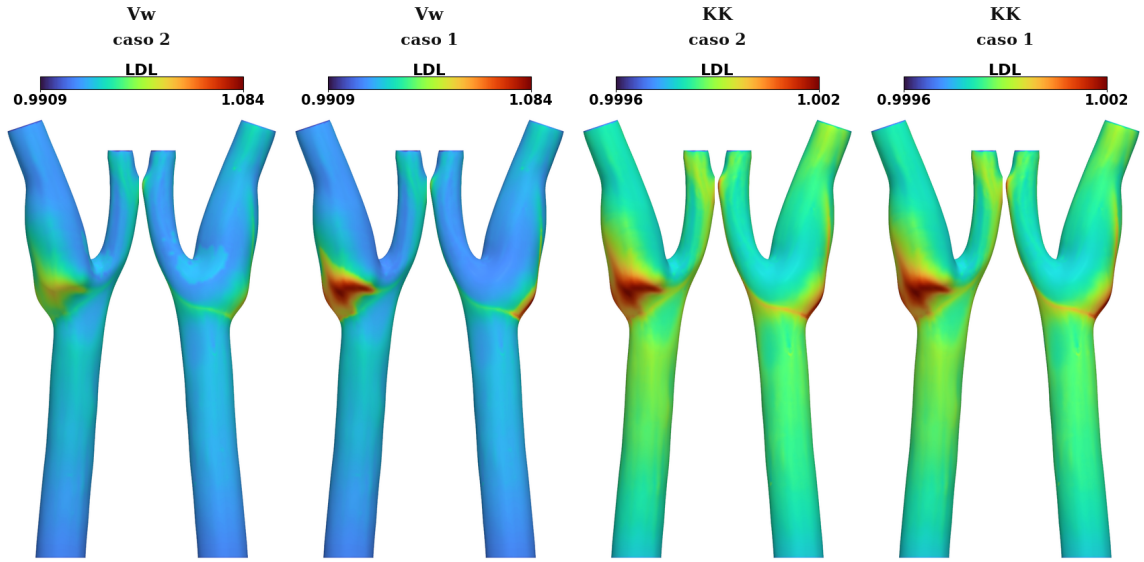


Figura 4.40: Distribuzione di LDL ottenuta dai file ASCII per i casi con regioni non pericolose e pericolose, confrontando il modello V_w e il modello Kedem–Katchalsky.

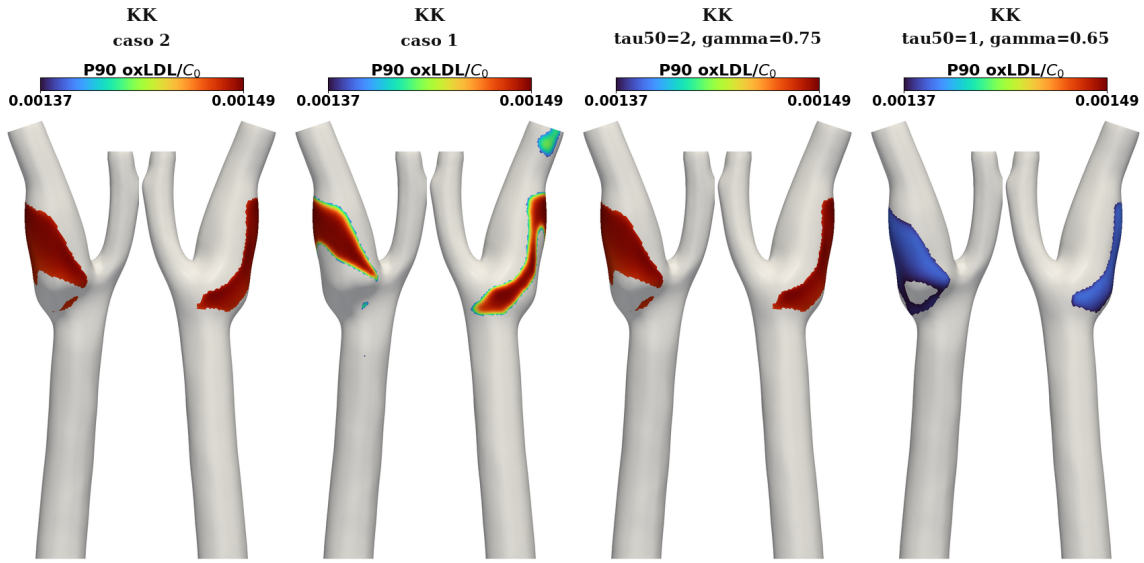


Figura 4.41: Regioni appartenenti al 90° percentile della concentrazione di oxLDL/C_0 per il modello Kedem–Katchalsky, includendo il caso con diffusività aumentata in una zona non pericolosa (caso 2), il caso con diffusività aumentata in una zona pericolosa (caso 1) e i due casi di riferimento associati ai parametri NO-dipendenti.

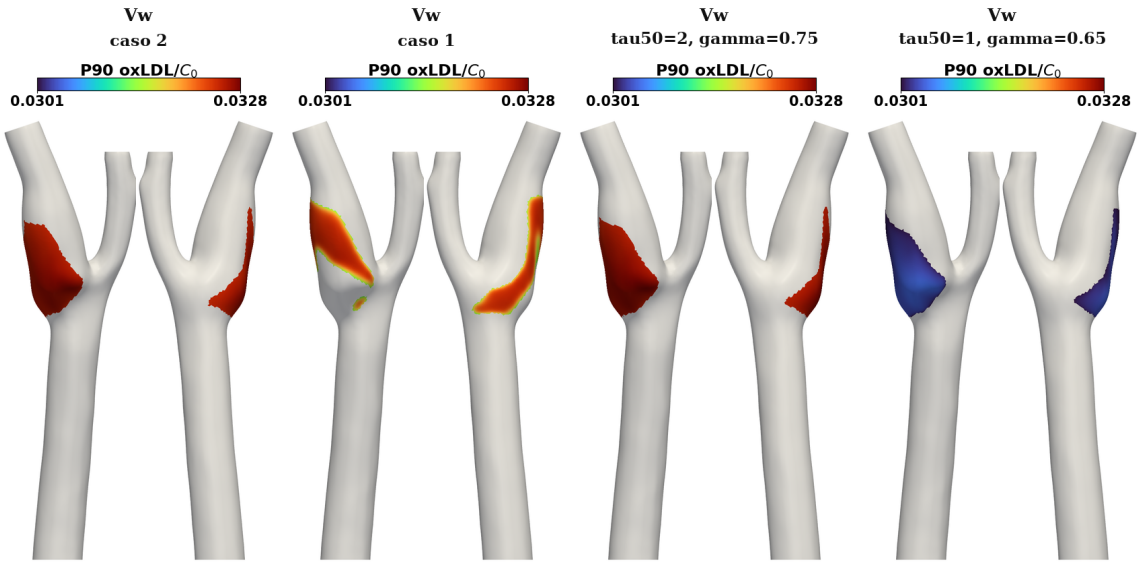


Figura 4.42: Regioni appartenenti al 90° percentile della concentrazione di oxLDL/C_0 per il modello V_w, includendo il caso con diffusività aumentata in una zona non pericolosa (caso 2), il caso con diffusività aumentata in una zona pericolosa (caso 1) e i due casi di riferimento associati ai parametri NO-dipendenti.

riportati separatamente per il modello Kedem–Katchalsky e per il modello V_w nelle Figure 4.43 e 4.44.

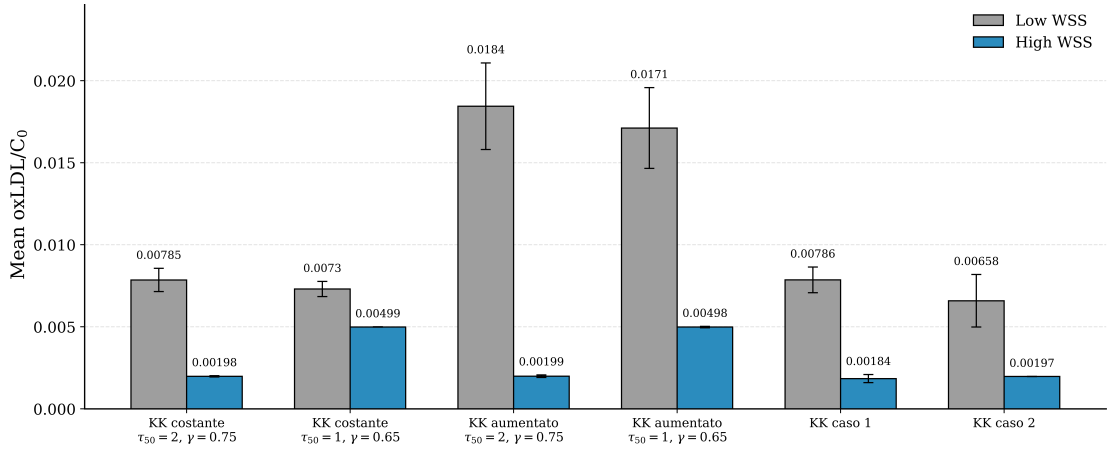


Figura 4.43: Valori medi e deviazione standard di oxLDL/C_0 nelle regioni a basso e alto WSS per il modello Kedem–Katchalsky.

Dal confronto delle mappe al 90° percentile si osserva che gli hotspot di oxLDL restano, nella maggior parte dei casi, concentrati in zone simili della biforcazione. La variazione dei parametri NO-dipendenti e l'aumento locale della diffusività non determinano quindi, in generale, uno spostamento netto delle regioni più ossidate, anche se alcuni casi mostrano una parziale redistribuzione.

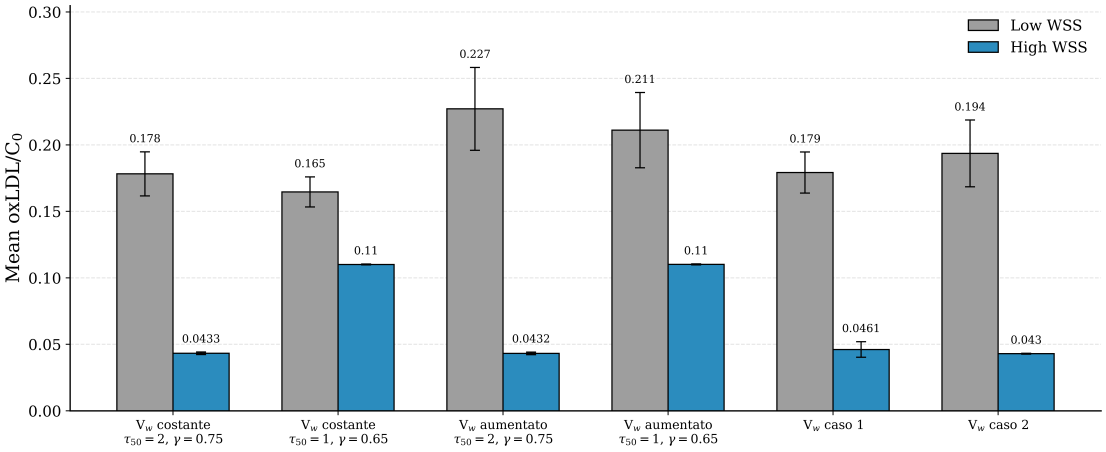


Figura 4.44: Valori medi e deviazione standard di oxLDL/C_0 nelle regioni a basso e alto WSS per il modello V_w.

Le differenze diventano più evidenti osservando i valori medi nelle regioni a basso e alto WSS. I diagrammi a barre indicano che l'intensità media di oxLDL/C_0 può cambiare anche quando la posizione degli hotspot rimane simile. Questo suggerisce che le modifiche introdotte influenzino soprattutto il livello di ossidazione nelle aree critiche, più che la loro localizzazione complessiva.

Per quantificare la sovrapposizione spaziale tra gli hotspot di oxLDL, è stato calcolato il Dice similarity index tra tutte le configurazioni analizzate. I risultati sono riportati in Figura 4.45; valori più elevati indicano una maggiore coincidenza tra le regioni appartenenti al 90º percentile.

La matrice di similarità mostra una buona sovrapposizione tra la maggior parte delle configurazioni analizzate, soprattutto nei casi basati sul modello V_w, dove gli indici di Dice rimangono in genere elevati. Questo indica che le regioni principali di accumulo di oxLDL tendono a mantenere una localizzazione simile anche variando i parametri del modello.

Il caso che si discosta maggiormente è il Kedem–Katchalsky caso 1, ovvero con diffisività aumentata in zone dove normalmente ho accumulo lipidico, che presenta valori di similarità più bassi rispetto alle altre configurazioni. La differenza potrebbe essere dovuta alla presenza di uno spot localizzato nella parte superiore della biforcazione non osservato negli altri casi. Questo risultato è interessante, ma non può essere interpretato in modo definitivo, in quanto potrebbe indicare una localizzazione particolare di oxLDL dovuta alla combinazione tra geometria e modello di trasporto, oppure essere un effetto puramente numerico. Per questo motivo, prima di attribuirgli un significato fisiopatologico preciso, andrebbe verificato con ulteriori analisi.

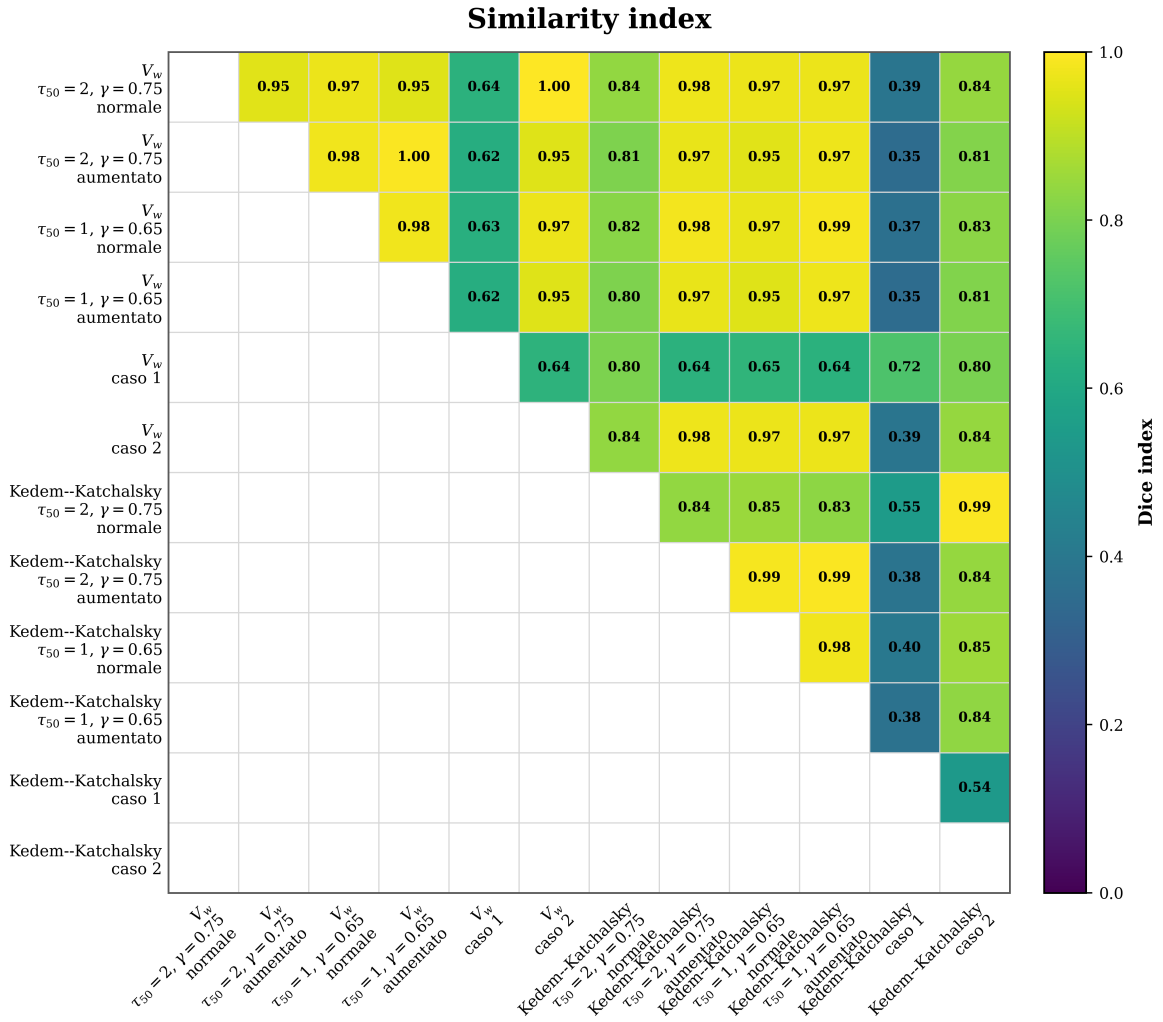


Figura 4.45: Dice similarity index calcolato tra le regioni appartenenti al 90° percentile della concentrazione di oxLDL/C_0 nei diversi casi analizzati.

Capitolo 5

Risultati su geometrie realistiche

In questo capitolo il modello viene applicato ad una geometria carotidea patient–specific, ricostruita a partire da immagini CE-MRA. Le condizioni al contorno derivano da misure di flusso acquisite mediante PC-MRI e sono descritte tramite la durata del ciclo cardiaco e i coefficienti della serie di Fourier delle forme d'onda di portata, come riportato in figura 5.1.

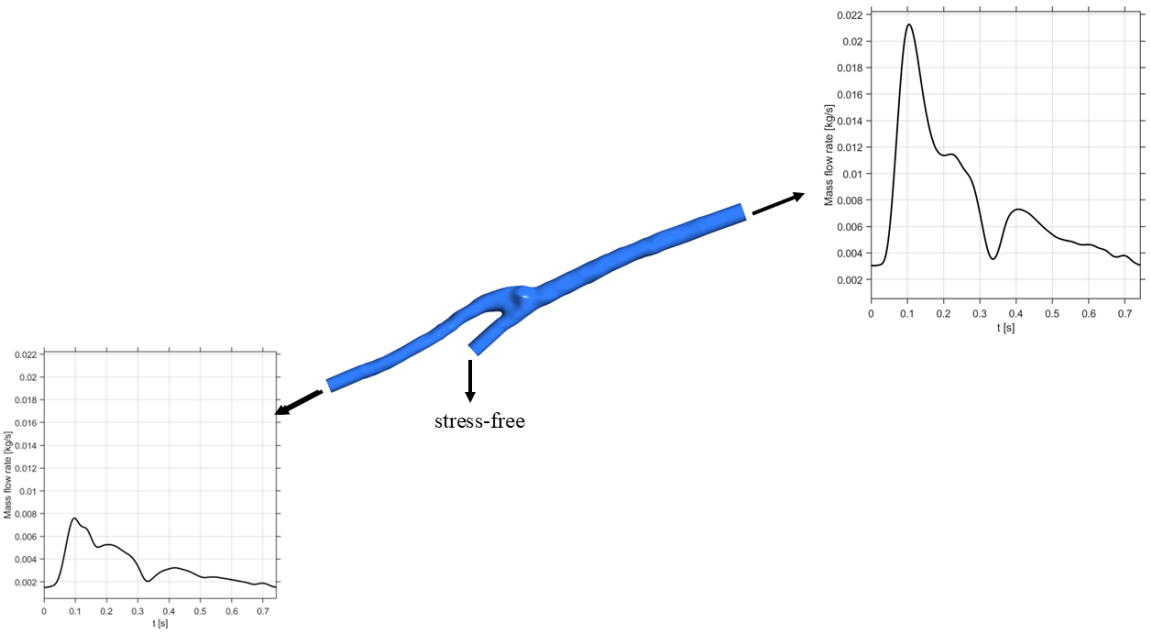


Figura 5.1: Geometria carotidea paziente-specifica e condizioni al contorno emodinamiche imposte alle sezioni di ingresso e uscita.

Nella formulazione originale, la portata nella carotide comune (CCA) viene prescritta in ingresso, mentre la forma d'onda della carotide interna (ICA) viene imposta in uscita; nella carotide esterna (ECA) viene invece assegnata una condizione stress-free.Per le simulazioni stazionarie utilizzate in questo lavoro non è stata mantenuta

la forma d'onda nel tempo: per ciascuna sezione è stata considerata la portata media sul ciclo cardiaco. La scelta delle condizioni al contorno resta quindi basata sui dati riportati in [43], ma adattata al caso stazionario.

5.1 Carotide 1

Per la prima geometria si è partiti dagli indici emodinamici di parete. In Figura 5.2 sono riportate la distribuzione del WSS e l'analisi topologica associata.

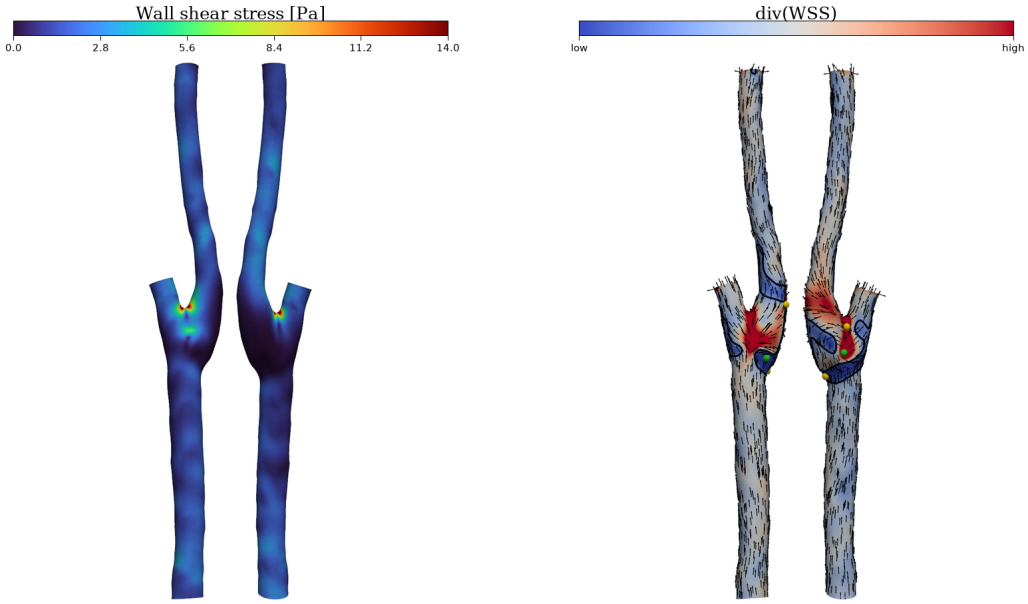


Figura 5.2: Distribuzione del WSS e analisi topologica del campo di parete nella Carotide 1.

A partire dal campo emodinamico sono state poi considerate le grandezze ottenute dal modello *free-wall*. In Figura 5.3 sono riportate la distribuzione di LDL nel lume, il numero di Sherwood e la pressione parziale di ossigeno. Queste mappe forniscono un primo riferimento sul trasporto lipidico, sullo scambio scalare alla parete e sul livello di ossigenazione locale.

L'analisi del modello accoppiato è stata quindi eseguita sui quattro casi già introdotti: permeabilità endoteliale V_w costante, permeabilità endoteliale V_w shear-dependent, modello Kedem–Katchalsky con parametri costanti e modello Kedem–Katchalsky con parametri shear-dependent. In Figura 5.4 sono mostrati i campi di NO, ROS, oxLDL/C_0 e LDL.

Dal confronto tra i quattro casi si osserva che NO e ROS conservano una distribuzione spaziale molto simile al variare del modello di trasporto. Le variazioni più evidenti

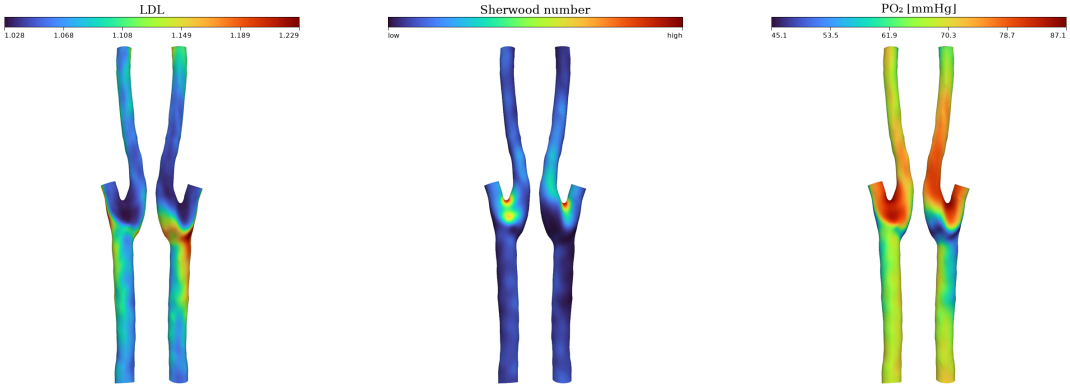


Figura 5.3: Distribuzione di LDL, numero di Sherwood e pressione parziale di ossigeno PO_2 nella Carotide 1.

riguardano invece LDL e oxLDL, la cui localizzazione cambia in modo più marcato passando dai casi basati su V_w a quelli descritti dal modello di Kedem–Katchalsky.

Per concentrare il confronto sulle porzioni più intense dei campi, le distribuzioni complete sono state rielaborate mantenendo soltanto i valori compresi tra il 90-esimo percentile e il massimo, come riportato in figura 5.5.

La rappresentazione p90-p100 permette di isolare le regioni in cui le grandezze assumono i valori più elevati, rendendo più diretto il confronto spaziale tra i diversi campi. In questo modo è possibile verificare se le zone a maggiore intensità restano localizzate nelle stesse aree oppure se si modificano al variare del modello utilizzato.

Lo stesso criterio è stato applicato alla LDL nel dominio fluido. In Figura 5.6 sono riportate le mappe complete e le corrispondenti regioni comprese tra il 90-esimo percentile e il massimo. Questo confronto è stato introdotto per mettere in relazione le aree di maggiore polarizzazione di LDL con le zone della parete in cui si osservano valori elevati di oxLDL.

Per quantificare la sovrapposizione tra queste regioni è stato calcolato l'indice di similarità di Dice, confrontando le aree a elevati valori di oxLDL con quelle a elevati valori di LDL e ROS. Indicando con A la regione p90 di oxLDL e con B la regione p90 della grandezza confrontata, l'indice è definito come:

$$D(A, B) = \frac{2\,|A \cap B|}{|A| + |B|}.$$

I valori ottenuti sono riportati in Figura 5.7.

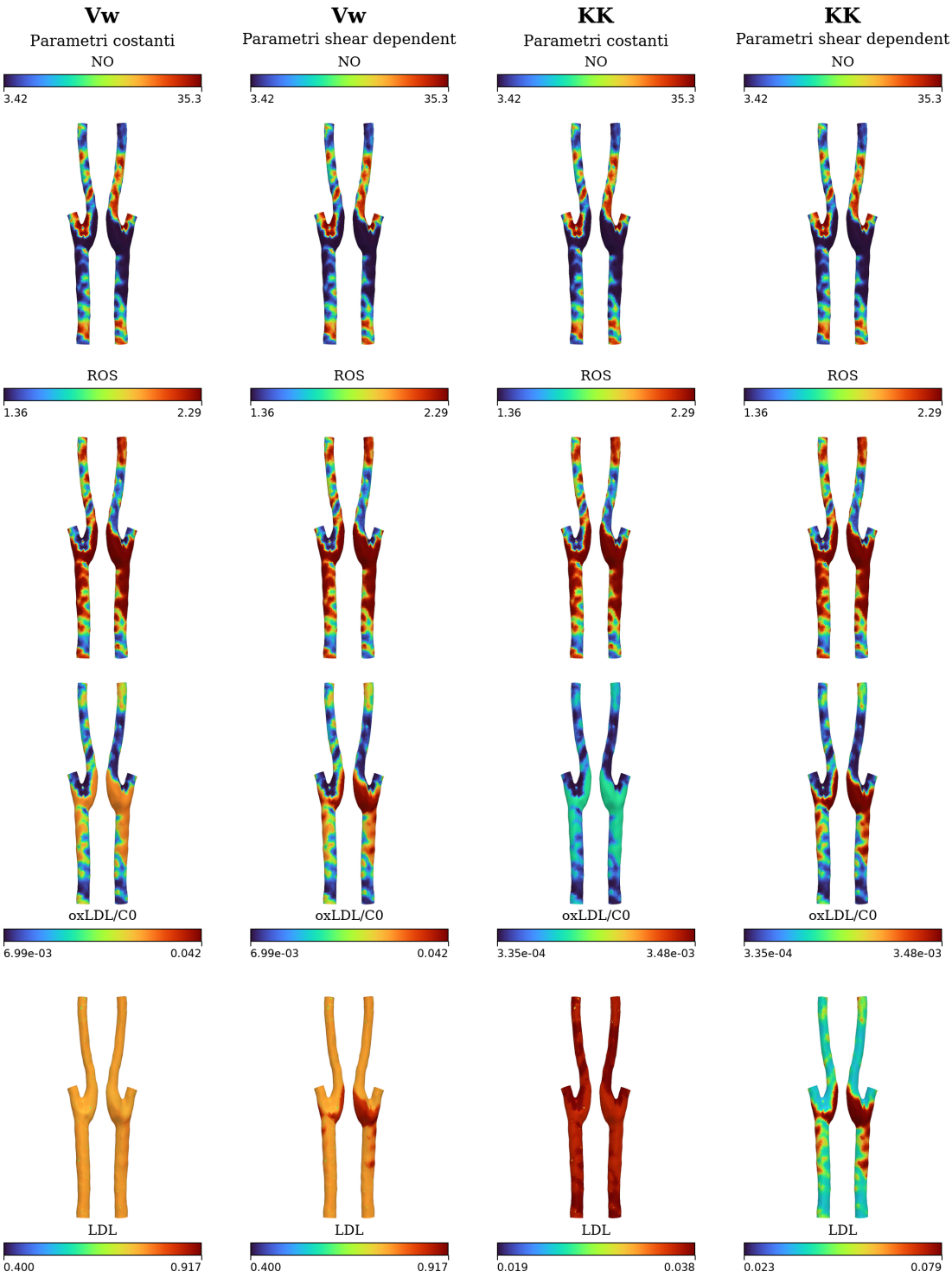


Figura 5.4: Campi di NO, ROS, oxLDL normalizzata rispetto a C_0 e LDL nei quattro casi modellistici considerati per la Carotide 1.

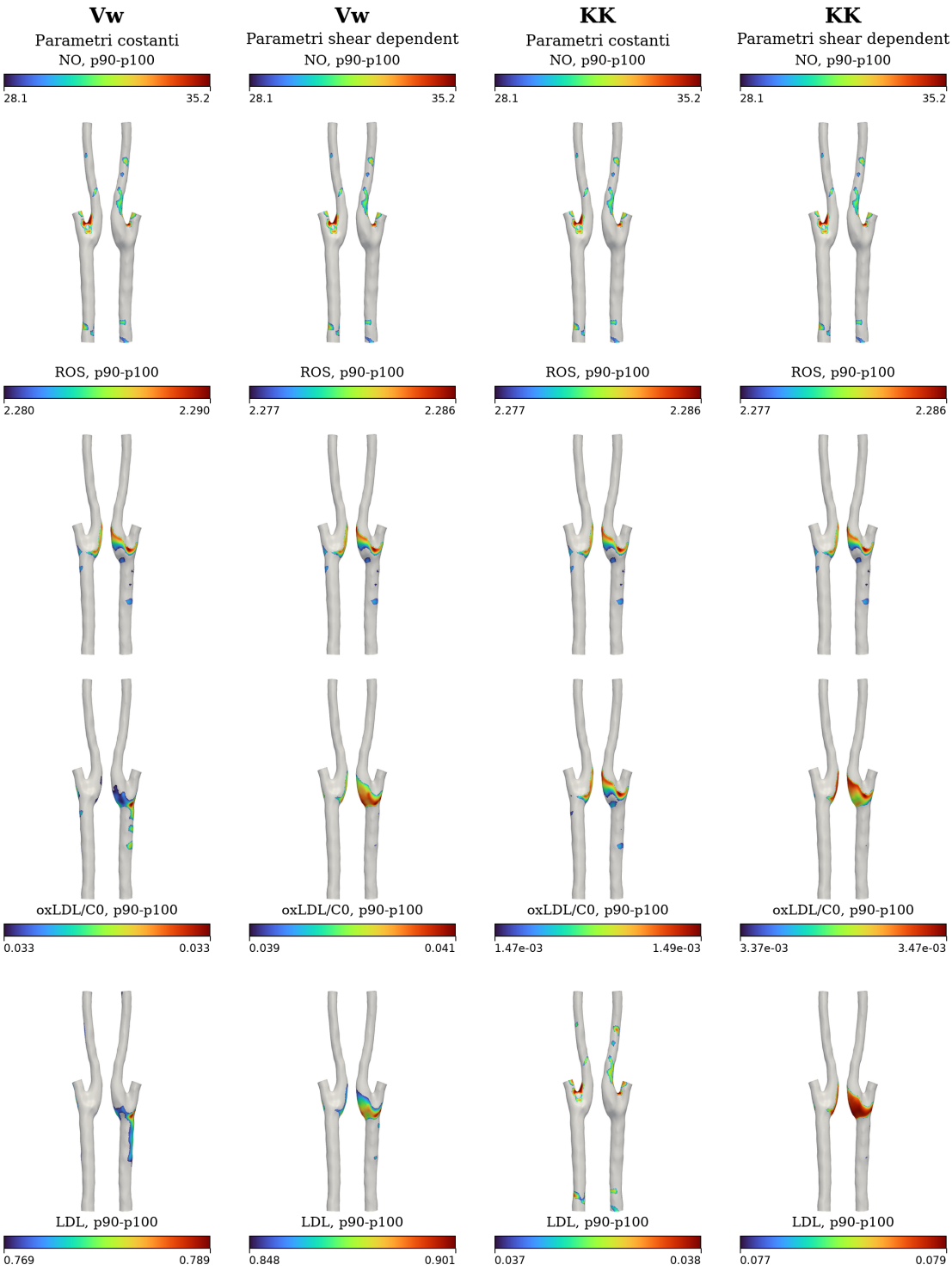


Figura 5.5: Regioni comprese tra il 90-esimo percentile e il valore massimo per NO, ROS, oxLDL/C_0 e LDL nei quattro casi modellistici della Carotide 1.

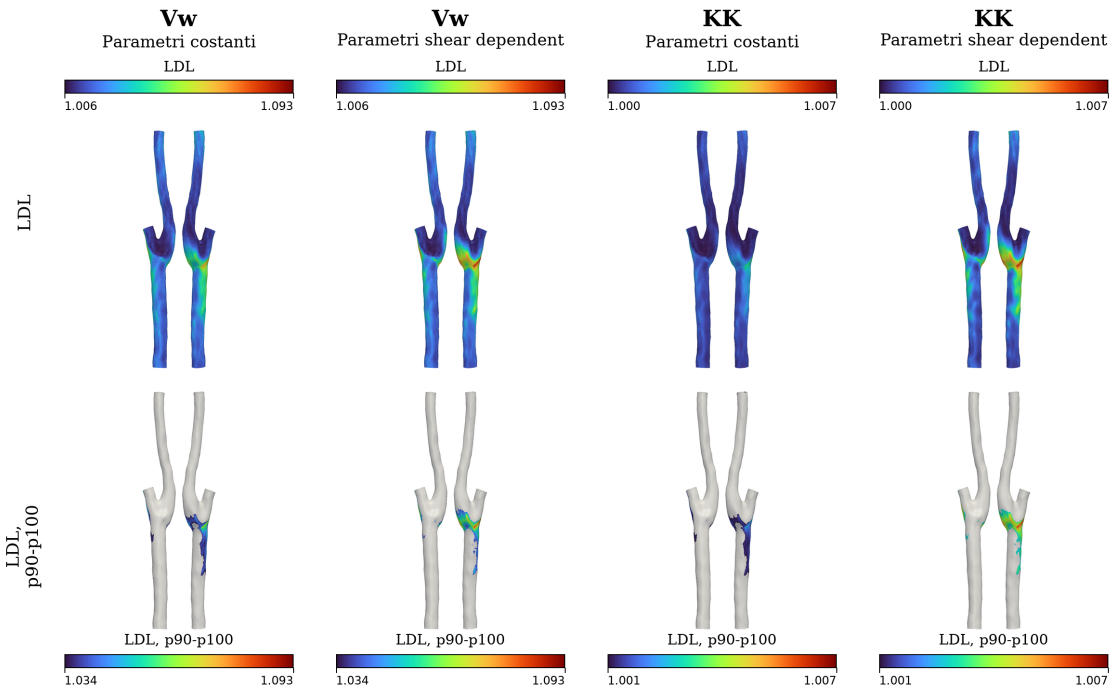


Figura 5.6: Distribuzione di LDL e regioni appartenenti al 90-esimo percentile nei quattro casi modellistici.

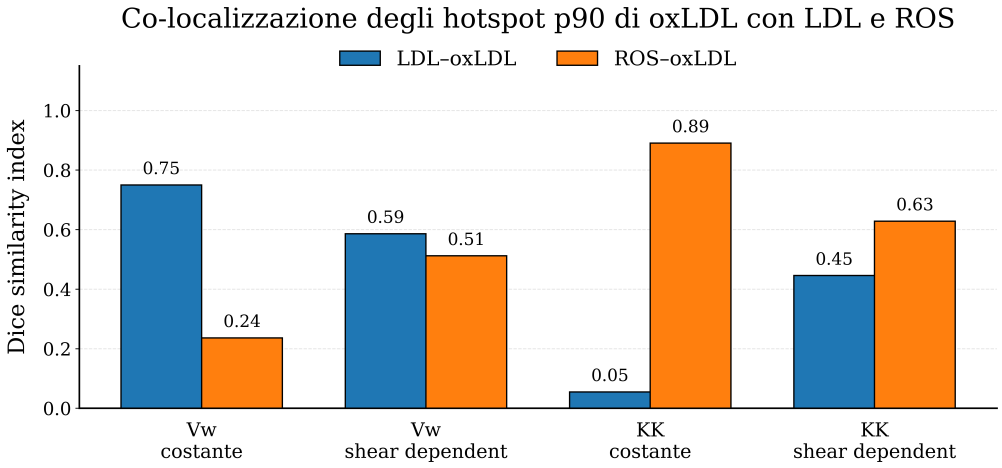


Figura 5.7: Indice di similarità di Dice tra le regioni p90 di oxLDL e le regioni p90 di LDL e ROS nei quattro casi modellistici.

5.2 Carotide 2

La stessa procedura è stata applicata alla seconda geometria realistica. In Figura 5.8 sono riportate la distribuzione del WSS e la relativa mappa topologica del campo di parete.

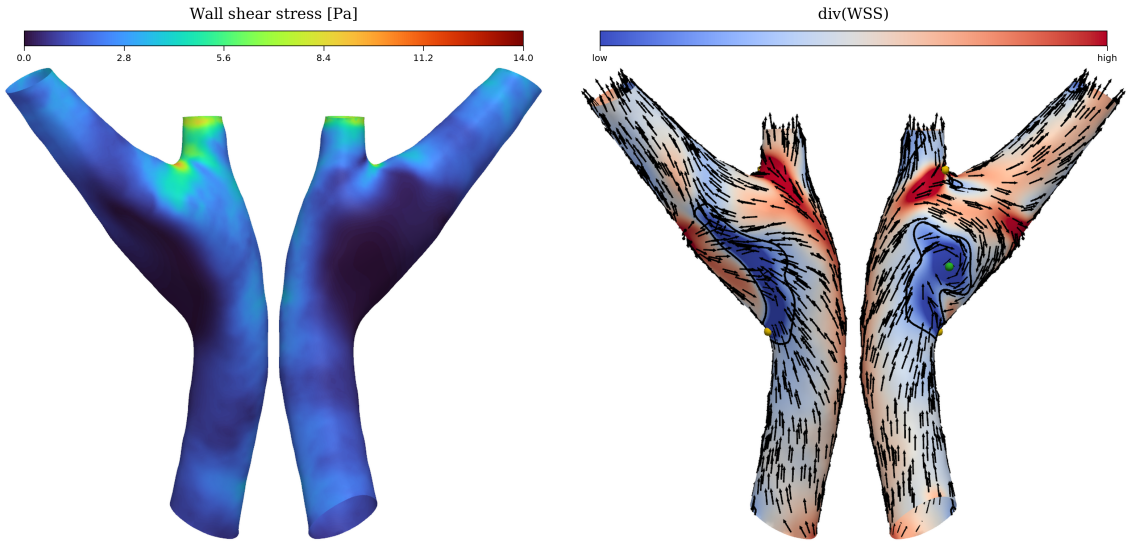


Figura 5.8: Distribuzione del WSS e mappa topologica del campo di parete nella Carotide 2.

Le grandezze ottenute dal modello *free-wall* sono riportate in Figura 5.9. La figura mostra la distribuzione di LDL, il numero di Sherwood e la pressione parziale di ossigeno nella seconda geometria.

I risultati del modello accoppiato sono riportati in Figura 5.10. Anche in questo caso sono mostrati, per i quattro modelli considerati, i campi di NO, ROS, oxLDL/C_0 e LDL.

Per evidenziare le regioni a valore più elevato, gli stessi campi sono stati rappresentati nell'intervallo compreso tra il 90-esimo percentile e il massimo della distribuzione. Le mappe ottenute sono riportate in Figura 5.11.

La distribuzione di LDL nel dominio fluido è riportata separatamente in Figura 5.12. Sono mostrate sia le mappe complete sia le corrispondenti regioni comprese tra il 90-esimo percentile e il massimo, per tutti e quattro i casi.

Infine, in Figura 5.13 sono riportati i valori dell'indice di Dice calcolati tra le regioni p90 di oxLDL e le corrispondenti regioni p90 di LDL e ROS.

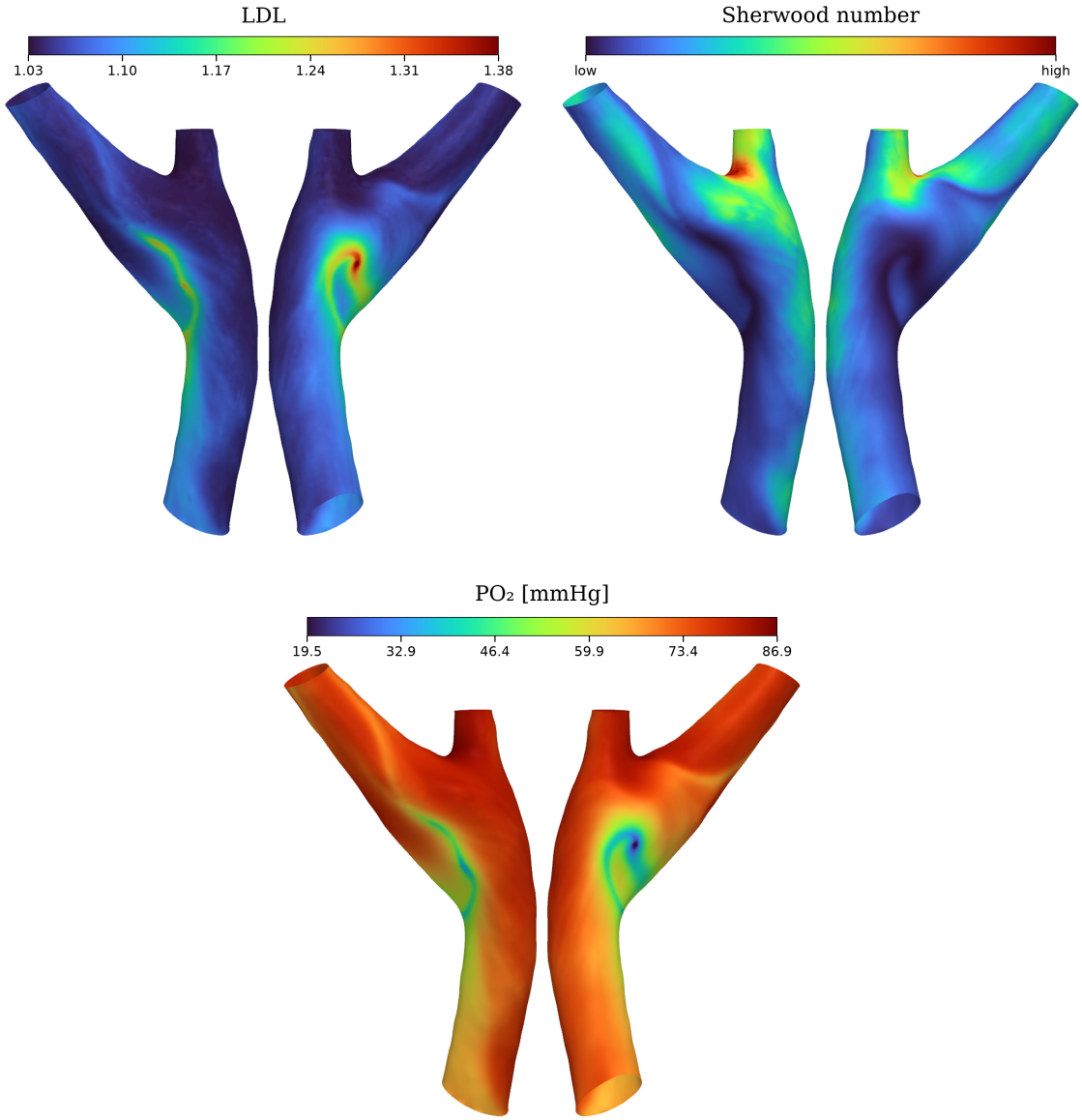


Figura 5.9: Distribuzione della concentrazione normalizzata di LDL, del numero di Sherwood e della pressione parziale di ossigeno PO_2 nella Carotide 2.

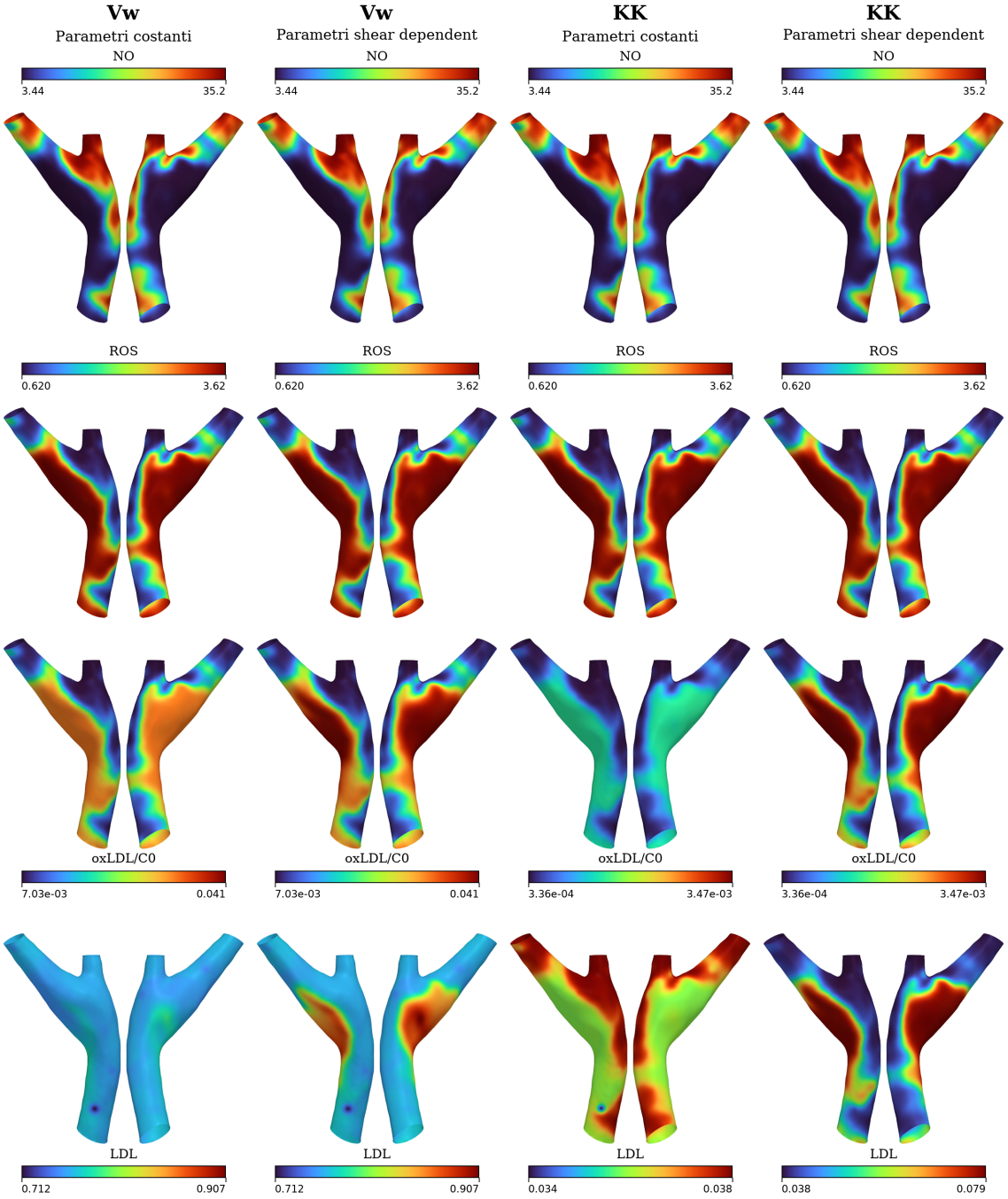


Figura 5.10: Distribuzione di NO, ROS, oxLDL/C_0 e LDL nella Carotide 2 per i quattro casi analizzati: V_w costante, V_w shear dependent, Kedem–Katchalsky a parametri costanti e Kedem–Katchalsky shear dependent.

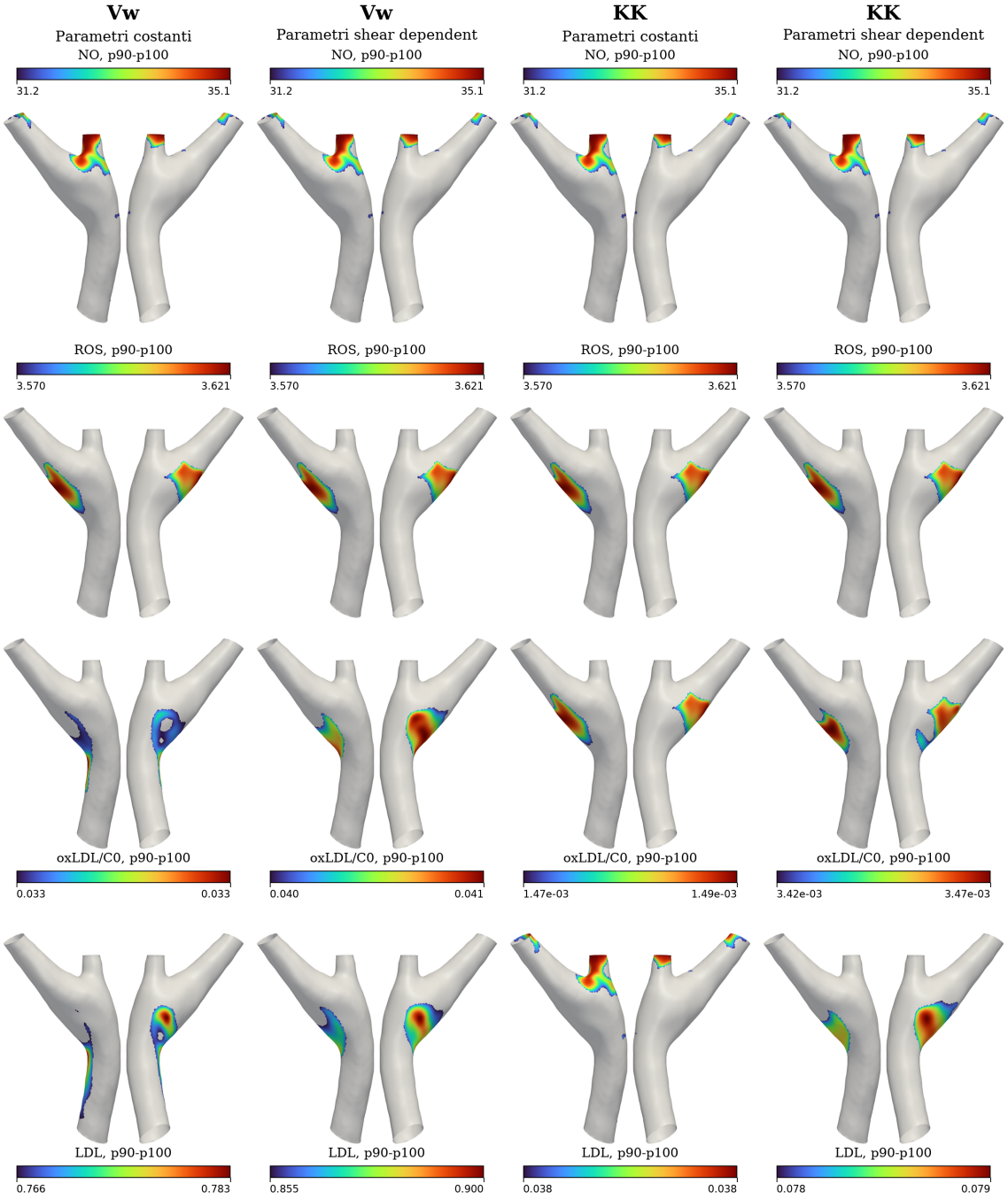


Figura 5.11: Regioni appartenenti al 90° percentile delle distribuzioni di NO, ROS, oxLDL/C_0 e LDL nella Carotide 2. Le mappe mostrano i valori reali compresi tra il 90° percentile e il massimo di ciascuna distribuzione.

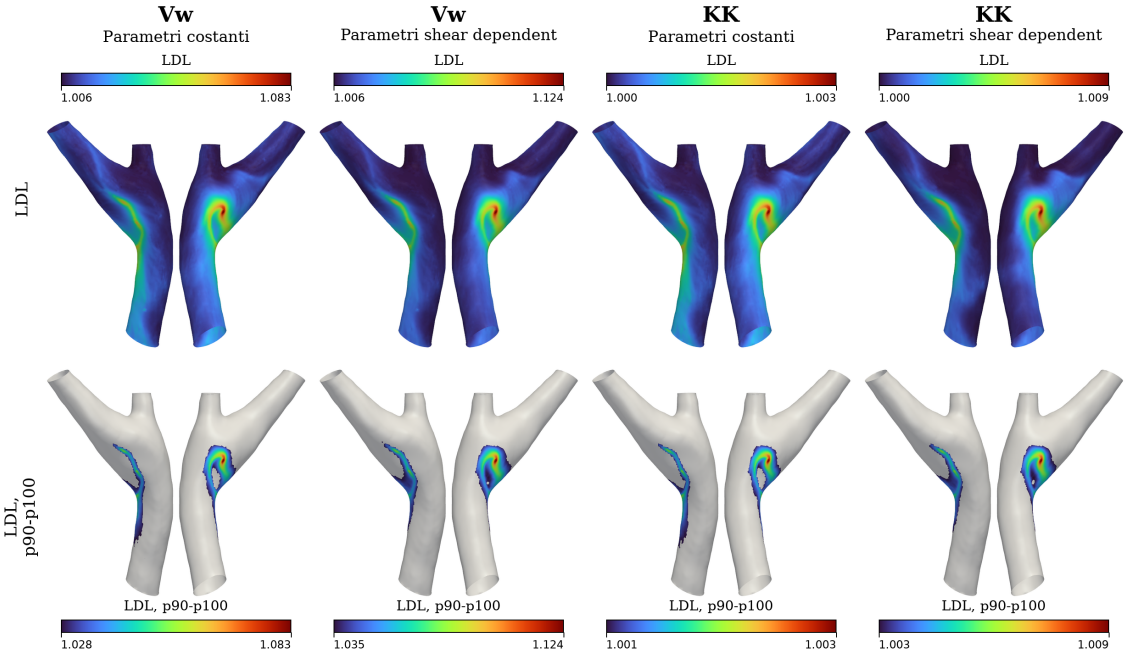


Figura 5.12: Distribuzione di LDL e relative regioni appartenenti al 90° percentile nella Carotide 2, per i quattro casi analizzati.

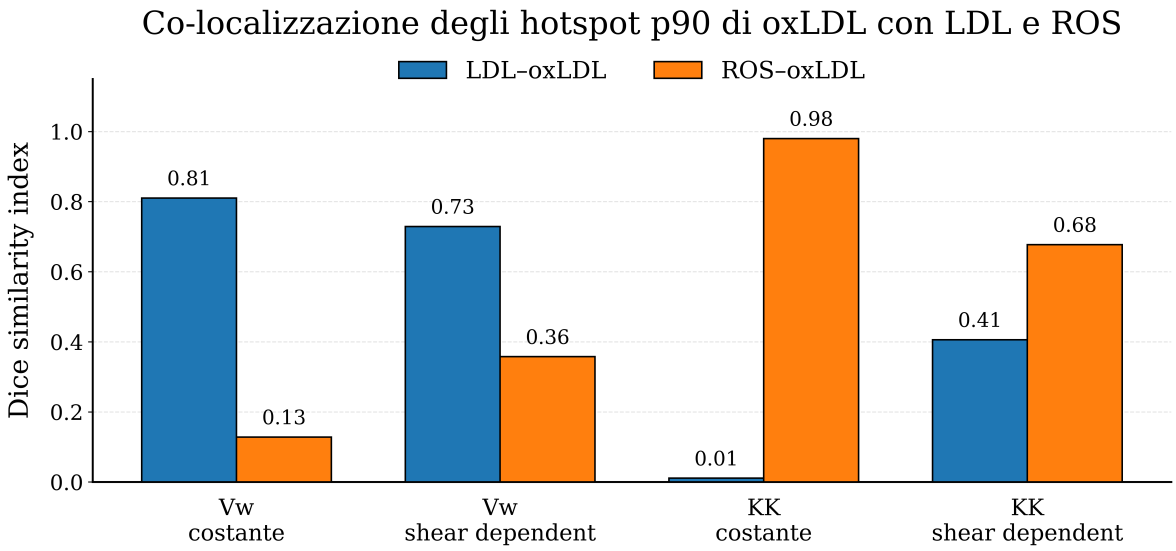


Figura 5.13: Indice di Dice tra le regioni appartenenti al 90° percentile di oxLDL e le corrispondenti regioni ad alta LDL o ROS nella Carotide 2.

5.3 Confronto spaziale oxLDL

Considerando i casi a parametri costanti, il cambio di modello modifica in modo netto la localizzazione di oxLDL. Quando l'ingresso di LDL nella parete è più marcato, come nel caso V_w costante, le regioni ad alta oxLDL risultano sovrapposte soprattutto alle zone di maggiore accumulo di LDL: il Dice LDL–oxLDL vale 0.75 nella Carotide 1 e 0.81 nella Carotide 2, mentre il confronto con ROS si ferma rispettivamente a 0.24 e 0.13.

Nel caso Kedem–Katchalsky a parametri costanti, dove l'ingresso di LDL risulta molto più contenuto, il comportamento si inverte. La sovrapposizione tra LDL e oxLDL scende a 0.05 nella Carotide 1 e a 0.01 nella Carotide 2, mentre il Dice ROS–oxLDL sale a 0.89 e 0.98. In queste condizioni, quindi, la distribuzione di oxLDL non segue più le zone di accumulo di LDL, ma risulta invece associata alle regioni caratterizzate da valori elevati di ROS.

La Figura 5.14 riassume, per le due geometrie, i valori medi di oxLDL/C_0 e la relativa dispersione nei quattro casi analizzati.

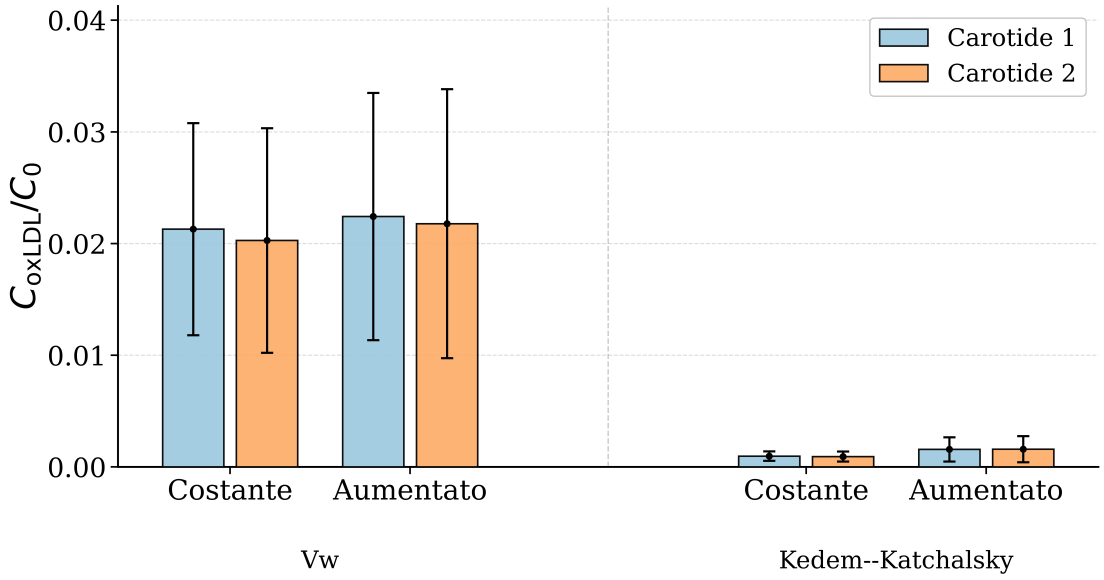


Figura 5.14: Valore medio e deviazione standard di oxLDL/C_0 nelle due geometrie carotidee, per i quattro casi modellistici considerati.

Il passaggio da V_w a Kedem–Katchalsky comporta una riduzione marcata dei valori medi, che passano dall'ordine di 10^{-2} all'ordine di 10^{-3}. Nei casi shear-dependent si osserva invece un incremento più contenuto rispetto ai corrispondenti casi a parametri costanti, accompagnato da una deviazione standard maggiore, segno di una distribuzione meno uniforme del campo di oxLDL.

Capitolo 6

Discussione

Il lavoro ha avuto come obiettivo lo sviluppo di un modello capace di mettere in relazione l'emodinamica locale con i processi chimico-biologici coinvolti nelle fasi iniziali dell'aterogenesi. La parte fluidodinamica, ottenuta tramite simulazioni CFD, è stata utilizzata per descrivere il campo di moto nel lume e per descrivere il trasporto delle specie scalari, come LDL e ossigeno, nel vaso; mentre il modello chimico nella parete ha permesso di descrivere l'evoluzione di LDL, NO, ROS e oxLDL. In questo senso il lavoro ha permesso di usare le informazioni delle simulazioni emodinamiche come input per un modello in grado di descrivere come il trasporto lipidico e lo stato ossidativo possano variare localmente nella parete arteriosa.

La novità del modello sviluppato in questa tesi è stata la descrizione della parete tramite un dominio monodimensionale associato ad ogni faccia di parete della mesh. Questo approccio, pur essendo semplificato rispetto all'utilizzo di un modello tridimensionale completo, permette di trattare il problema in modo più leggero dal punto di vista computazionale, consentendo confrontare rapidamente diverse condizioni di trasporto in maniera più agevole. La descrizione monodimensionale della parete è risultata particolarmente utile nella fase di calibrazione dei parametri. In questa parte del lavoro, infatti, l'obiettivo non era ricostruire nel dettaglio il comportamento dei singoli strati della parete, ma valutare come diverse scelte modellistiche e parametriche portassero a scenari differenti.

Dall'analisi dei risultati emerge come la scelta del modello di trasporto attraverso l'endotelio ha un effetto diretto sia sull'intensità sia sulla localizzazione delle specie lipidiche ossidate. Nei modelli basati sulla velocità di filtrazione efficace V_w, l'ingresso di LDL nella parete risulta più marcato e porta a valori di oxLDL più elevati. In queste condizioni, le regioni ad alta oxLDL tendono a sovrapporsi maggiormente alle zone in cui la LDL si accumula. Al contrario, nei casi descritti dal modello di Kedem–Katchalsky, il passaggio di LDL risulta più contenuto e la distribuzione di oxLDL

appare meno legata alla sola disponibilità locale di LDL. Il confronto tramite indice di Dice ha mostrato proprio questo cambio di comportamento: nei casi V_w la sovrapposizione principale è con LDL, mentre nei casi Kedem–Katchalsky la localizzazione di oxLDL risulta associata soprattutto alle regioni caratterizzate da valori elevati di ROS.

Il confronto tra il modello a parametri costanti e quello con parametri dipendenti dallo shear stress evidenzia che l'effetto della dipendenza dal WSS si manifesta principalmente sulla componente lipidica del modello. In particolare, le mappe di NO e ROS risultano uguali nei due casi,mentre le distribuzioni di LDL e oxLDL sono maggiormente influenzate dalla condizione imposta all'interfaccia lume–parete.

Questo risultato è coerente con la struttura del modello. Le concentrazioni di NO e ROS sono infatti governate soprattutto dal bilancio redox locale, mentre LDL e oxLDL dipendono in modo più diretto dal trasporto di LDL attraverso l'endotelio e dai successivi processi di ossidazione all'interno della parete. Di conseguenza, una variazione della permeabilità o del flusso di LDL associata al WSS tende a riflettersi in maniera più marcata sulla distribuzione delle specie lipidiche rispetto a quella delle specie reattive.

L'applicazione alle due geometrie carotidee realistiche ha permesso di verificare se le tendenze osservate nella geometria di riferimento si mantenessero anche in configurazioni più vicine al caso reale. Pur con differenze locali dovute alla diversa forma della biforcazione, il comportamento generale è rimasto coerente nelle due carotidi. I casi V_w hanno mostrato valori medi di oxLDL/C_0 dell'ordine di 10^{-2}, mentre nei casi Kedem–Katchalsky i valori si sono ridotti di circa un ordine di grandezza, portandosi nell'ordine di 10^{-3}. Anche la distribuzione spaziale ha confermato il ruolo del modello di trasporto: quando l'ingresso lipidico è più elevato, il rischio ossidativo segue maggiormente le aree di accumulo di LDL; quando l'ingresso è ridotto, il ruolo delle regioni ad alto contenuto di ROS diventa più evidente.

Il modello sviluppato deve essere letto come uno strumento di analisi dei meccanismi locali, più che come un modello predittivo della formazione di placca. Questo modello difatti presenta numerose semplificazioni: la parete è descritta in forma monodimensionale, le geometrie sono considerate rigide, le simulazioni sono stazionarie e i parametri chimici non sono calibrati su dati patient-specific. Tuttavia, i risultati mostrano che l'accoppiamento tra emodinamica e modello chimico di parete può fornire informazioni aggiuntive rispetto alla sola analisi del WSS o della distribuzione di LDL nel lume. In particolare, permette di distinguere il contributo del trasporto lipidico da quello dello stato ossidativo locale, offrendo una lettura più completa delle regioni potenzialmente più esposte alla formazione di oxLDL.

Sviluppi futuri potrebbero riguardare l'estensione del modello a simulazioni tran-

sitorie, l'introduzione di una descrizione più dettagliata della parete arteriosa e la calibrazione dei parametri su dati sperimentali o clinici. Un ulteriore passo potrebbe essere l'applicazione del metodo a un numero maggiore di geometrie paziente-specifiche, così da valutare quanto le tendenze osservate dipendano dalla morfologia locale della biforcazione.

Bibliografia

[1] F.H. Martini, M.J. Timmons, R.B. Tallitsch, and J.L. Nath. *Anatomia umana*. Pearson, 7 edition.

[2] J.F. Bentzon, F. Otsuka, R. Virmani, and E. Falk. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circulation Research*, 2014.

[3] Umberto Morbiducci. Slide del corso di biomeccanica del sistema cardiovascolare, 2024.

[4] N.A. Avgerinos and P. Neofytou. Mathematical modelling and simulation of atherosclerosis formation and progress: A review. *Annals of Biomedical Engineering*, 47(8):1764–1785, 2019.

[5] V. Mazzi, G. De Nisco, K. Calò, C. Chiastra, J. Daemen, D.A. Steinman, J.J. Wentzel, U. Morbiducci, and D. Gallo. Divergence of the normalized wall shear stress as an effective computational template of low-density lipoprotein polarization at the arterial blood-vessel wall interface. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2022.

[6] R. Virmani, A.P. Burke, A. Farb, and F.D. Kolodgie. Pathology of the vulnerable plaque. *Journal of the American College of Cardiology*, 2006.

[7] B.R. Kwak et al. Biomechanical factors in atherosclerosis: mechanisms and clinical implications. *European Heart Journal*, 2014.

[8] S. Pozzi et al. Mathematical modeling and numerical simulation of atherosclerotic plaque progression. *Journal of Mathematical Fluid Mechanics*, 2021.

[9] P.-W. Fok. Growth of necrotic cores in atherosclerotic plaque. *Mathematical Medicine and Biology*, 29(3):301–327, 2012.

[10] I. Tabas, K.J. Williams, and J. Borén. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation*, 2007.

[11] Y.S. Chatzizisis, A.U. Coskun, M. Jonas, E.R. Edelman, C.L. Feldman, and P.H. Stone. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, 2007.

[12] D.N. Ku, D.P. Giddens, C.K. Zarins, and S. Glagov. Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. *Arteriosclerosis*, 1985.

[13] A. Candreva, G. De Nisco, M. Lodi Rizzini, F. D'Ascenzo, G.M. De Ferrari, D. Gallo, U. Morbiducci, and C. Chiastra. Current and future applications of computational fluid dynamics in coronary artery disease. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 2022.

[14] B.M. Johnston, P.R. Johnston, S. Corney, and D. Kilpatrick. Non-Newtonian blood flow in human right coronary arteries: steady state simulations. *Journal of Biomechanics*, 37(5):709–720, 2004.

[15] B.M. Johnston, P.R. Johnston, S. Corney, and D. Kilpatrick. Non-Newtonian blood flow in human right coronary arteries: transient simulations. *Journal of Biomechanics*, 39(6):1116–1128, 2006.

[16] Y.I. Cho and K.R. Kensey. Effects of the non-Newtonian viscosity of blood on flows in a diseased arterial vessel. Part I: Steady flows. *Biorheology*, 28(3–4):241–262, 1991.

[17] S. Chien. Shear dependence of effective cell volume as a determinant of blood viscosity. *Science*, 168(3934):977–979, 1970.

[18] J.B. Freund. Shear-induced non-monotonic viscosity dependence for model red blood cell suspensions in microvessels. *Physical Review E*, 90(1):012702, 2014.

[19] U. Morbiducci et al. Wall shear stress topological skeleton predicts long-term restenosis after carotid bifurcation endarterectomy. *Annals of Biomedical Engineering*, 2020.

[20] V. Mazzi and U. Morbiducci. A revised and expanded unified theory linking wall shear stress and vorticity topologies to enable the interpretation of cardiovascular flow disturbances. *Annals of Biomedical Engineering*, 2024.

[21] V. Mazzi, G. De Nisco, K. Calò, C. Chiastra, J. Daemen, D.A. Steinman, J.J. Wentzel, U. Morbiducci, and D. Gallo. A eulerian method to analyze wall shear stress fixed points and manifolds in cardiovascular flows. *Journal of Biomechanics*, 2019.

[22] M. Prosi, P. Zunino, K. Perktold, and A. Quarteroni. Mathematical and numerical models for transfer of low-density lipoproteins through the arterial walls: a new methodology for the model set up with applications to the study of disturbed lumenal flow. *Journal of Biomechanics*, 38(4):903–917, 2005.

[23] G. De Nisco, D. Gallo, and U. Morbiducci. What is needed to reliably investigate near-wall transport of atherogenic particles in coronary arteries? a review. *Annals of Biomedical Engineering*, 2020.

[24] S. Wada and T. Karino. Theoretical prediction of low-density lipoproteins concentration at the luminal surface of an arterial wall. *Biorheology*, 36(3):207–223, 1999.

[25] U. Olgac, V. Kurtcuoglu, and D. Poulikakos. Computational modeling of coupled blood–wall mass transport of LDL: effects of local wall shear stress. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 294(2):H909–H919, 2008.

[26] N. Yang and K. Vafai. Modeling of low-density lipoprotein (LDL) transport in the artery: effects of hypertension. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 49(5–6):850–867, 2006.

[27] J.M. Tarbell. Mass transport in arteries and the localization of atherosclerosis. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2003.

[28] H. Kang, L.M. Cancel, and J.M. Tarbell. Effect of shear stress on water and LDL transport through cultured endothelial cell monolayers. *Annals of Biomedical Engineering*, 2014.

[29] L. DeMaio, Y.S. Chang, T.W. Gardner, J.M. Tarbell, and D.A. Antonetti. Shear stress regulates occludin content and phosphorylation. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 2001.

[30] N. Sun, N.B. Wood, A.D. Hughes, S.A.M. Thom, and X.Y. Xu. Fluid-wall modelling of mass transfer in an axisymmetric stenosis: effects of shear-dependent transport properties. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(7):1119–1128, 2006.

[31] A.I. Sakellarios, D.I. Fotiadis, and L.K. Michalis. Finite element modeling of ldl transport in carotid artery bifurcations. In *IFMBE Proceedings*, 2009.

[32] J.M. Tarbell, M. Mahmoud, A. Corti, L. Cardoso, and C. Caro. The role of oxygen transport in atherosclerosis and vascular disease. *Journal of the Royal Society Interface*, 17:20190732, 2020.

[33] J.C. Sluimer and M.J.A.P. Daemen. Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factors, and macrophages in human atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2008.

[34] S. Tada and J.M. Tarbell. Oxygen transport in a compliant carotid bifurcation model. *Journal of Biomechanics*, 39(10), 2006.

[35] X. Liu, Y. Fan, and X. Deng. Effect of spiral flow on the transport of oxygen in the aorta: A numerical study. *Annals of Biomedical Engineering*, 36(12), 2008.

[36] S. Tada. Oxygen transport in the arterial wall: insights from computational modeling. *Annals of Biomedical Engineering*, 2010.

[37] W. Chen et al. Reactive oxygen species and nitric oxide signaling in vascular physiology and pathology. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018.

[38] S. Moncada, R.M.J. Palmer, and E.A. Higgs. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 1991.

[39] M. Marino et al. Multiscale chemo-mechanical modeling of arterial wall remodeling. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2020.

[40] G.K. Kolluru, S. Sinha, S. Majumder, A. Muley, J.H. Siamwala, R. Gupta, and S. Chatterjee. Shear stress promotes nitric oxide production in endothelial cells by sub-cellular delocalization of eNOS: a basis for shear stress mediated angiogenesis. *Nitric Oxide*, 22(4):304–315, 2010.

[41] X. Kong, X. Qu, B. Li, Z. Wang, Y. Chao, X. Jiang, W. Wu, and S.-L. Chen. Modulation of low shear stress-induced eNOS multi-site phosphorylation and nitric oxide production via protein kinase and ERK1/2 signaling. *Molecular Medicine Reports*, 15:908–914, 2017.

[42] W. Hao and A. Friedman. The LDL–HDL profile determines the risk of atherosclerosis: a mathematical model. *PLoS ONE*, 9(3):e90497, 2014.

[43] D. Gallo, P.B. Bijari, U. Morbiducci, Y. Qiao, Y.J. Xie, M. Etesami, D. Habets, E.G. Lakatta, B.A. Wasserman, and D.A. Steinman. Segment-specific associations between local haemodynamic and imaging markers of early atherosclerosis at the carotid artery: an in vivo human study. *Journal of the Royal Society Interface*, 15:20180352, 2018.