



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BRESCIA

PRESENTAZIONE DELLO STATO DELL'ARTE E AVANZAMENTO DEI LAVORI DEL PROGETTO DI RICERCA

DOTTORATO IN INTELLIGENZA ARTIFICIALE IN MEDICINA E INNOVAZIONE NELLA RICERCA CLINICA
E METODOLOGICA

CICLO XXXVIII

Coordinatore : Prof. Domenico

Russo

Supervisor:
PROF.SSA CLAUDIA AGABITI-ROSEI

DOTTORANDA:
DOTT.SSA GIORGIA MUZI

BRESCIA, 7 MAGGIO 2025



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BRESCIA

VALUTAZIONE NON INVASIVA DI INDICI DELLA STRUTTURA DEL MICROCIRCOLO E DEL MACROCIRCOLO IN PAZIENTI CON DIAGNOSI DI ANGINA MICROVASCOLARE– STUDIO MICRO-ANGINA”

Studio clinico diretto a valutare le caratteristiche del microcircolo (arteriole retiniche e capillari) e del macrocircolo con valutazione della rigidità arteriosa in una popolazione di pazienti con diagnosi di angina microvascolare.



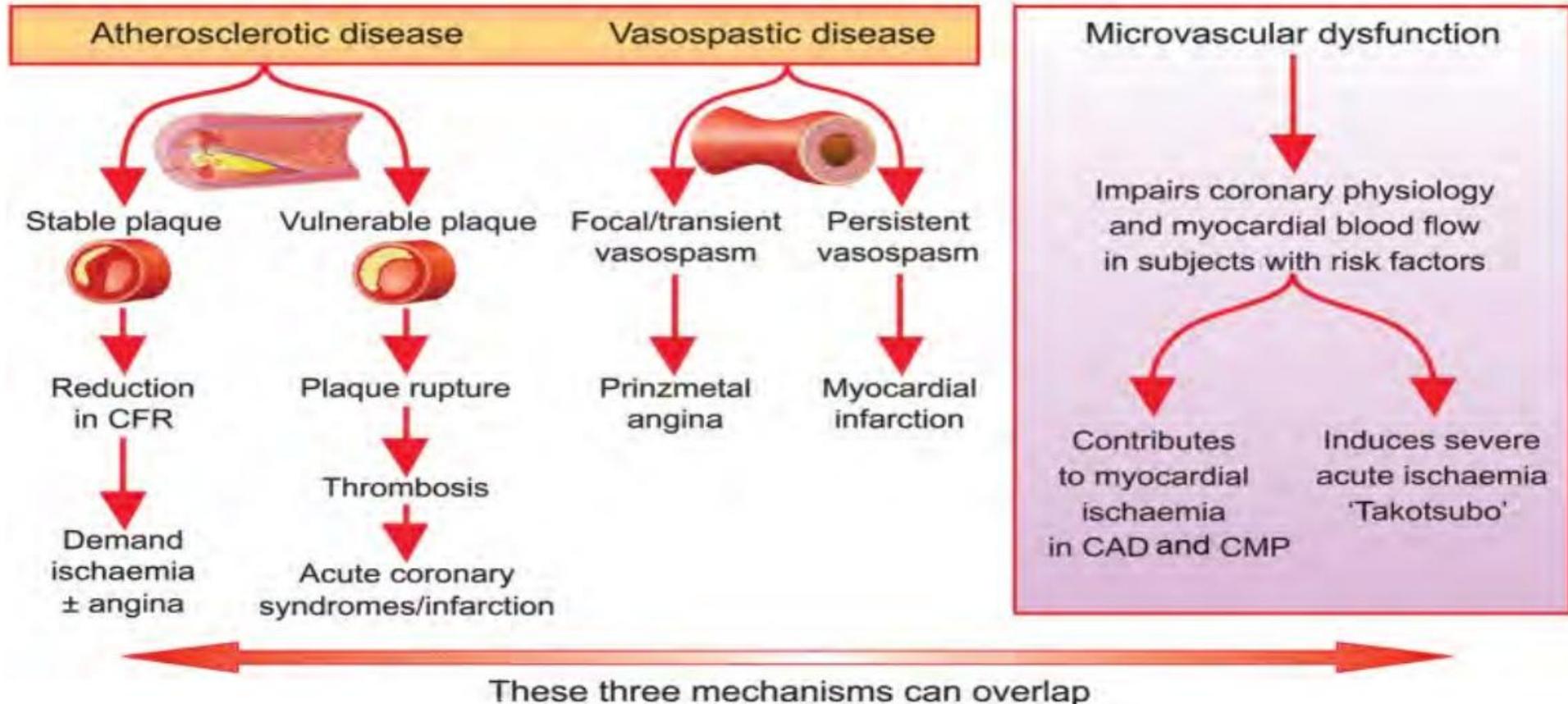
Background

- ♥ Il 60-70% di pazienti con dolore di tipo anginoso ha un'ischemia miocardica con **coronarie indenni**. In questi casi le arterie coronariche risultano normali alla coronarografia, ma vi è una limitazione del flusso distale con coinvolgimento del microcircolo coronarico e quindi una condizione di **microangina**.
- ♥ Questa può essere dimostrata con metodiche invasive o non invasive, come la scintigrafia miocardica che utilizza come radiofarmaco la tetrofosmina ^{99}Tc . Recentemente è stato validato, per lo studio delle coronarie, l'utilizzo della **PET ammoniaca ($^{13}\text{NH}_3\text{-PET}$)** metodica innovativa che permette di valutare più accuratamente proprio il microcircolo coronarico.
- ♥ La microcircolazione retinica, tra tutte le sedi, rappresenta il sito più facilmente accessibile per studiare il microcircolo e attualmente può essere studiata tramite una tecnica non invasiva come l'**ottica adattiva** già applicata in alcuni ambiti di disfunzione microvascolare, sia strutturale che funzionale, come l'ipertensione arteriosa.

Mechanisms of myocardial ischaemia

Epicardial coronary arteries

Coronary microcirculation





Meccanismi patogenetici del dolore toracico in pazienti con coronarie indenni

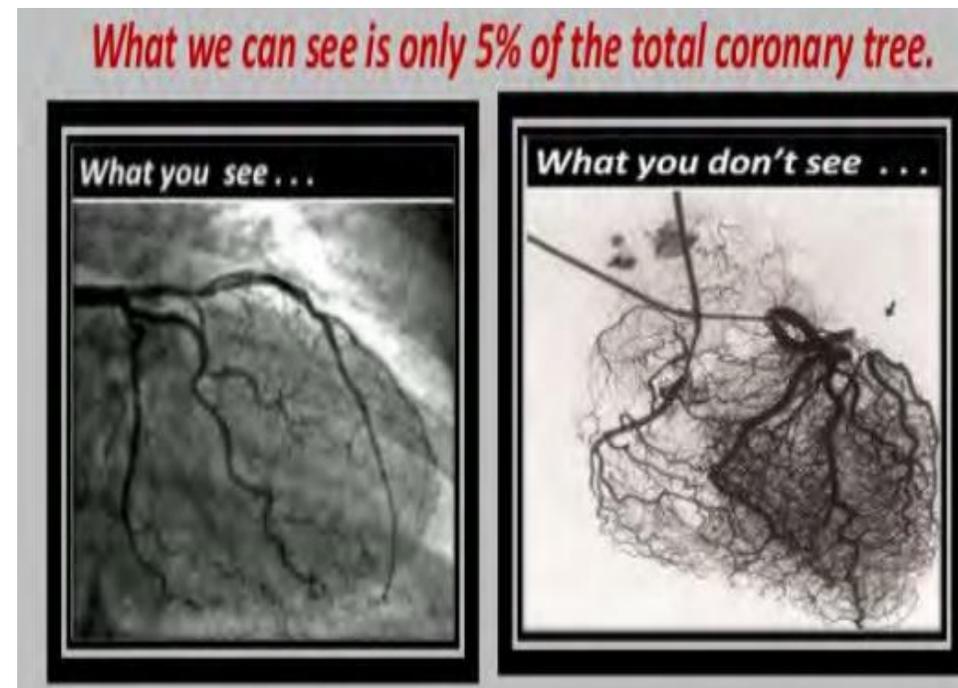
❖ Vasospasmo coronarico

❖ Disfunzione del microcircolo coronarico

Disfunzione del microcircolo coronarico:

L'aumento del flusso sanguigno in risposta all'aumentato carico di lavoro cardiaco non risulta essere sufficiente.

I vasi sanguigni che forniscono sangue al muscolo cardiaco non riescono a dilatarsi adeguatamente in risposta al bisogno di ossigeno del cuore





Alterazioni del microcircolo

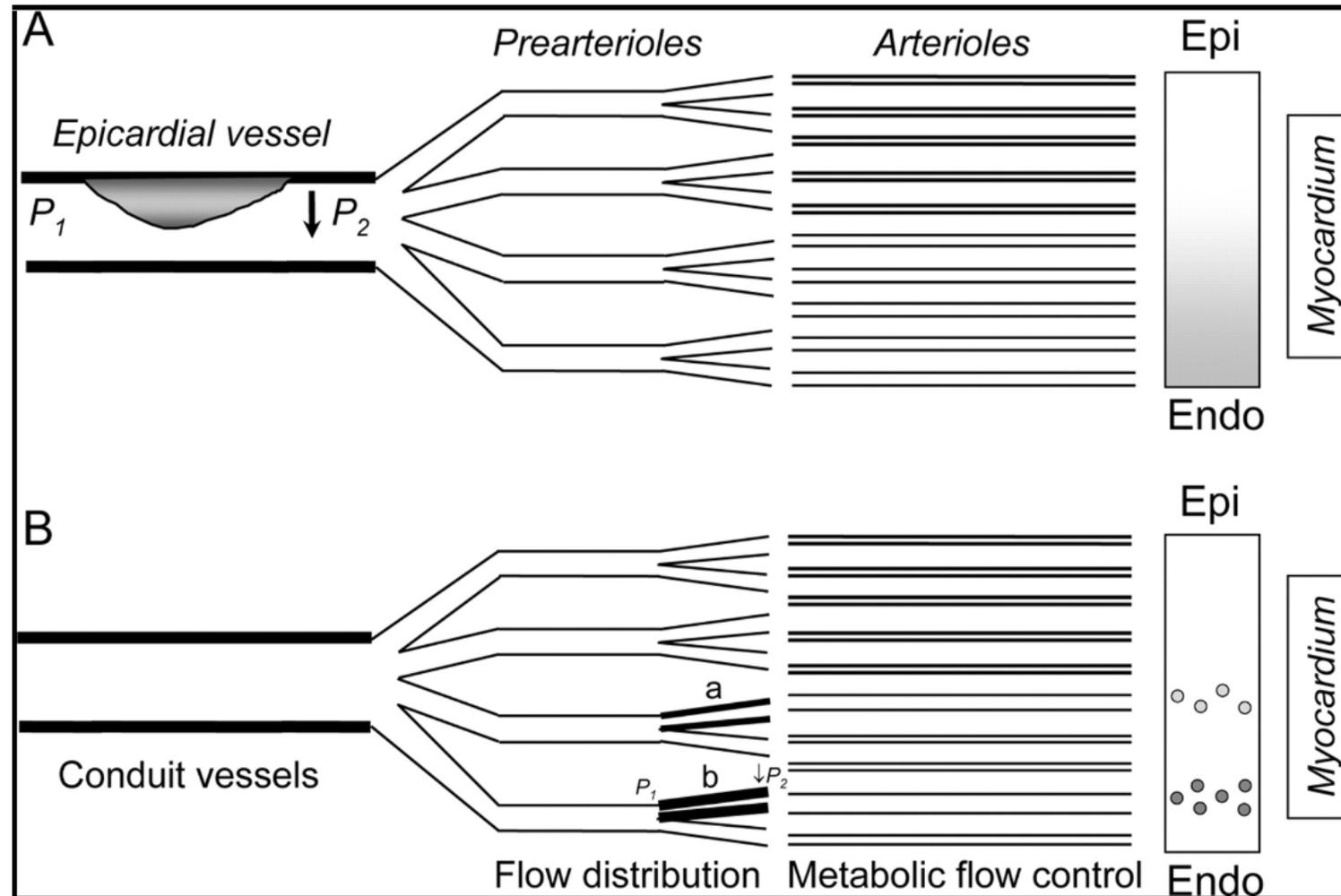
Funzionali:

alterata vasodilatazione sotto sforzo e nello spasmo microvascolare

Strutturali:

- rimodellamento eutrofico con incremento del rapporto tra parete e lume (wall to lumen ratio, WLR)
- rarefazione capillare

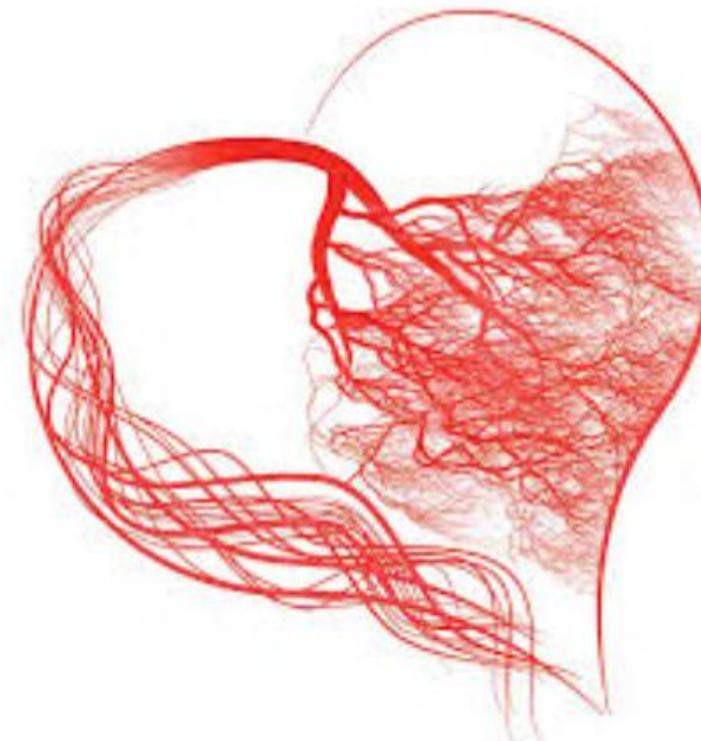
Le alterazioni strutturali e funzionali dei vasi del piccolo circolo (microcircolo) possono essere identificate sia in concomitanza dell'invecchiamento fisiologico sia in presenza di condizioni patologiche di natura cardiometabolica come ipertensione, diabete, obesità.





Angina microvascolare:

Paziente si presenta con **sintomatologia anginosa** in **assenza di evidenza di malattia coronarica** ma in concomitanza di una condizione di disfunzione microvascolare coronarica con un interessamento quindi delle porzioni più distali del circolo coronarico





Criteria COVADIS (Coronary Vasomotor Disorders International Study Group) per la diagnosi di angina microvascolare

1. Segni o sintomi suggestivi di ischemia miocardica
 - a. Angina da sforzo o a riposo
 - b. Equivalenti anginosi (ad esempio mancanza di fiato)

2. Assenza di malattia coronarica ostruttiva (riduzione del calibro dei vasi $<50\%$ e/o fractional flow reserve >0.80 alla coronarografia) osservata in
 - a. TC coronarica
 - b. Coronarografia



3. Evidenza oggettiva di ischemia miocardica

- a. Modifiche ischemiche all'ECG durante episodio di dolore toracico
- b. dolore toracico o modifiche ischemiche all'ECG in presenza o in assenza di anomalie transitorie o reversibili di perfusione miocardica e/o alterazioni della cinetica del ventricolo sinistro.

4. Evidenza di disfunzione del microcircolo coronarico

- a. Alterata coronary flow reserve (con valori di cut off che dipendono dalla metodologia utilizzata, e variano tra ≤ 2 e $\leq 2,5$)
- b. Vasospasmo del microcircolo coronarico, definito con la riproducibilità dei sintomi e delle modifiche ECG durante test dell'acetilcolina ma senza spasmo dei vasi epicardici.
- c. Alterazione degli indici di resistenza microvascolare coronarica (ad esempio index of microcirculatory resistance $IMR > 25$)
- d. Evidenza di "Coronary slow flow phenomenon" definito da un TIMI (thrombolysis in myocardial infarction) frame count > 25 .



Segni e sintomi di angina microvascolare

❖ Dolore toracico

(o equivalenti anginosi)

Oppressivo

Retrosternale

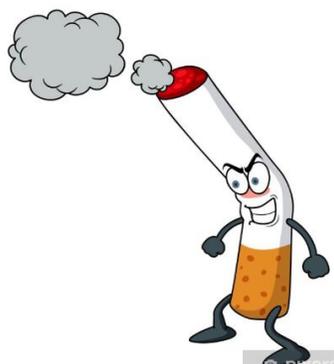
Durante o subito dopo la fine dello sforzo

Risponde meno alla somministrazione di nitrati sublinguali

❖ Dispnea da sforzo

❖ Possibile scompenso cardiaco

Fattori di rischio di angina microvascolare



❖ Ipertensione arteriosa

❖ Fumo

❖ Dislipidemia

❖ Diabete mellito ed insulino-resistenza





Metodi di studio del microcircolo coronarico

➤ INVASIVE

Coronarografia: Permette di escludere la patologia coronarica ostruttiva
Può essere combinata con tecniche complementari

➤ NON INVASIVE

- misurazione del flusso miocardico regionale e globale a riposo e dopo sforzo
- sulla misurazione delle resistenze del microcircolo
- sulla misurazione della riserva di flusso coronarico

Prognosi dei pazienti con angina microvascolare

Maggiore incidenza di eventi cardiovascolari rispetto alla popolazione generale

Trattamento dei pazienti con angina microvascolare

Approccio terapeutico aggressivo

Riduzione dei fattori di rischio

- abolizione del fumo di sigaretta nei pazienti fumatori
- ottimale controllo di diabete, dislipidemie ed ipertensione arteriosa
- modifiche dello stile di vita
- aumento dell'attività fisica

Farmaci

- Antiaggreganti
- Statine
- Betabloccanti
- Antianginosi (nitroglicerina)



Obiettivi dello studio

Outcome primario

- Valutare il **rapporto parete/lume** (wall to lumen ratio, WLR) delle **arterie retiniche** e la **densità capillare**, indici della struttura del microcircolo, nonché **l'onda di polso carotido-femorale** (PWV), indicatore di rigidità vascolare a livello del macrocircolo, in pazienti affetti da angina microvascolare diagnosticata tramite PET ammonia.





Obiettivi dello studio

Outcome secondari

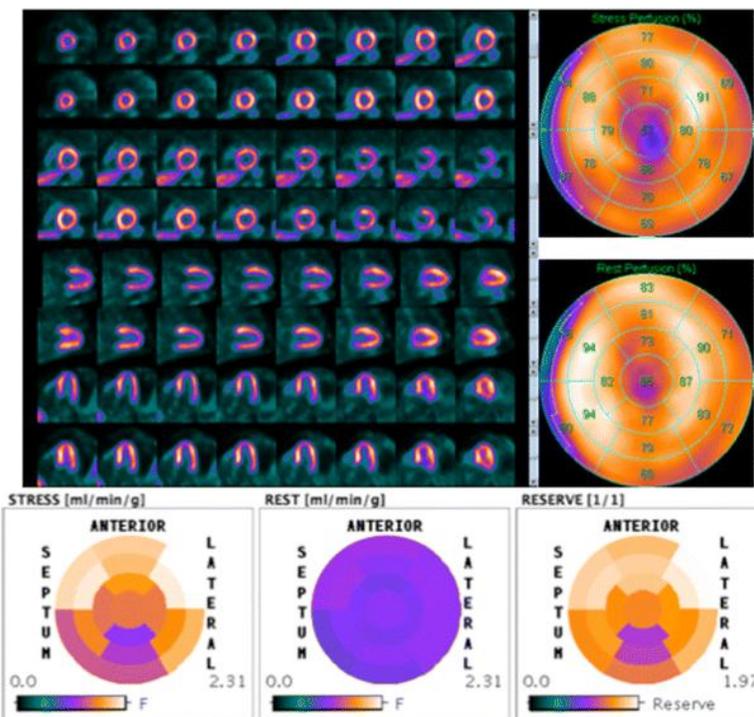
- Valutare la presenza di eventuali **correlazioni** tra gli indici di **struttura del micro e macrocircolo** e **il flusso miocardico** valutato tramite PET ammonia.
- Valutazione della **funzione endoteliale delle arteriole retiniche** tramite **flicker light** tra i pazienti con diagnosi di angina microvascolare e i pazienti con PET ammonia negativa
- Valutazione della variazione della densità capillare tra i due gruppi di pazienti
- Valutare la presenza nei pazienti con angina microvascolare di eventuali correlazioni con i diversi fattori di rischio cardiovascolari
- Valutazione ecocardiografica di indici di funzionalità del ventricolo sinistro, compresa l'efficienza mecano-energetica indicizzata per la massa miocardica (**MEEi**)
- Valutazione del **Systemic Immune Inflammation Index** (SII) e del **Systemic Inflammatory Response Index** (SIRI)



Diagnosi di angina microvascolare:

PET AMMONIA

Tomografia miocardica perfusionale ad emissione di positroni



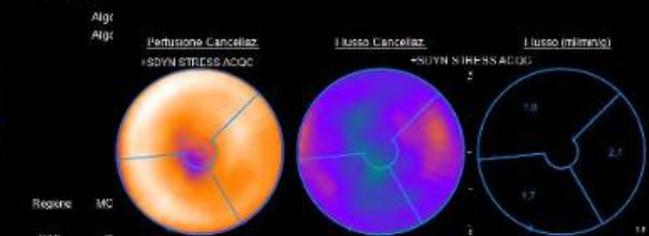
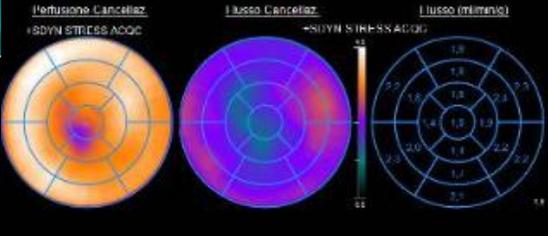
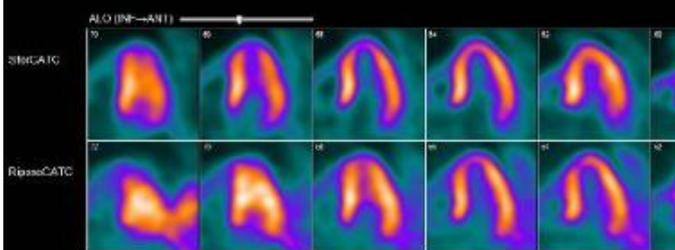
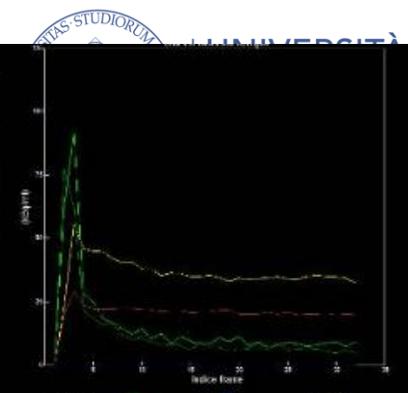
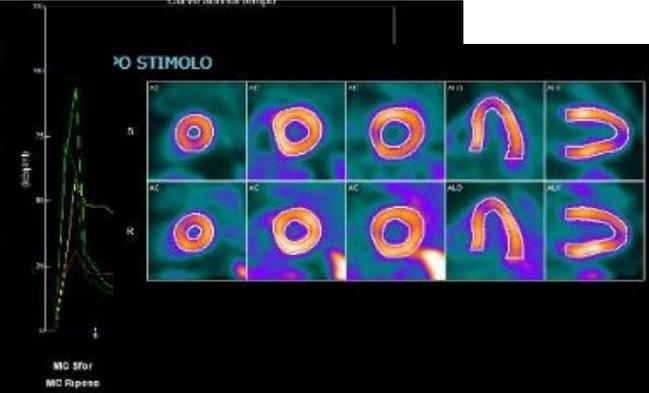
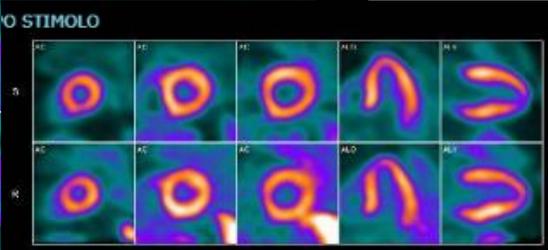
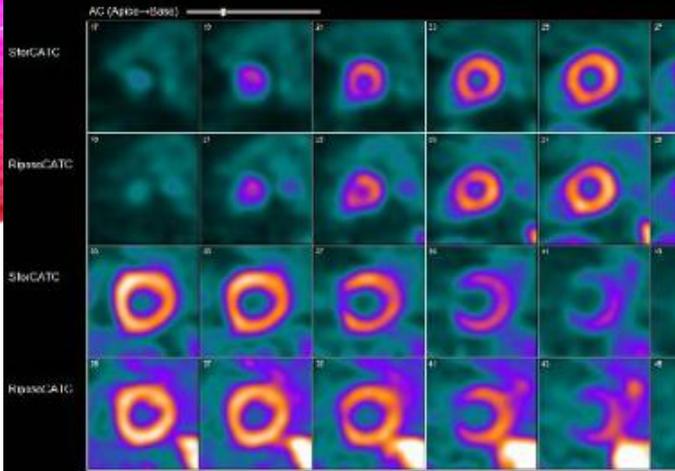


- ♥ Somministrazione endovenosa di un radiofarmaco emettitore di positroni ($^{13}\text{N-NH}_3$) per valutare in maniera assoluta (ml/min/g di tessuto) la perfusione miocardica sia in condizioni di riposo che durante stress
- ♥ Si ottengono valori di flusso miocardico a riposo e dopo vasodilatazione coronarica massimale farmacologica. Il confronto tra questi flussi consente di calcolare la riserva coronarica di flusso
- ♥ Alterazione del flusso miocardico possono essere regionali in caso di stenosi coronariche o globali in caso di alterazioni del microcircolo miocardico.
- ♥ Valore predittivo dello studio di perfusione con PET AMMONIA: un valore normale di CFR associato a normale perfusione suggerisce un periodo di “garanzia” di tre anni; al contrario pazienti con perfusione anormale, un ridotto valore di CFR è associato ad un alto valore predittivo per outcomes sfavorevole.

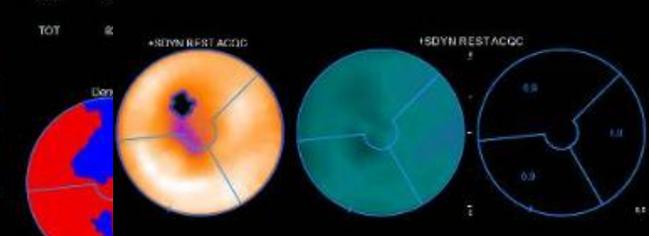
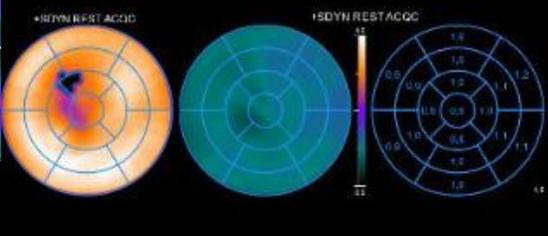
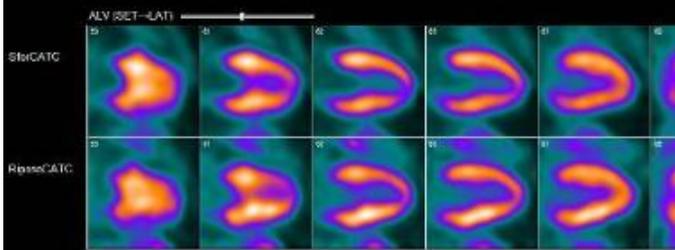


Indicazioni della PET miocardica perfusionale associata a stress farmacologico nella valutazione della perfusione miocardica:

1. Pazienti con probabilità intermedia di malattia coronaria e con studio perfusionale SPET equivoco o al fine della stratificazione prognostica (classe I);
2. Quantificazione del flusso ematico miocardico per determinare il significato funzionale di stenosi coronariche note o per diagnosticare una patologia multivasale bilanciata (classe IIb);
3. Quantificazione flusso ematico miocardio per diagnosticare una patologia del microcircolo valutando la riserva coronarica assoluta e regionale (classe IIb)
4. Studio della vitalità miocardica in associazione con ^{18}F -FDG (classe I).



Algoritmo (MC Sfor) INVA N-13 ROI 1:1 / Residuo sottratto
Algoritmo (MC Riposo) INVA N-13 ROI 1:1



Risultati globali

Regione	MC Sfor	MC Riposo	MC Sfor	MC Riposo	Riserva
DAS	83%	79%	1,78	0,91	1,37
CS	82%	87%	2,38	1,03	2,01
ACD	80%	87%	1,88	0,81	1,88
TOT	82%	82%	1,81	0,92	1,97

Diagnosi

Diagnosi	Diagnosi	Part. N°	Part. N°
DAS	87% (2.006)	32%	(1,70)
CS	84% (1.986)	16%	(1,75)
ACD	88% (2.044)	21%	(1,62)
TOT	82% (2.007)	23%	(1,72)



<u>Risultati globali</u>					
	Media		Flusso (ml/min/g)		
<u>Regione</u>	<u>MC Sfor</u>	<u>MC Riposo</u>	<u>MC Sfor</u>	<u>MC Riposo</u>	<u>Riserva</u>
DAS	83%	36%	2,60	1,88	1,38
CS	85%	44%	2,93	3,24	0,90
ACD	76%	31%	2,76	2,74	1,01
TOT	81%	37%	2,72	2,47	1,10

I valori di riserva del flusso coronarico non sono altro che il rapporto tra valori di perfusione del tessuto miocardico a riposo e in regime di vasodilatazione massimale dei vari distretti coronarici

E' un indice di disfunzione del microcircolo che dà un'idea della perfusione tissutale miocardica.

La disfunzione del microcircolo coronarico può infatti essere definita come una riduzione della riserva di flusso coronarico in assenza di alterazioni di flusso a livello epicardico (CAD ostruttiva).

$^{13}\text{NH}_3\text{-PET}$ è positiva per valori di riserva < 2



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BRESCIA

Studio del macro e del microcircolo



Micromiografia

Biopsia del grasso sottocutaneo dalla regione addominale anteriore

Dissezione di piccole arterie (100-280 μ m di diametro medio in condizioni di rilassamento, 2 mm di lunghezza) montate come preparazione ad anello su un miografo isometrico avvitandole su due fili di acciaio inossidabile (diametro di 40 μ m)

Valutazione al microscopio delle caratteristiche strutturali dei vasi

Considerata metodo gold standard per la valutazione delle alterazioni strutturali microvascolari



Hypertension

REVIEW

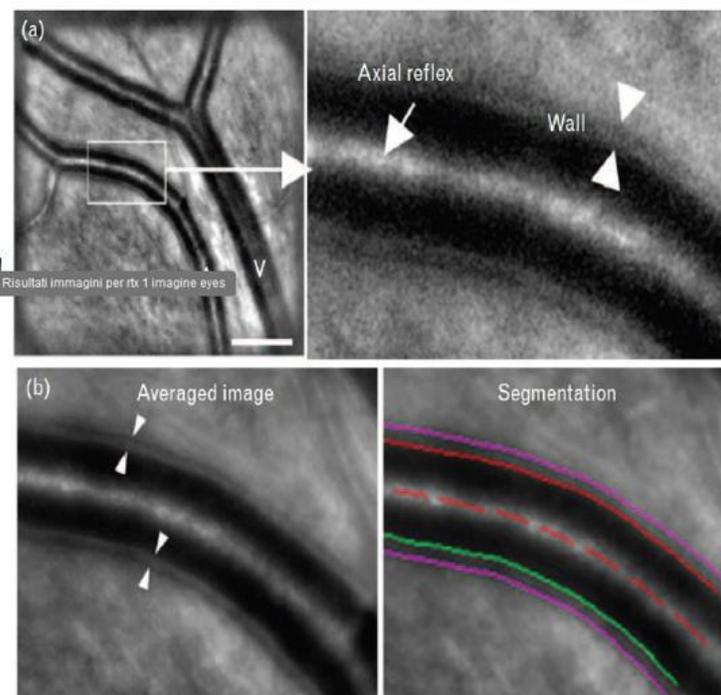
New Noninvasive Methods to Evaluate Microvascular Structure and Function

Damiano Rizzoni^{ID}*, Alessandro Mengozzi^{ID}*, Stefano Masi^{ID}, Claudia Agabiti Rosei, Carolina De Ciuceis*, Agostino Virdis^{ID}*

OTTICA ADATTIVA



Adaptive optics, RTX-1, Imagine Eyes,
Orsay, France





- ♥ Metodo optoelettronico innovativo e accurato in grado di fornire una valutazione della parete e del lume delle arteriole retiniche, misurandone le caratteristiche e ricavando il rapporto parete/lume (WLR) che si ritiene possa essere rappresentativo dei processi di rimodellamento microvascolare
- ♥ Immagini del fondo oculare sono ottenute utilizzando una telecamera a ottica adattiva con illuminazione diffusa, con una correzione in tempo reale delle aberrazioni determinate dai mezzi diottrici oculari (cornea e cristallino) ottenendo così un'immagine ingrandita, a elevata risoluzione, in scala di grigi
- ♥ Per convenzione viene studiato l'occhio destro prendendo in esame una porzione retinica in posizione superiore e temporale rispetto al disco ottico, privo incroci artero-venosi
- ♥ Attraverso un software dedicato si procede alla misurazione dei parametri morfologici. Vengono così misurati direttamente lo spessore delle due pareti ed i diametri dei vasi
- ♥ Valutazione della funzione endoteliale (***flicker light***): il paziente è sottoposto ad uno stimolo luminoso standard per 20 secondi emesso dallo stesso apparecchio tramite un software specifico. Vengono quindi misurate le variazioni di diametro interno dopo lo stimolo luminoso. Le immagini sono state acquisite durante gli ultimi 3 secondi dall'inizio dello stimolo luminoso.



OD Spherical Rx **0D**

No reference image

photoreceptors retinal vessels
 lamina cribrosa flicker

Horizontal **11.2°** Nasal
Vertical **8.6°**
Depth **210**

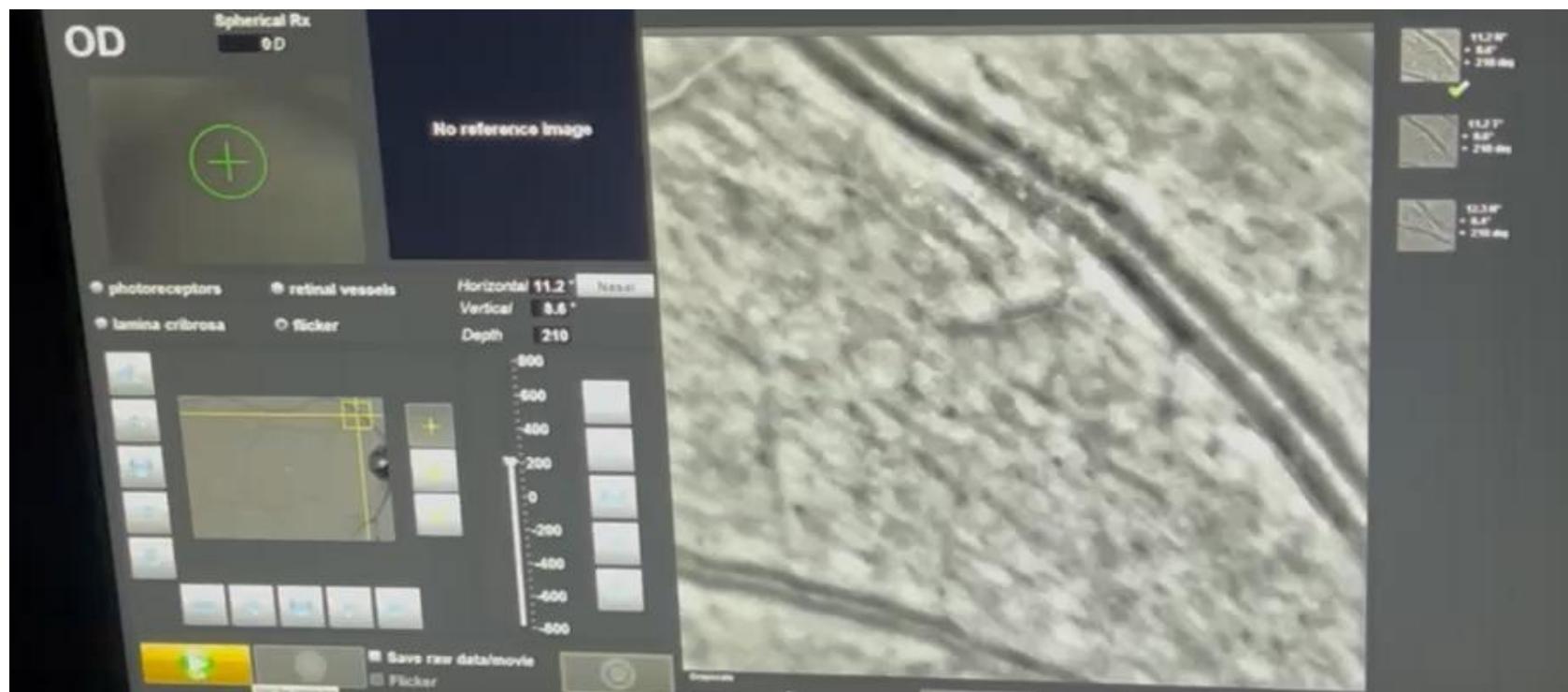
↑ ↑ ↑ ↑ ↑
↓ ↓ ↓ ↓ ↓

← → ○ ○ ○ ○ ○

Save raw data/movie
 Flicker

Processing acquired images ...

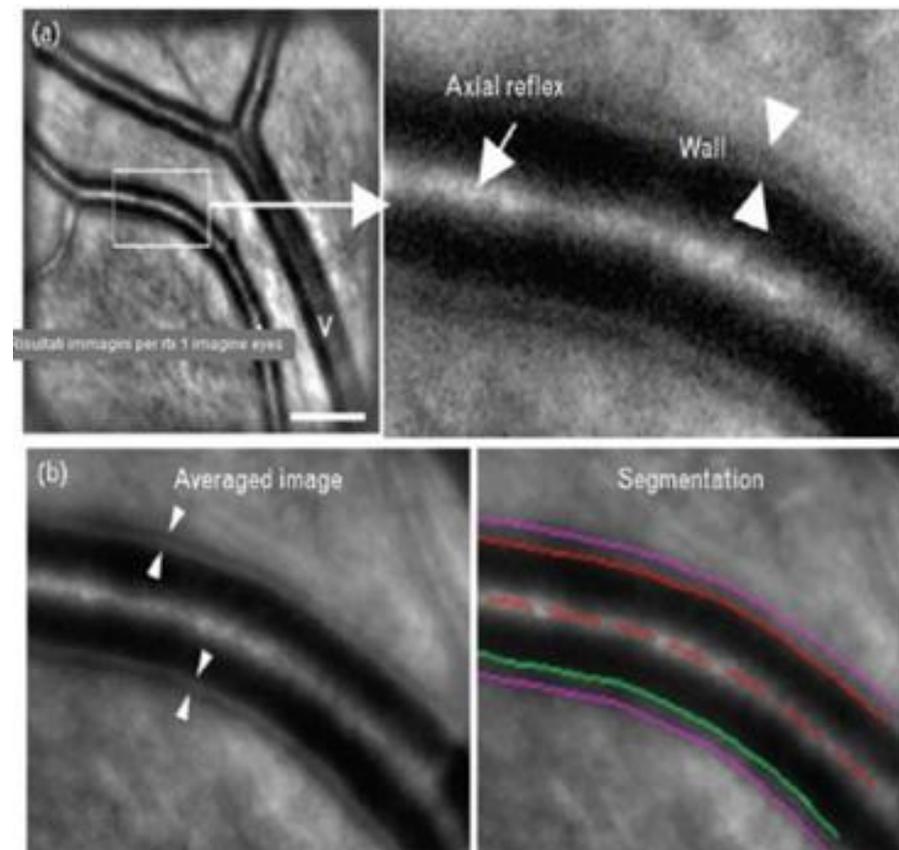
Grayscale



Valutazione della wall-to-lumen ratio (WLR) e dell'area trasversale (WCSA) della parete dell'arteriole retiniche

$$WCSA = \pi * ((ED/2)^2 - (ID/2)^2)$$

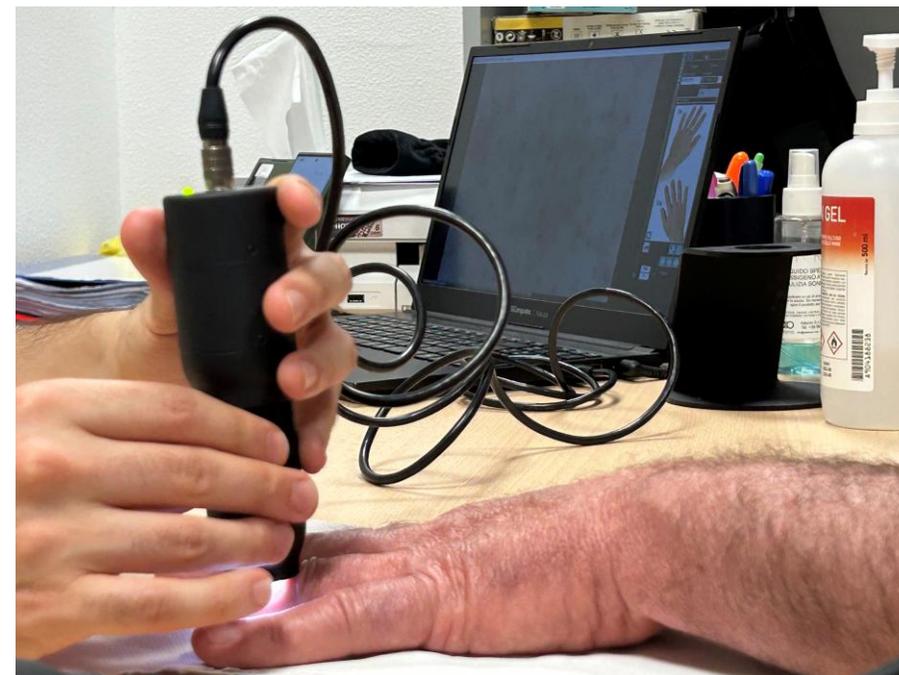
$$WLR = [(ED - ID) / ID] / 2$$

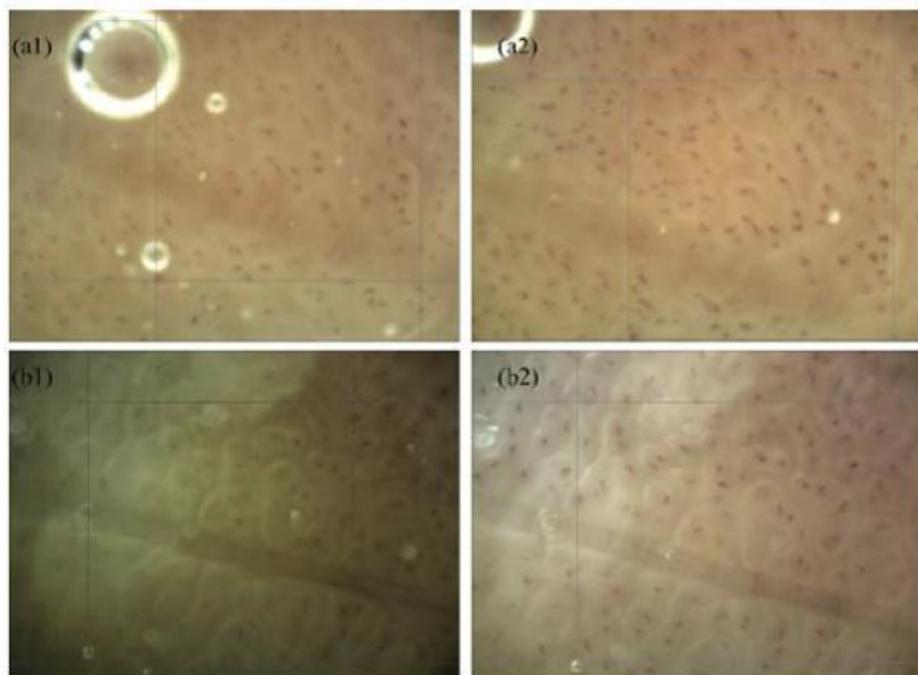




UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BRESCIA

CAPILLAROSCOPIA





La capillaroscopia è una tecnica che, mediante l'utilizzo di un **capillaroscopio** (video-microscopio a fibre ottiche) permette di valutare la densità dei capillari nel distretto cutaneo e sottocutaneo.

Densità capillare: numero di capillari per mm² del campo microscopico.

Metodica non invasiva che permette lo studio funzionale e strutturale del microcircolo distale, a livello subungueale

La riduzione della densità capillare è tra le alterazioni del microcircolo documentate in particolare nei pazienti affetti da ipertensione arteriosa

La densità capillare viene contata manualmente



- ♥ Mediante un sistema video si ottengono immagini bidimensionali della rete capillare tridimensionale sottocutanea
- ♥ Paziente seduto in ambiente silenzioso e tranquillo con una temperatura di circa 22°
- ♥ Le sedi anatomiche più utilizzate sono la cute del letto periungueale (prima fila dei capillari del letto ungueale), del dorso del quarto dito della mano non dominante e dell'avambraccio
- ♥ La misurazione della densità capillare viene eseguita in condizioni basali (densità capillare basale) e dopo congestione venosa (densità capillare totale) in modo da visualizzare i capillari funzionalmente esclusi.
- ♥ La congestione venosa si ottiene gonfiando un bracciale per la misurazione della pressione arteriosa a 60 mmHg per 2 minuti.
- ♥ Può essere influenzata dalla trasparenza ungueale, trattamenti di manicure ed è parzialmente operatore dipendente
- ♥ Con la capillaroscopia è inoltre possibile valutare altri parametri come la velocità del flusso o lo spessore della colonna di emazie. E' inoltre possibile integrare l'esame con un contrasto fluorescente



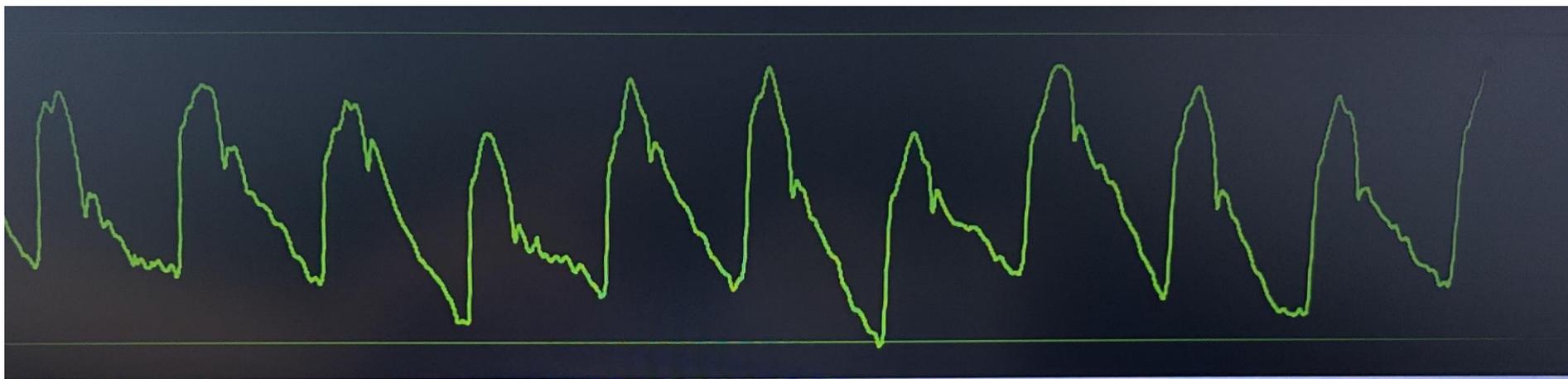
UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BRESCIA





PULSE WAIVE VELOCITY

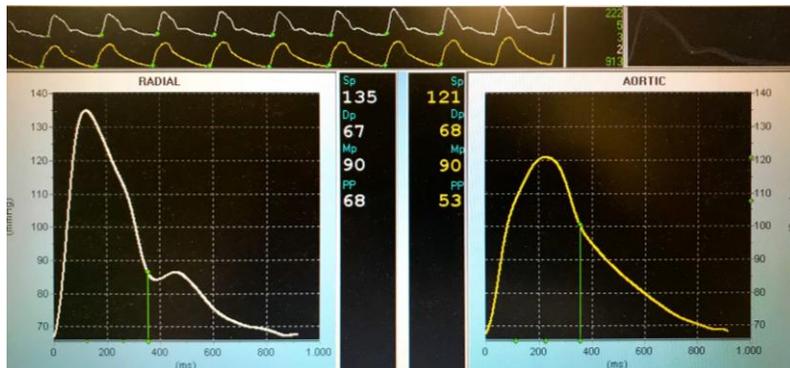
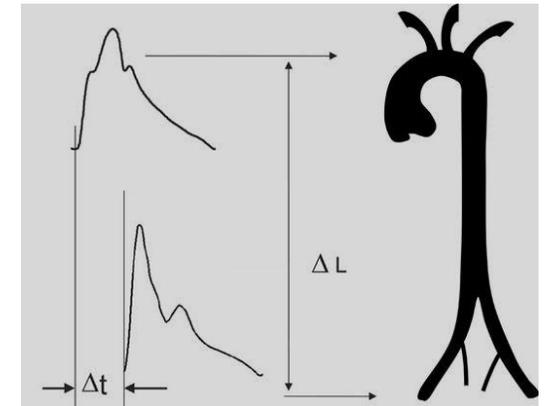
Velocità dell'onda di polso carotido-femorale (PWV)



Misura gold standard di rigidità delle pareti delle arterie

Inversamente proporzionale alla distensibilità del vaso ed è tanto maggiore quanto più rigide sono le pareti o quanto più alta è la pressione arteriosa

Carotid Femoral Pulse Wave Velocity



$$CF-PWV = D(m)/t(s)$$

Come suggerito dalle Linee Guida internazionali, la distanza misurata linearmente tra arteria carotide e femorale viene corretta per un fattore di trasformazione di 0.8

$$D [m] / t [s] \times 0.80$$

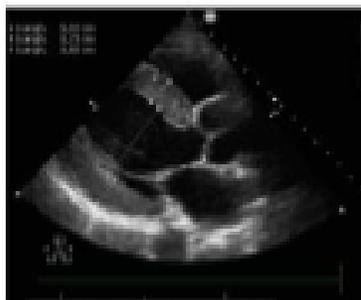
PWV ≥ 10 m/sec viene considerato come indice di danno d'organo macrovascolare



- ♥ Le misurazioni devono essere effettuate con il paziente posto in una stanza con temperatura stabile, dopo 10 minuti di riposo in posizione supina, senza parlare né dormire. Il paziente non deve avere assunto tè, caffè o avere fumato nelle tre ore che precedono l'esame.
Il tonometro deve essere applicato preferibilmente sulla carotide comune destra e sulla femorale comune destra, devono essere registrati più cicli, durante almeno un ciclo respiratorio (5-6 secondi). La distanza deve essere misurata lungo una linea retta con un metro.
- ♥ Si esegue un controllo visivo dell'onda sullo schermo del PC e si seguono gli indici di controllo di qualità mediante il software incorporato allo strumento al fine di ottenere l'appianamento ottimale. Quando la forma dell'onda risulta di qualità ottimale per un periodo di almeno 10 battiti consecutivi, i dati vengono registrati ed elaborati.
- ♥ L'apparecchiatura è in grado di ricostruire la forma d'onda centrale e di stimare accuratamente le pressioni arteriose centrali
- ♥ Per la calibrazione dello strumento si utilizza la pressione arteriosa misurata a livello brachiale.
- ♥ Se il paziente è affetto da aritmie, stenosi carotidea emodinamicamente significativa o la sindrome del seno carotideo, la misurazione non deve essere eseguita.



ECOCARDIOGRAFIA





- ♥ Valutazione di parametri ecocardiografici
- ♥ Valutazione in particolare di dimensioni e funzionalità del ventricolo sinistro e calcolo del *Mechano-Energetic Efficiency indexed for left ventricular mass (MEEi)*
- ♥ MEE indicatore che valuta l'efficienza cardiaca in relazione alla massa del ventricolo sinistro
- ♥ La letteratura suggerisce come il MEEi possa essere un identificatore precoce di una compromissione del circolo coronarico nei pazienti ipertesi

- Stroke volume (SV)**: volume di sangue pompato ad ogni battito
- Heart rate (HR)**: numero di battiti al minuto
- Left ventricular mass (LVM)**: massa del ventricolo sinistro (calcolata tramite ecocardiografia).

$$\mathbf{MEE = Stroke Volume (SV)/Heart Rate (HR)}$$

$$\mathbf{MEEi = SV/Left Ventricle Mass (LVM)}$$



Systemic immune-inflammation index (SII)

e

Systemic Inflammatory Response Index (SIRI)





- ♥ L'infiammazione cronica sembra avere sempre più una sua rilevanza nella patogenesi dell'ipertensione. Di particolare interesse si sono dimostrati essere il rapporto neutrofili-linfociti, sempre più promettente marcatore di malattia e gli *indici di infiammazione immunitaria sistemica (SII)* e *di risposta infiammatoria sistemica (SIRI)* che sembrano essere associati ad un aumentato rischio di mortalità nei pazienti ipertesi.

SII = piastrine x neutrofili/linfociti

SIRI = neutrofili x monociti/linfociti





Criteria di inclusione

- ♥ Diagnosi di angina microvascolare (coronarografia negativa o indagine di secondo livello negativa e PET ammonia positiva per disfunzione microcircolo coronarico)
- ♥ Ambo i sessi
- ♥ Età compresa tra 18 e 80 anni

20 pazienti con **PET ammonia positiva**
confrontati con
20 pazienti con **PET ammonia negativa**

Criteria di esclusione

- ♥ Et  superiore agli 80 anni o inferiore ai 18 anni
- ♥ Diagnosi anamnestica di cardiopatia ischemica cronica o riscontro ad indagine di secondo livello o con PET ammonia di stenosi coronarica significativa
- ♥ Pazienti con neoplasie ematologiche o solide, malattie autoimmuni ed infezione da HIV
- ♥ Pazienti senza diagnosi di dolore toracico
- ♥ Rifiuto del consenso informato



Stato dell'avanzamento del progetto

- 36 pazienti (20 uomini e 16 donne)
- Età media 64 anni
- Pazienti con PET ammonia POSITIVA: 8 (4 uomini e 4 donne)
- Pazienti ipertesi 24
- 4 pazienti sono stati rivalutati a due anni dal primo contatto



Valutazioni preliminari

- ❖ Correlazione tra gli indici di struttura del microcircolo, in particolare il WLR, e il flusso miocardico valutato tramite PET ammonia (all'aumentare del WLR vi è una riduzione del flusso coronarico totale)
- ❖ Il microcircolo retinico sembrerebbe così dimostrarsi una «finestra» sulle alterazioni in altri distretti vascolari, in particolare a livello cardiaco
- ❖ Nei pazienti con PET ammonia positiva, il valore dell'acido urico era significativamente aumentato



Prospettive per la progressione dello studio

- ❖ Nei prossimi mesi si continuerà nel progressivo arruolamento dei pazienti
- ❖ I dati finora raccolti e una loro valutazione preliminare suggeriscono la possibilità di raggiungere gli outcome primari e secondari dello studio e di ottenere risultati significativi che auspicabilmente porteranno ad incrementare la conoscenza sul microcircolo. In questo modo sarà possibile contribuire a confermare l'esistenza e definire l'entità di una correlazione tra circolo retinico, coronarico e loro alterazioni



Grazie