ANA ISABEL ARROYAVE GUZMÁN

**METODOLOGIA PARA CARACTERIZAÇÃO
MECÂNICA DE TECIDO BIOLÓGICO MOLE**

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Engenharia Mecânica.

São Paulo
2015

ANA ISABEL ARROYAVE GUZMÁN

**METODOLOGIA PARA CARACTERIZAÇÃO
MECÂNICA DE TECIDO BIOLÓGICO MOLE**

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Engenharia Mecânica.

Área de Concentração:
Controle e Automação

Orientador:
Raul Gonzalez Lima

São Paulo
2015

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, de janeiro de 2015.

Assinatura do autor _____

Assinatura do orientador _____

Catálogo-na-publicação

Arroyave Guzmán, Ana Isabel

Metodologia para caracterização mecânica de tecido biológico mole / A.I. Arroyave Guzmán. -- versão corr. -- São Paulo, 2015.

155 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Mecânica.

1.Ensaio mecânicos 2.Biomecânica 3.Modelos matemáticos 4.Deformação e estresses 5.Tensão dos materiais I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Mecânica II.t.

Aos meus pais Nicolás Arroyave e Ángela Guzmán, sem o seu apoio e carinho nada teria sido possível.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador o Professor Doutor Raul Gonzalez Lima, pelas oportunidades, ideias, direcionamentos e apoio, refletidos não só nas páginas que seguem, mas também na sequência da minha carreira acadêmica e profissional.

Aos Professores Doutores Renato Natal Jorge e Pedro Martins, pela oportunidade de me permitir realizar os ensaios mecânicos no Laboratório de Biomecânica da Universidade do Porto, e pela orientação e apoio neste processo.

Aos meus amigos Rafael Morgado e Diego Cardona, pela paciência e colaboração.

Deixo um agradecimento em geral ao Laboratório de Engenharia Ambiental e Biomédica – LAB pela possibilidade de desenvolver o trabalho realizado ao longo da tese. Sem querer citar nomes, o meu muito Obrigada pelas ideias, incentivos e convívio.

À USP, por me propiciar todos os recursos necessários para meu desenvolvimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado para a realização desta pesquisa

À toda minha família, especialmente aos meus pais (Nicolás e Ángela) e irmãos (Maria Fernanda y Julián Camilo), por me motivarem nos momentos difíceis e compartilhar comigo os momentos felizes.

Agradeço a Deus: Pai, Filho e Espírito Santo, por abençoar meus dias e sonhos, e pela sustentação física, mental e espiritual ao longo da minha vida.

RESUMO

Diversas metodologias e tipos de ensaios mecânicos têm sido utilizados para o estudo das propriedades mecânicas de tecidos biológicos moles, tais como as artérias. O ambiente de carga a que uma artéria é submetida pode ser simulado *in-vitro* mediante testes de tração biaxial. Uma máquina de tração biaxial está sendo construída atualmente no Laboratório de Engenharia Ambiental e Biomédica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Para conduzir futuras pesquisas neste tipo de equipamento uma metodologia para a realização do teste e o processamento dos dados foi proposta e testada. Testes de tração biaxiais em aortas e subclávias suínas foram feitos para avaliar a metodologia. As amostras foram levadas até à ruptura nos ensaios. Curvas de tensão-deformação foram obtidas. O limite à ruptura e o limite elástico foram calculados. O modelo de Função de Energia de Deformação bidimensional para materiais hiperelásticos proposto por Fung e o modelo bicamada proposto por Holzapfel foram utilizados para realizar um ajuste dos dados experimentais. Um programa computacional foi implementado para o processamento dos dados e para estimar as constantes dos modelos matemáticos. Análises histológicas das amostras foram realizadas com o objetivo de estimar a média do conteúdo de colágeno e elastina no tecido. Resulta deste trabalho uma descrição de metodologia para caracterização de tecidos biológicos moles.

Palavras-chave: Ensaios Mecânicos. Biomecânica. Modelos Matemáticos. Deformações e estresses.

ABSTRACT

Several methods and types of mechanical tests have been used to study the mechanical properties of soft biological tissues such as arteries. The load environment that an artery is subjected can be simulated in vitro through biaxial tensile tests. A biaxial tensile machine is currently being built at the Laboratory of Biomedical and Environmental Engineering at the Polytechnic School of the University of São Paulo. To conduct further research on this kind of machine, a methodology for performing the test and data processing was proposed and tested. The biaxial tensile tests on aortas and subclavian porcine arteries were done to evaluate the methodology. The samples were tested up to the rupture. Stress-strain curves were obtained. The limit to rupture and the elastic limit were estimated. The two-dimensional model of strain energy function for hyperelastic materials proposed by Fung and the bilayer model proposed by Holzapfel were used to perform an adjustment of the experimental data. A computer program was implemented for data processing and to estimate the constants of the mathematical models. Histological analyses of the samples were performed in order to estimate the average content of collagen and elastin in the tissue. A description of the methodology for soft biological tissue characterization results from the present work.

Keywords: Mechanical testing. Biomechanics. Mathematical Models. Strains and Stresses.

SUMÁRIO

Lista de Ilustrações	VIII
Lista de Tabelas	XIV
Lista de Abreviaturas e Siglas	XV
Lista de Símbolos	XVI
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivo Geral	4
1.2 Objetivos específicos	4
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Sistema Circulatório	5
2.1.1 Vasos sanguíneos: Artérias	7
2.1.1.1 Estrutura e composição da parede arterial	7
Artérias elásticas	10
Artérias musculares	10
Arteríolas	11
2.1.2 Introdução ao comportamento mecânico das paredes arteriais sadias . .	12
2.1.3 Não linearidade do comportamento mecânico do tecido arterial	14
2.1.4 Comportamento mecânico alterado	17

	Aterosclerose	17
	Aneurismas	18
2.2	Ensaio mecânicos em tecidos biológicos moles	19
2.2.1	Conservação do tecido	20
2.2.2	Ensaio de tração uniaxial	21
2.2.2.1	Equipamentos mais comuns para realizar o ensaio de tração uniaxial	21
2.2.3	Ensaio de tração biaxial	23
2.2.3.1	Ensaio de tensão biaxial planar	25
2.2.3.2	Ensaio de tensão biaxial por extensão-insuflação	27
2.3	Formulação Matemática Teórica	31
2.3.1	Descrição dos estados de tensão e deformação tridimensionais	31
2.3.2	Elasticidade Não linear	33
2.3.2.1	Cinemática da elasticidade Não-Linear	34
2.3.2.2	Tensão e equilíbrio	36
2.3.2.3	Elasticidade	38
2.3.2.4	Deformações Biaxiais Planares	40
	Materiais isotrópicos	40
	Materiais transversalmente isotrópicos	41
2.3.2.5	Resposta planar de um material anisotrópico	45
2.3.2.6	Modelos Constitutivos	47
	Aplicação da teoria bidimensional ao modelo de Fung	50

2.3.2.7	Modelo da parede arterial multi-camadas	52
	Modelo constitutivo proposto por Holzapfel	52
2.4	Histologia	55
2.4.1	Preparação das lâminas histológicas	55
2.4.2	Corte	57
2.4.3	Coloração	57
3	METODOLOGIA	59
3.1	Seleção da amostra	59
3.2	Conservação do tecido	59
3.2.1	Temperatura	60
3.2.2	Hidratação	60
3.3	Elaboração das amostras	61
3.3.1	Ferramentas utilizadas na elaboração das amostras	61
3.3.2	Procedimento	61
3.4	Critério de exclusão da amostra	64
3.5	Medição da espessura	64
3.6	Fixação da amostra	65
3.6.1	Ferramentas utilizadas na fixação das amostras	65
3.6.2	Procedimento	67
3.7	Teste de tração biaxial planar	69
3.7.1	Descrição do Equipamento - Máquina de tração biaxial	69
3.7.1.1	Características do sistema	69

3.7.1.2	Hardware	71
3.7.1.3	Software	72
3.7.1.4	Limitações do equipamento	73
	Projetistas	74
3.7.2	Realização do teste de tração biaxial planar	74
3.8	Processamento dos dados	76
3.8.1	Dados	76
	Formato	76
	Descrição do arquivo	76
3.8.2	Tratamento matemático	77
3.8.2.1	Princípios biomecânicos	77
3.8.2.2	Modelagem constitutiva	78
3.8.2.3	Pós-Processamento dos dados	79
3.9	Histologia	80
3.9.1	Fixação	80
3.9.2	Desidratação	80
3.9.3	Clareamento	80
3.9.4	Inclusão	80
3.9.5	Corte	81
3.9.6	Coloração	81
3.9.7	Processamento das imagens histológicas	81

4.1	Amostras	86
4.2	Comportamento Mecânico	87
4.3	Modelagem constitutiva	101
	Modelo de Fung	101
	Modelo de Holzapfel	103
4.4	Histologia	105
4.4.1	Microestrutura	105
5	CONCLUSÕES	112
 Apêndice A – Programa para o processamento dos dados experimentais e a estimação		
	das constantes dos modelos matemáticos	115
	Programa Geral	115
	Descrição das funções utilizadas no programa	122
	Função Arruma_dados	122
	Função Cortadados	123
	Função Smoothing	124
	Função Derivadados	125
	Função Erro	126
	Função Fung	128
	Função Fung2	129
	Função Holzapfel	129
	Função Holzapfel2	130
	Função Holzapfel_fit	131

Apêndice B - Protocolo de teste	134
ESCOPO	134
DEFINIÇÕES E TERMINOLOGIA	134
RESUMO DO MÉTODO DE TESTE	136
SELEÇÃO DA AMOSTRA	137
CONSERVAÇÃO DO TECIDO	137
Temperatura	137
Hidratação	138
ELABORAÇÃO DAS AMOSTRAS	138
Medidas de segurança	138
Procedimento para a elaboração da amostra	139
Critério de exclusão da amostra	140
Medição da espessura	140
EQUIPAMENTO - Máquina de tração biaxial	141
Características do sistema	141
Hardware	142
Software	143
Limitações do equipamento	143
Projetistas	143
FERRAMENTAS	143
Elaboração das amostras	144
Fixação da amostra	144

Ensaio Mecânico	145
Máquina de ensaios de tração biaxial	145
Câmera fotográfica com função de vídeo de alta resolução	145
PROCEDIMENTO	145
Obtenção da amostra	145
Fixação da amostra	145
Preparação do equipamento	146
Teste	147
DADOS	147
Formato	147
Descrição do arquivo	147
Apêndice C – Tabela Intervalo de Confiança dos Parâmetros do modelo de Holzapfel	149
Referências	151

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1	Sistema Cardiovascular. Modificado de (23)	6
2	Desenho esquemático ilustrando a estrutura de uma artéria muscular (de médio calibre). O aspecto deste vaso não é bem o que é observado em preparados histológicos habituais. De fato, neste desenho, a luz do vaso é muito maior, e sua camada muscular é mais fina do que a que se vê habitualmente em cortes histológicos. Alguns trabalhos experimentais demonstraram que esse é o aspecto que se observa <i>in-vivo</i> . Logo, após a morte, ocorre uma intensa contração das artérias com consequente diminuição da sua luz, ondeamento da membrana elástica interna e espessamento da camada muscular. Modificado de (22).	9
3	Representação esquemática da parede de uma artéria elástica (a) e uma artéria muscular (b). (a) Estrutura da parede de uma artéria elástica de ave. Esta parede é feita de camadas fragmentadas de músculo liso embebidas numa fina rede de fibras elásticas(1) alternadas com camadas de colágeno(2). (b) Estrutura da parede de uma artéria muscular de ave que consiste numa fina túnica íntima, uma túnica média feita de células de músculo liso e fibras elásticas(3), e uma grossa adventícia com uma bem definida lâmina elástica externa(4). A parte superior do diagrama compara a espessura da parede das artérias elástica e muscular com um diâmetro de lúmen similar. Modificado de (26).	11
4	Gráfico da tensão lagrangiana (T) pela razão de alongamento (λ) de um tecido mole preconditionado. Modificado de (38).	14
5	Comportamento mecânico típico dos tecidos biológicos moles e suas propriedades mecânicas clássicas. E_s : módulo secante, E_t : módulo tangente, σ_{max} : resistência à tração, σ_Y : limite elástico, λ_Y : limite à elongação, U_s : densidade de energia de deformação. Modificado de (39).	15
6	Curva de tensão-deformação mostrando a histerese para cada ciclo de carregamento e descarregamento. Pode-se observar que em cada ciclo a histerese vai diminuindo. Modificado de (39).	17

7	Equipamento para realizar o teste de tensão uniaxial para a avaliação das propriedades biomecânicas do tecido da bexiga. Modificado de (48).	22
8	Montagem do ensaio de tração. A) saída do soro fisiológico, B) Corpo de prova, C) Entrada do soro fisiológico, D) Peças de fixação da amostra. Modificado de (49).	22
9	Desenho esquemático do sistema para realizar o teste de tração biaxial planar. Modificado de (57).	26
10	Diagrama esquemático do equipamento para realizar o teste de tração biaxial extensão-pressão. 1a. Cantiléver de aço inoxidável, 1b. Berço arterial do transdutor de diâmetro, 2. Transdutor de força, 3. parafusos de ajuste de altura, 4. Parafusos de ajuste do comprimento axial, 5. Amostra arterial, PSS Solução Salina Fisiológica, WB Banho de água. Modificado de (12).	28
11	(a) Diagrama esquemático do equipamento para realizar o teste de extensão-insuflação. Modificado de (64).	29
12	Diagrama do sistema para realizar o teste de tração biaxial extensão-pressão. Modificado de (65).	29
13	Corpo de prova arterial humano para ensaio mecânico biaxial. Modificado de (65).	30
14	Corpo de prova arterial humano para ensaio mecânico biaxial. Modificado de (5).	30
15	Corpo de prova de intestino grosso de rato para ensaio mecânico biaxial. Modificado de (64). .	30
16	Deformação de uma membrana retangular. A membrana é sujeita a forças de tensão nas direções x e y . Não existe força de cisalhamento agindo nos eixos. Modificado de (40).	32
17	Transformação de um elemento de área NdA na configuração de referência B_r no elemento de área nda a na configuração deformada B . Modificado de (32)	37
18	Gráfico da tensão adimensional $t^*=t/\mu$ contra a elongação λ para a relação de tensão-elongação uniaxial. A característica desse modelo é a assíntota vertical associada com a singularidade na tensão. Modificado de (32)	48
19	Desenho esquemático do Micrótomo. Modificado de (39).	56
20	Molde para a elaboração das peças	61

21	Limpeza do tecido	62
22	(a)Cilindro de aproximadamente 3 cm de comprimento, (b)Anel de cada cilindro para realizar a histologia de cada amostra testada e (c)Resto do tecido colocado em soro fisiológico.	62
23	Retângulo Amostra	63
24	Amostra em forma de cruz com tecido colado ao redor	63
25	Excesso de tecido na amostra	64
26	Formato final da amostra	64
27	Medição da espessura	65
28	Suporte principal	66
29	1.Peças de fixação 1, 2.Peças de fixação 2, 3.Porcass de fixação, 4.Parafusos de fixação	66
30	Cunhas poliméricas que permitem um melhor alinhamento da amostra	67
31	Peças no suporte	68
32	Colocação da amostra no suporte	68
33	Amostra fixa no suporte	69
34	Mesa de ensaios que contem a máquina de tração biaxial planar	70
35	Peças de união da amostra ao equipamento	71
36	Caixa de alumínio que serve como banho para submergir tecidos biológicos	72
37	(a)Controle independente dos motores (b)Controle do ensaio por eixos.	73
38	(a)Configuração do ensaio de pré-condicionamento, (b)Configuração do ensaio de ruptura.	75
39	Coloração com o corante de Weigert- Van Giesson da amostra 8-02. 1. Colágeno (vermelho), 2.Elastina (preto), 3.Outros tecidos conjuntivos e músculo liso (amarelo).	82
40	Imagem da componente 'azul' da imagem original que serve para de determinar a porcentagem de elastina.	82

41	Imagem que resulta de subtrair a imagem 'azul' processada da imagem original.	83
42	Imagem da componente 'verde' da imagem 3.20 que serve para de determinar a porcentagem de preto na mesma.	84
43	Imagem que resulta da subtração da imagem 42 na imagem 41	85
44	Formato final da amostra	86
45	Fotografia da ruptura da amostra de aorta suína 8-02	87
46	Curvas dos dados experimentais sem nenhum tipo de processamento. Eixo 1-Preto, Eixo 2- Vermelho	88
47	Dados experimentais brutos e suavizados dos dois eixos na amostra 8-02	88
48	Curva de Tensão de Cauchy-Elongação ($\sigma - \lambda$)	90
49	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E)	90
50	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Aortas torácicas	91
51	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Aortas torácicas	91
52	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Aortas abdominais	92
53	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Aortas abdominais	92
54	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Sub- clávias Esquerdas	93
55	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E)) do eixo 2 das Sub- clávias Esquerdas	93

56	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Aortas torácicas	96
57	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Aortas torácicas	97
58	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Aortas abdominais	97
59	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Aortas abdominais	98
60	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E)) do eixo 1 das Sub-clávias Esquerdas	98
61	Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Sub-clávias Esquerdas	99
62	Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 1. (Preta)experimental (Verme-lha)teórica	102
63	Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 2. (Preta)experimental (Verme-lha)teórica	103
64	Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 1. (Preta)experimental (Verme-lha)teórica. Modelo Holzapfel	107
65	Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 2. (Preta)experimental (Verme-lha)teórica. Modelo Holzapfel	108
66	Coloração com HE da amostra 8-02. 1.Elastina (rosa escuro), 2. Núcleo de uma célula de músculo liso (roxo), 3. Célula de Músculo liso (cor de rosa ao redor do núcleo roxo).	108
67	Coloração com o corante de Weigert- Van Giesson da amostra 8-02. 1. Colágeno (vermelho), 2.Elastina (preto), 3.Outros tecidos conjuntivos e músculo liso (amarelo).	109

68	Porcentagens dos valores da média para o conteúdo celular passivo em artérias (a)Aortas Abdominais, (b)Aortas Torácicas e (c)Subclávias Esquerdas.	111
69	Limpeza do tecido	139
70	(a)Amostra cilíndrica, (b)Anel de tecido colocado num cassete histológico e, (c)Tecido colocado em soro fisiológico.	139
71	Retângulo Amostra	140
72	Amostra em forma de cruz com tecido colado ao redor	140
73	Excesso de tecido na amostra	140
74	Formato final da amostra	140
75	Medição da espessura	141
76	Peças de união da amostra ao equipamento	142
77	Caixa de alumínio que serve como banho para submergir tecidos biológicos	142
78	Molde para a elaboração das peças	144
79	Suporte principal	144
80	Peças no suporte	145
81	Colocação da amostra no suporte	146
82	Amostra no suporte	146
83	Amostra no suporte	146
84	Equipamento mostrando a temperatura desejada controlada	146

LISTA DE TABELAS

1	Principais técnicas de coloração histológica	58
2	Tensões e Deformações Máximas das amostras quando levadas até ruptura	94
3	Média das Tensões e Deformações Máximas dos grupos de amostras quando levadas até ruptura	95
4	Limite elástico em tensão e deformação. Módulo de elasticidade Tangente E_{tan}	100
5	Média das Tensões e Deformações Máximas das amostras em Regime Elástico	101
6	Tensões e deformações estimadas em outras pesquisas sob condições controladas de carga ou deslocamento em aortas humanas e suínas	101
7	Tensões e deformações estimadas em outras pesquisas levando as amostras de aortas humanas e suínas até à ruptura	101
8	Constantes do modelo tipo Fung	104
9	Constantes do modelo bicamada tipo Holzapfel	106
10	Média e Desvio padrão das porcentagens do conteúdo celular nos grupos de amostras	109
11	Intervalo de Confiança das Constantes do modelo bicamada tipo Holzapfel	150

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CV Coeficiente de Variação

FED Função de Energia de Deformação

FEUP Faculdade de engenharia de Universidade do Porto

HE Hematoxilina-Eosina

IDME Instituto de Engenharia Mecânica-Pólo FEUP

LAB Laboratório de Engenharia Ambiental e Biomédica

PMMA Poli-metil metacrilato

RQM Resíduo Quadrático Médio

USP Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

$A_{1...6}$	Constantes do material adimensionais no modelo de Fung
α	Constante positiva do modelo de Função de Energia de Deformação
α_0^i	Ângulos definidos entre as direções das fibras de reforço (diagonais) e as fibras axiais.
β	Constante positiva do modelo de Função de Energia de Deformação
B	Tensor de deformação esquerdo de Cauchy-Green
B	Configuração Deformada
C	Tensor de deformação direito de Cauchy-Green
c	Constantes do material com unidades de tensão
c_1^1	Constante do material do modelo de Holzapfel
c_1^2	Constante do material do modelo de Holzapfel
c_2^1	Constante do material do modelo de Holzapfel
c_2^2	Constante do material do modelo de Holzapfel
$c_1^{3,4}$	Constante do material do modelo de Holzapfel
$c_2^{3,4}$	Constante do material do modelo de Holzapfel
ϵ	Deformações infinitesimais
E	Deformação de Green
E_s	Módulo de Elasticidade Secante
E_{tan}	Módulo de Elasticidade Tangente
F	Força
F	Tensor de Gradiente de Deformação

h	Espessura
I	Invariantes do tensor de deformação de Green
$\mathbf{I}$	Tensor Identidade
J	Jacobiano
k_1	Parâmetro do material que representa a tensão
k_2	Parâmetro adimensional do material
L	Cumprimento
λ	Elongação
λ_U	Elongação Final
σ	Tensão de Cauchy
σ_{max}	Máxima resistência à tração
μ	Constante positiva do modelo de Função de Energia de Deformação
$\mathbf{P}$	Primeira Tensão de Piola-Kirchhoff
R^2	Coefficiente de correlação
S	Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff
T	Tensão de Euler
t	Carga
U_s	Densidade de Energia de Deformação
W	Função de Energia de Deformação
$\hat{W}$	Função de Energia de Deformação Reduzida
$\mathbf{X}$	Vetor de posição
$\mathbf{x}$	Mapeamento de B_r a B

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares estão entre as principais enfermidades que afetam o mundo ocidental, sendo responsáveis por cerca de 29,7% dos óbitos por ano no Brasil. A principal característica das doenças cardiovasculares é a presença da aterosclerose, acúmulo de placas de gorduras nas artérias que ao longo dos anos impede a passagem do sangue(1). Muitas destas doenças são causadas pelo sedentarismo, stress, má alimentação ou estilo de vida, e acabam por promover o enfraquecimento das paredes vasculares (1). O tecido degenerado cede às pressões e tensões repetidamente exercidas pelo fluxo sanguíneo, causando assim uma expansão gradual do tecido (2). Quando um segmento da artéria ou veia apresenta dilatação anormal, esta é então definida como um aneurisma (3).

O aneurisma arterial é uma doença na qual na maior parte dos casos não apresenta sintomas, sendo geralmente descoberta por acaso em exames clínicos de diagnóstico por imagem (4). Apesar de não produzir sintomas, o aneurisma arterial pode provocar o rompimento súbito de vasos causando a perda de uma grande quantidade de sangue (4). Quando um aneurisma na aorta se rompe, é a causa de óbito em mais da metade dos casos (4).

Uma vez detectado o aneurisma, e devido ao limitado conhecimento dos fatores que podem causá-lo, a técnica mais comum para determinar a taxa de expansão do vaso é detectar o tamanho crítico do ponto de ruptura. Por outro lado, o parâmetro mais comumente utilizado para estimar o risco de ruptura é o diâmetro da artéria em sístole (2). Mas é sabido que pequenos aneurismas alcançaram a ruptura enquanto outros de grande tamanho mantiveram-se

estáveis e não romperam. A falta de acurácia deste método de avaliação da doença acontece provavelmente porque não se leva em consideração a rigidez e/ou as alterações teciduais. Assim, o vaso pode ter uma condição que, independentemente do diâmetro apresentado, requer ou não de tratamento cirúrgico (5).

Deste modo, uma melhoria no processo de diagnóstico e avaliação de tratamentos para este tipo de doenças depende da caracterização do ambiente físico-químico e das propriedades mecânicas das artérias. Além disso, o conhecimento detalhado do seu comportamento mecânico é essencial para o desenvolvimento de biomateriais protéticos e os seus equivalentes teciduais(5).

Os métodos mais avançados para o estudo das propriedades mecânicas dos tecidos biológicos, tais como o comportamento mecânico em tensão-deformação, a Função de Energia de Deformação, a rigidez, entre outras, utilizam máquinas de tração biaxial (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16). Diversas metodologias e configurações têm sido utilizadas para esta finalidade. Vários autores descrevem detalhadamente o procedimento para a preparação e realização dos testes, mas não convergem numa metodologia específica (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17). Matematicamente, a caracterização do comportamento mecânico dos tecidos biológicos moles, por exemplo, as artérias, tem-se desenvolvido no quadro da mecânica dos meios contínuos. Neste sentido, vários modelos matemáticos baseados na Função de Energia de Deformação do material têm sido propostos(18, 19, 20).

No Brasil, ainda não estão à disposição máquinas de tração biaxial para caracterização deste tipo de tecidos. Porém, uma máquina de tração biaxial vem sendo desenvolvida no Laboratório de Engenharia Ambiental e Biomédica (LAB) da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Para conduzir futuras pesquisas é necessária a elaboração de uma metodologia que permita o uso adequado e padronizado do equipamento. O tipo de tratamento matemático que deve ser feito em cada amostra para conseguir caracterizar o seu comportamento mecânico também deve ser descrito.

Portanto, o objetivo deste projeto é desenvolver uma metodologia para a caracterização mecânica de tecidos biológicos, expondo os procedimentos aos que devem ser submetidos os dados de carga-deslocamento registrados pelo equipamento.

Ensaio de tração biaxial em tecido arterial suíno serão feitos para avaliar a metodologia. Na metodologia são incluídas secções relacionadas com a conservação do tecido, a elaboração das amostras e a preparação para uma análise histológica. Entre os procedimentos realizados com os dados destacam-se os seguintes: a filtragem, as curvas de tensão-deformação e o ajuste dos dados experimentais com os modelos teóricos baseados na Função de Energia de Deformação do material. Uma análise histológica dos tecidos testados será feita para determinar o conteúdo percentual médio dos seus principais componentes extracelulares passivos (colágeno e elastina).

Assim, o principal objetivo e contribuição desta pesquisa será determinar um modelo de Função de Energia de Deformação que permita descrever e simular o comportamento mecânico do tecido arterial. O desenvolvimento de um código computacional possibilitará determinar os parâmetros matemáticos que permitem ajustar o modelo aos dados experimentais.

1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral desta dissertação é propor uma metodologia para a caracterização das propriedades mecânicas de tecidos biológicos moles como as artérias, mediante ensaios de tração biaxial planar.

1.2 Objetivos específicos

O trabalho desenvolvido nesta dissertação obedece aos seguintes objetivos específicos para atingir o objetivo geral. No que se refere a aspectos da amostra:

- Estabelecer os parâmetros para determinar a qualidade das amostras
- Sugerir e implementar um método para a conservação do tecido depois da coleta das amostras
- Propor um protocolo que permita obter uma sequência de passos padrão para a realização do teste
- Validar a metodologia proposta com espécimes de tecido arterial aórtico suíno

No referente às características mecânicas do tecido:

- Obter as curvas de tensão-deformação do tecido
- Determinar as propriedades mecânicas de tecidos moles, tais como o limite de resistência à tração e o limite elástico
- Determinar um modelo de equações constitutivas adequadas para ajustar os dados experimentais
- Estimar os parâmetros que melhor ajustem os modelos aos dados experimentais
- Determinar as porcentagens de colágeno e elastina médias presentes nas amostras de tecido arterial.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sistema Circulatório

O *sistema circulatório* é o mediador do movimento contínuo de todos os líquidos corporais, e sua principal função é o transporte de oxigênio e nutrientes para os tecidos, e de dióxido de carbono e outros produtos metabólicos de excreção a partir dos tecidos(21). Este abrange os sistemas cardiovascular e linfático.

O *sistema cardiovascular* é formado por: coração, artérias, capilares e veias. O sistema cardiovascular é responsável por conduzir elementos essenciais para todos os tecidos do corpo: oxigênio para as células, hormônios (que são liberados pelas glândulas endócrinas) para os tecidos, condução de dióxido de carbono para sua eliminação nos pulmões, entre outras. Além disso, apresenta um importante papel no sistema imunológico e na termorregulação. O transporte de nutrientes desde os locais de absorção até as células dos diferentes órgãos também é realizado por este sistema(22). O *sistema linfático* é apenas um sistema passivo de drenagem para devolver o excesso de líquido extravascular, a *linfa*, ao sistema vascular sanguíneo.

O *sistema vascular sanguíneo* é constituído por um conjunto de vasos, no interior dos quais o fluxo de sangue é mantido pelo bombeamento contínuo do coração. O *sistema arterial* fornece uma rede de distribuição para os *capilares* que são os sítios principais do intercâmbio de gases e de metabólitos entre os tecidos e o sangue.

De modo geral, o sistema cardiovascular mantém as células em condições adequadas para que consigam sobreviver e desempenhar suas funções individuais da melhor maneira, permitindo a manutenção da homeostase. Este sistema pode ser visto, estritamente, como uma rede de distribuição do sangue (Fig. 1).

Figura 1: Sistema Cardiovascular. Modificado de (23)

2.1.1 Vasos sanguíneos: Artérias

2.1.1.1 Estrutura e composição da parede arterial

O sistema arterial é a porção de alta pressão do sistema circulatório. Sua função é transportar o sangue oxigenado sob uma pressão elevada aos tecidos. Por esta razão as artérias têm paredes vasculares fortes e o sangue flui rapidamente por elas (21). A pressão arterial varia entre a máxima pressão durante a contração cardíaca, chamada de pressão sistólica, e a mínima, ou pressão diastólica.

Todos os vasos sanguíneos acima de certo calibre apresentam um plano geral comum de construção constituído por três camadas (22). No entanto elas nem sempre são muito nítidas. Os diferentes vasos apresentam variações acentuadas de estrutura e existe uma transição gradual de um tipo de vaso para outro.

De modo geral os vasos sanguíneos apresentam as seguintes camadas:

- **Túnica íntima (túnica interna):** Esta apresenta uma camada de células endoteliais que reveste a superfície interna do vaso. Este epitélio apoia-se na camada subendotelial, que consiste em tecido conjuntivo frouxo, que pode ocasionalmente apresentar células musculares lisas esparsas (22), e cuja espessura pode variar pela topografia, pela idade ou por causa de doenças. Nas artérias, a túnica íntima apresenta uma membrana limitante elástica interna que é a camada mais externa da íntima, separando-a da túnica média.

Em adultos sadios a túnica íntima é muito fina e faz uma contribuição insignificante às propriedades mecânicas sólidas da parede arterial (20), mas pode-se tornar significativa quando a espessura e/ou a rigidez da parede arterial aumentam por causa da idade e/ou por doenças entre elas a aterosclerose.

- **Túnica Média:** Esta é a camada intermediária da artéria e consiste numa complexa rede tridimensional de células de músculo liso e fibras de elastina e colágeno (20). As lâminas elásticas separam a túnica média num número variável de fibras reforçadas que estão dispostas de forma concêntrica e bem definidas. Existem evidências de que ao longo do comprimento da artéria na túnica média podem ser encontradas fibras elásticas paralelas (24).

A túnica média é separada das túnicas íntima e da adventícia pelas lâminas elásticas interna e externa, respectivamente. Em artérias musculares, estas lâminas são estruturas prominentes, mas nas artérias elásticas são dificilmente distinguíveis. A orientação e a estreita ligação entre as fibras elásticas e colágenas, e as lâminas elásticas e as células de músculo liso formam uma hélice fibrosa contínua (20). Este arranjo estruturado dá à túnica média uma elevada resistência, resiliência e a habilidade de resistir a cargas nas direções circunferencial e longitudinal. Desde uma perspectiva mecânica, a média é a camada mais significativa numa artéria elástica sadia (20).

- **Túnica adventícia:** Esta é a camada mais externa da artéria. Consiste principalmente em fibroblastos, fibrócitos (células que produzem o colágeno e a elastina) e tecido conjuntivo com fibras colágenas tipo I e elastina. O arranjo paralelo de fibras elásticas também pode ser encontrado na túnica adventícia (24, 25). Sendo que é rodeada continuamente por tecido conectivo frouxo e continua gradativamente com o tecido conjuntivo dos órgãos vizinhos (22). Os vasos de grande calibre em geral, apresentam os *vasa vasorum*, que são arteríolas, capilares e vênulas que ramificam-se profusamente. Estes nutrem as túnicas adventícia e média onde os metabolitos não chegariam por difusão a partir da luz do vaso devido à grande espessura da parede. A espessura da túnica adventícia depende fortemente do tipo de artéria (elástica ou muscular), da função fisiológica do vaso sanguíneo e do local topográfico. Por exemplo, nos vasos cerebrais virtualmente não existe a adventícia (20).

As fibras onduladas de colágeno estão dispostas em estruturas helicoidais e servem para reforçar a parede. Elas contribuem significativamente à estabilidade e resistência da parede arterial. A túnica adventícia é muito menos rígida que a túnica média e tem uma configuração livre de carga e a baixas pressões. No entanto, em altos níveis de pressão, as fibras de colágeno alcançam comprimentos lineares e a túnica adventícia muda para um tubo rígido, o qual previne a artéria da sobre-elongação e da ruptura(20).

A figura 2 apresenta um esquema da estrutura da artéria.

Figura 2: Desenho esquemático ilustrando a estrutura de uma artéria muscular (de médio calibre). O aspecto deste vaso não é bem o que é observado em preparados histológicos habituais. De fato, neste desenho, a luz do vaso é muito maior, e sua camada muscular é mais fina do que a que se vê habitualmente em cortes histológicos. Alguns trabalhos experimentais demonstraram que esse é o aspecto que se observa *in-vivo*. Logo, após a morte, ocorre uma intensa contração das artérias com consequente diminuição da sua luz, ondeamento da membrana elástica interna e espessamento da camada muscular. Modificado de (22).

O fluxo de sangue para os diferentes órgãos e tecidos pode ser regulado pela variação do diâmetro dos vasos de distribuição. Há uma transição gradativa da estrutura e da função entre os tipos de vasos arteriais, em vez de uma demarcação abrupta. Em geral, a quantidade de tecido elástico diminui à medida que os vasos tornam-se menores e o componente muscular liso assume uma prominência relativamente maior. Assim, o sistema arterial é composto por três tipos de vasos principais. Estes podem ser classificados em artérias elásticas, artérias musculares e arteríolas.

Artérias elásticas Também chamadas de artérias de condução, conformam as grandes artérias como a aorta, a artéria pulmonar, a carótida, a artéria subclávia e o tronco braquiocefálico. Neste caso, a túnica média está formada por uma subsecção de lâminas elásticas concêntricas (e algumas fibras elásticas dispostas longitudinalmente, como foi mencionado), entre as que são dispostas as células musculares lisas e fibras colágenas. Na túnica média existe grande quantidade de elastina e por isso, tem uma cor amarelada. Nesta, a elastina forma um conjunto de membranas perfuradas e intercaladas por células musculares e material extracelular. O sangue descarregado nelas pelos ventrículos distende a elastina, e após a contração ventricular, as artérias voltam ao normal. Este tipo de artérias impulsionam o sangue e mantém a pressão arterial até nova atividade dos ventrículos. Devido à importância do componente elástico da média, o predomínio de componentes elásticos é fundamental para a propriedade pulsátil das artérias.

Artérias musculares Constituem as artérias medianas e pequenas do organismo. Nesta, a túnica média forma uma camada compacta, essencialmente muscular, com uma fina rede de lâminas elásticas. As lâminas elásticas interna e externa são bem visíveis. Um exemplo deste tipo de artéria são as artérias coronárias.

As artérias musculares (distribuidoras) possuem na túnica íntima uma camada subendotelial relativamente espessa e uma lâmina elástica interna bem desenvolvida. A túnica média pode ter mais de 40 camadas de fibras musculares lisas. Se a função das artérias maiores é manter a pressão sistólica, as artérias musculares são responsáveis por distribuir o sangue às diversas partes do corpo. A túnica adventícia varia em espessura e consiste principalmente em fibras elásticas e colágenas.

Uma representação esquemática da parede arterial numa artéria elástica (a) e numa artéria muscular (b) é mostrada na figura 3.

Figura 3: Representação esquemática da parede de uma artéria elástica (a) e uma artéria muscular (b). (a) Estrutura da parede de uma artéria elástica de ave. Esta parede é feita de camadas fragmentadas de músculo liso embebidas numa fina rede de fibras elásticas(1) alternadas com camadas de colágeno(2). (b) Estrutura da parede de uma artéria muscular de ave que consiste numa fina túnica íntima, uma túnica média feita de células de músculo liso e fibras elásticas(3), e uma grossa adventícia com uma bem definida lâmina elástica externa(4). A parte superior do diagrama compara a espessura da parede das artérias elástica e muscular com um diâmetro de lúmen similar. Modificado de (26).

Arteríolas São as artérias de menor tamanho e contribuem fundamentalmente à regulação da pressão sanguínea, mediante a contração variável do músculo liso nas paredes e à regulação do aporte sanguíneo aos capilares.

De fato, a regulação principal do fluxo sanguíneo global e da pressão sanguínea geral é produzida mediante a regulação coletiva das arteríolas: são os principais tubos ajustáveis no sistema sanguíneo onde acontece a mais alta queda de pressão.

2.1.2 Introdução ao comportamento mecânico das paredes arteriais sadias

As propriedades mecânicas das artérias são um importante determinante da hemodinâmica dos corpos. As características mecânicas dos vasos sanguíneos são determinados pelos seus componentes ativos e passivos(27). Os componentes passivos mais significativos são os tecidos conectivos fibrosos: elastina e colágeno.

A elastina é uma proteína fibrosa com notáveis propriedades elastoméricas, ou seja, comporta-se mecanicamente como se estivesse composta em grande parte por longas cadeias elásticas independentes. Algumas pesquisas mostram que a elastina age como um material hiperelástico(24, 28, 29). O segundo maior tecido conectivo na parede arterial é o colágeno. A maior parte da rigidez das artérias, especialmente em grandes distensões é atribuída ao colágeno. O colágeno é uma proteína fibrosa que possui uma estrutura helicoidal com três cadeias de proteínas enroladas ao redor de um eixo central. Numerosas uniões entre as cadeias estabilizam a hélice, e provavelmente, são a fonte da grande rigidez mecânica do colágeno. Sob grandes deformações do colágeno e do vaso intacto viram bastante inextensíveis (27).

Quando as artérias são pressurizadas, elas são submetidas à distensão em todas as direções (circunferencial, longitudinal e radial). A distensão circunferencial e longitudinal acontecem com quase nenhuma torção no vaso, por isso que as deformações com cisalhamentos são muito pequenas(27). A distensibilidade da parede arterial é determinada amplamente pela compliância da elastina presente nas paredes.

In-vivo, o movimento arterial acontece predominantemente na direção circunferencial com pequenos deslocamentos na direção longitudinal. Todas as artérias são distensíveis a baixas pressões e pequenas dimensões, e tornam-se mais rígidas a elevadas pressões e grandes dimensões. O tecido conectivo retraído fornece distensibilidade a pequenas dimensões, enquanto que

a elastina esticada e as fibras de colágeno mediais fornecem rigidez a grandes dimensões. As propriedades mecânicas das artérias variam com a localização e a idade. Em geral, a rigidez nas artérias incrementa com o aumento da distância ao coração e com a idade. Estas últimas duas condições estão relacionadas com a degradação das fibras elásticas na parede arterial (27).

As artérias exibem também pequenas mudanças de comprimento durante o ciclo cardíaco. A estabilidade no comprimento é resultado da ação do tecido conectivo perivascular e dos ramos arteriais laterais. Esta estabilidade, também acontece pela interação entre as forças longitudinais exercidas pelo fluxo sanguíneo e a pressurização do sangue (27).

Os vasos sanguíneos apresentam uma resposta mecânica ativa e passiva. O comportamento ativo surge da ativação do músculo liso. Na ativação muscular, as fibras musculares respondem a estímulos nervosos e químicos contraindo-se ou dilatando-se, variando assim a luz do vaso. Este mecanismo é necessário para regular o fluxo e a pressão no sistema cardiovascular, sobretudo nos capilares. A mecânica circunferencial pode ser modificada pela ativação do músculo vascular. A ativação muscular é muito importante nas artérias de pequeno calibre (0.3-10mm de diâmetro), mas em artérias de grande tamanho, tal como a aorta ascendente, a sua influência é pequena ou desprezível (30). A resposta passiva das artérias, a qual é governada principalmente pelas fibras de colágeno e elastina, pode, em algum grau, ser tratada como puramente elástica (31). Em particular, este é o caso de artérias grandes próximas do coração. Em contraste, a resposta mecânica das artérias distais é viscoelástica (32).

Uma característica mecânica distintiva dos tecidos biológicos moles, num teste de extensão simples, é a resposta inicial plana relacionada à grande extensão, seguida de um aumento rápido na rigidez (Fig. 4). Este comportamento está relacionado com a distribuição e a morfologia das fibras de colágeno e elastina. Estas, no começo estão onduladas e num arranjo alinhado localmente. Quando o material é esticado, as fibras colágenas desencrespam-se e alcançam seus comprimentos naturais. Ao mesmo tempo, as fibras colágenas alinham-se na direção

da tensão e vão sendo recrutadas para resistir à tensão aplicada, aumentando assim a rigidez do material. A distribuição das fibras colágenas e elásticas no tecido arterial levam a uma pronunciada anisotropia.

O comportamento mecânico do material que conforma as artérias é caracterizado por ser anisótropo devido à presença de duas direções preferenciais, a longitudinal e a circunferencial. Estas direções são originadas pela disposição das fibras de colágeno e elastina (14, 33, 34). Certas pesquisas mostraram que o tecido das artérias elásticas é altamente não linear e anisotrópico sob deformações finitas (5, 35, 36) e é usualmente modelado dentro de um quadro de hiperelasticidade (12, 14, 19, 20, 24, 37). Nos estudos de Gundiah(24) foi mostrado que a elastina na túnica média possui uma distribuição de fibras concêntricas, além de algumas outras fibras orientadas axialmente ao longo do comprimento do vaso. Enquanto que, nas túnicas íntima e adventícia, as fibras elásticas estavam dispostas longitudinalmente. Portanto, o tecido da parede arterial pode ser considerado como um exemplo de material *ortotrópico*(32)

Figura 4: Gráfico da tensão lagrangiana (T) pela razão de alongamento (λ) de um tecido mole preconditionado. Modificado de (38).

2.1.3 Não linearidade do comportamento mecânico do tecido arterial

Os tecidos biológicos moles apresentam um comportamento mecânico descrito como não linear. Neste contexto, o termo não linear descreve a função matemática que fornece a relação

entre a tensão σ e a elongação λ (ou deformação E), ou seja, $\sigma = f(\lambda)$. A figura 5 mostra o diagrama de tensão-elongação típico de um tecido biológico mole (como a artéria) e os equivalentes não-lineares das propriedades mecânicas clássicas. Este tipo de comportamento, só pode ser descrito utilizando diferentes modelos matemáticos mecânicos que fazem uso de diferentes parâmetros de ajuste.

Figura 5: Comportamento mecânico típico dos tecidos biológicos moles e suas propriedades mecânicas clássicas. E_s : módulo secante, E_t : módulo tangente, σ_{max} : resistência à tração, σ_Y : limite elástico, λ_Y : limite à elongação, U_s : densidade de energia de deformação. Modificado de (39).

O módulo de Elasticidade secante (E_s) e tangente (E_t) são módulos de elasticidade regionais. E são expressados por

$$E_s = \frac{\Delta\sigma_1}{\Delta\lambda_1} \quad (2.1)$$

$$E_t = \lim_{x \rightarrow 0} \frac{\Delta\sigma_2}{\Delta\lambda_2} = \frac{d\sigma_2}{d\lambda_2} \quad (2.2)$$

O módulo secante (E_s) é utilizado no modo convencional para ter uma noção básica do comportamento mecânico de uma dada região. O módulo Tangente (E_t) é utilizado na região linear do diagrama tensão-elongação sendo que, o módulo de Young é apenas adequado para os materiais onde a lei de Hooke é válida. A resistência à tração (σ_{max}) é o valor máximo de tensão na curva de tensão-elongação, e o valor de elongação correspondente λ_U é chamado de elongação final. Essas quantidades definem o limite para o cálculo da Densidade de Energia de Deformação U_s por unidade de volume. U_s é definida por

$$U_s = \int_0^{E_u} \sigma dE = \int_1^{\lambda_u} \sigma d\lambda \quad (2.3)$$

A densidade de Energia de Deformação é a energia absorvida pelo material quando deformado, e corresponde à área em baixo da curva tensão-elongação ou tensão-deformação.

Outro comportamento mecânico pronunciado nos tecidos biológicos moles é a histerese. Quando o material biológico é carregado e descarregado, na curva de tensão-elongação acontece um laço de histerese para cada carregamento e descarregamento (Fig. 6). Este comportamento é chamado de pré-condicionamento. Isto acontece num espécime de tecido biológico mole devido à sua estrutura interna mudar em cada ciclo. Mediante os ciclos repetitivos, consecutivos e idênticos, eventualmente pode ser alcançado um estado estacionário, no qual, nenhuma mudança na curva acontece a não ser que a rotina cíclica seja mudada. As mudanças nestes ciclos pode causar novamente uma mudança na estrutura interna e o espécime deve ser pré-condicionado mais uma vez.

Para a elastina e o colágeno, o laço de histerese é bastante pequeno. Em vasos sanguíneos elásticos o pré-condicionamento pode ser alcançado muito rápido (em dois ou três ciclos)(40).

O procedimento de carregar e descarregar o tecido ciclicamente antes de realizar os ensaios mecânicos, também é chamado de *Pré-condicionamento*. Este procedimento tem sido muito

utilizado em várias pesquisas, tanto para eliminar o efeito de histerese, como para condicionar o tecido às novas condições de ambiente fisiológico e temperatura nos ensaios mecânicos *in-vitro*.

Figura 6: Curva de tensão-deformação mostrando a histerese para cada ciclo de carregamento e descarregamento. Pode-se observar que em cada ciclo a histerese vai diminuindo. Modificado de (39).

2.1.4 Comportamento mecânico alterado

O comportamento mecânico das artérias é afetado pela presença de doenças que alteram o seu funcionamento. Existem várias patologias que interferem no comportamento normal dos vasos sanguíneos e, entre as mais frequentes destacam-se a aterosclerose e os aneurismas.

Aterosclerose Esta envolve a deposição de substâncias gordurosas, cálcio, fibras colágenas, resíduos celulares e fibrina, na camada mais interna da artéria. O produto resultante é uma acumulação de material chamado *placa aterosclerótica*. Esta placa pode ser de uma geometria e uma composição química complexa. Esta doença pode ocasionar o aumento na rigidez do vaso e na espessura da camada interna. A obstrução da luz do vaso pode causar turbulências no fluxo do sangue e criar novas tensões de cisalhamento nas paredes da fração de vaso afetadas pela doença.

Aneurismas São dilatações anormais, focais e permanentes nas paredes dos vasos sanguíneos e acontecem num 80% nas paredes da aorta abdominal. Acredita-se que a formação dos aneurismas arteriais seja devido a vários fatores. Principalmente, devido ao processo degenerativo resultante da complexa interação entre os processos biológicos na parede arterial e os estímulos hemodinâmicos que agem sobre as paredes dos vasos. Os aneurismas podem ser congênitos ou adquiridos, e a maioria das vezes acontecem em artérias elásticas e seus ramos. Uma vez formado o aneurisma, a pressão repetida e as tensões de cisalhamento exercidas pelo fluxo sanguíneo na parede enfraquecida, em geral, ocasionam a expansão gradual do tecido (3). As complicações mais frequentes dos aneurismas são: alteração do fluxo sanguíneo distal, trombose, tromboembolias, rotura, infecção e compressão de estruturas vizinhas (42). As duas causas mais importantes dos aneurismas são a aterosclerose e a degeneração quística da túnica média (geralmente devida à doença de Erdhein ou ao mal de Marfan).

O aneurisma é uma doença potencialmente grave, que permanece assintomática em 60% dos casos. Pode-se manifestar em 15% dos casos por sintomas compressivos sobre estruturas vizinhas e em 25% pelas rupturas, sendo esta última a manifestação clínica mais severa(42).

A cirurgia para evitar a ruptura do aneurisma tem ainda certos riscos(43), pelo que só é aconselhável quando o risco de ruptura da parede é superior ao mesmo risco de realizar a cirurgia. Até agora, tal decisão é baseada exclusivamente nas dimensões da artéria sem levar em conta o possível deterioro da parede (3).

No que diz respeito ao conteúdo celular, Chang(44) mostra que num aneurisma a fração de volume de elastina e de músculo liso decresce, enquanto a fração de volume de colágeno aumenta quando comparado com uma artéria aorta sem aneurisma. As curvas de tensão-deformação uniaxial e biaxial mostram que o aneurisma possui um comportamento de menor distensibilidade e maior rigidez em comparação com uma aorta sadia (44, 46).

2.2 Ensaios mecânicos em tecidos biológicos moles

Atualmente, as ferramentas para avaliar totalmente o comportamento mecânico dos tecidos biológicos moles *in-vivo* não se encontram disponíveis. Portanto, para cumprir com este objetivo, ensaios mecânicos *in-vitro* devem ser realizados. Neste tipo de ensaios, é muito importante reproduzir o ambiente mecânico e fisiológico ao que normalmente encontra-se submetido o tecido. Assim, é possível estimar *in-vitro* algumas propriedades mecânicas, como o limite de resistência à tração.

Existem vários tipos de testes mecânicos *in-vitro* que podem ser realizados em tecidos biológicos moles para obter detalhes sobre a sua resposta mecânica. Tais testes incluem tensão simples, cisalhamento puro e tensão biaxial, os quais são geralmente feitos em finas amostras de material, e extensão-insuflação o qual é feito em tubos de paredes finas. Os ensaios biaxiais tem um papel particularmente importante, pois, para materiais isotrópicos como a borracha, estes podem fornecer uma caracterização completa das propriedades mecânicas do material. Em contraste, para materiais anisotrópicos, o ensaio biaxial por si só não é suficiente, já que não pode fornecer uma caracterização completa das propriedades mecânicas do material sem fazer *a priori* algumas suposições que permitam que a forma constitutiva da lei seja especializada em algum grau.

Nas sessões seguintes são descritos os ensaios *in-vitro* mais usados para caracterizar o comportamento mecânico quase-estático dos tecidos biológicos moles. Mas antes, será realizada uma breve descrição dos métodos mais usados para conservar o tecido depois da coleta e antes dos testes.

2.2.1 Conservação do tecido

Vários métodos que incluem diferentes substâncias e temperaturas têm sido utilizados para preservar os tecidos biológicos após vários dias ou semanas da coleta. A criopreservação, o congelamento e a refrigeração são as técnicas mais utilizadas para conservar o tecido arterial.

A criopreservação é o processo pelo qual as células e/ou tecidos são congelados a temperaturas muito baixas (entre -80°C e -196°C em geral). Este processo é feito para diminuir as funções vitais do organismo e poder mantê-lo em condições de *vida suspendida*. Normalmente, para conservar uma amostra biológica durante o maior tempo possível sem perder sua qualidade, é utilizado o nitrogênio líquido. Em artérias, este método tem conseguido preservar as propriedades mecânicas por vários meses depois da coleta. O problema deste método é o processo de congelamento prévio e o descongelamento posterior que afeta gravemente as amostras. O anterior, acontece principalmente pela formação de cristais de gelo durante o congelamento da água.

O congelamento trata-se da conservação dos tecidos em temperaturas aproximadamente de -20°C). Este tem mostrado possuir a capacidade de preservar as propriedades mecânicas das artérias por várias semanas (84, 85, 86, 87). Nesta técnica, também existe o problema da formação de cristais de gelo. Em alguns casos, a formação destes cristais pode romper a membrana celular das células e danificar tanto a célula como a sua função.

Por outro lado, a refrigeração consiste em manter o tecido sob temperaturas de $\pm 4^{\circ}\text{C}$. Esta é feita geralmente em geladeiras convencionais ou recipientes térmicos. Em artérias, este método mostrou ser eficiente nas primeiras 48 horas depois da coleta, já que depois desse tempo aconteceram mudanças no comportamento mecânico dos tecidos (84, 85, 86). A refrigeração possui a vantagem de precisar de equipamentos básicos. A sua principal desvantagem é que o tempo de conservação é bastante limitado e obriga a que os testes sejam feitos quase imediatamente depois da coleta do tecido. Assim, depois do sacrifício do animal, quanto mais rápidos forem

feitos os ensaios mais aproximada será a resposta mecânica *in-vitro* à resposta mecânica *in-vivo*.

2.2.2 Ensaio de tração uniaxial

O ensaio de tração uniaxial consiste em submeter um corpo de prova a uma elongação homogênea num só eixo. O teste é um ensaio de tração simples, do tipo comumente utilizado para determinar propriedades mecânicas de materiais na engenharia(47).

2.2.2.1 Equipamentos mais comuns para realizar o ensaio de tração uniaxial

Para realizar este tipo de teste, em geral são utilizadas máquinas universais para ensaios de tração, mas com algumas adaptações para ensaios em tecidos biológicos moles. Adaptações nas peças que fixam a amostra à máquina de ensaios são as mais comuns. Isto, para evitar o escorregamento e garantir um carregamento uniforme na área de contato do corpo de prova. Outra modificação importante é a inclusão de um banho líquido. Este é principalmente utilizado quando quer-se simular as condições de umidade e temperatura. O banho consiste numa câmara que contém um líquido (em geral, soro fisiológico) onde é colocada a amostra a ser testada. Em algumas máquinas o líquido do banho está em circulação contínua.

Nas figuras 7 e 8 podem ser observadas as máquinas de tração uniaxial utilizadas por Martins(48) e García Herrera(49) para testar bexigas e aortas humanas, respectivamente. A principal diferença entre estes dois equipamentos é que o segundo possui uma câmara que serve como banho para o tecido.

É importante notar que num teste de tensão uniaxial feito em tiras de tecido arterial, só é fornecida uma informação básica do material, mas certamente não é suficiente para quantificar completamente o comportamento anisotrópico das paredes arteriais (20).

Figura 7: Equipamento para realizar o teste de tensão uniaxial para a avaliação das propriedades biomecânicas do tecido da bexiga. Modificado de (48).

Figura 8: Montagem do ensaio de tração. A) saída do soro fisiológico, B) Corpo de prova, C) Entrada do soro fisiológico, D) Peças de fixação da amostra. Modificado de (49).

Corpos de prova

Para este tipo de ensaio em tecido biológico mole, alguns corpos de prova possuem as

dimensões especificadas pela norma ASTM de corpos de provas para ensaios padrão de tração uniaxiais em materiais de borracha (50). Dependendo do tamanho e da dificuldade de fabricar a amostra, as geometrias do corpo de prova podem variar, mas em geral são tiras de tecido de diferentes comprimentos e larguras. Ainda não existe uma norma que estabeleça a geometria e as dimensões para ensaios de tração uniaxiais em tecidos biológicos.

Trindade *et al* (51) realizaram testes de tração uniaxial em tecido de tendão maxilar temporal humano, onde o corpo de prova utilizado foram tiras de tecido com dimensões estabelecidas por eles mesmos. O mesmo foi feito por Martins *et al*(48) em tecido de bexiga feminina, por García *et al*(7) e Sokolis *et al*(52) em tiras de artérias aorta suínas e de coelho, respectivamente e por Silver(53) em artérias aorta, carótida e veia cava de porco. Herrera *et al*(54) utilizaram corpos de prova de tecido arterial aórtico humano com formato de osso(54), enquanto Martins *et al*(55) fez o corpo de prova para os testes em tecido muscular de porco seguindo a norma DIN 53504:1994.

Dados do teste

Dados de deslocamento e carga no tecido são obtidos com este teste. Esses valores permitem obter propriedades mecânicas dos materiais, tais como módulo de elasticidade (ou rigidez) tangencial e secante, limite de elasticidade, limite de resistência, alongação máxima, entre outros(39, 47). Além disso, com as curvas de tensão-deformação pode ser visualizado o comportamento linear ou não-linear do tecido.

2.2.3 Ensaios de tração biaxial

O objetivo deste tipo de ensaio é avaliar simultaneamente o comportamento mecânico dos tecidos em vários eixos, já que é conhecido que nem todos os materiais são isotrópicos e que, por tanto, apresentam propriedades mecânicas diferentes dependendo do eixo de aplicação de carga. Como mencionado, em geral os tecidos biológicos moles, em especial as artérias,

apresentam orientação preferencial das fibras que a constituem, levando-a à anisotropia. Para os testes de tensão biaxial foram desenvolvidos vários tipos de equipamentos.

Os dispositivos para realizar testes de tração biaxial são muito mais elaborados do que os uniaxiais, devido à necessidade de controlar duas condições de contorno. Em particular, os eixos devem conseguir expandir-se livremente na direção lateral. Na região central alvo, os estados de tensão e deformação devem ser uniformes, para que a análise dos dados possa ser realizada de forma simples. A região alvo deve ser pequena e deve estar localizada longe das bordas exteriores para evitar os efeitos das garras ou amarras (40).

Os ensaios biaxiais em tecidos biológicos moles em geral são difíceis de executar, e também apresentam desafios adicionais exclusivos para tecidos biológicos. Apenas alguns dos problemas experimentais incluem: pequenos tamanhos de espécime, heterogeneidade estrutural e composicional, dificuldade em prender a amostra(sem causar danos), dificuldade em identificar com precisão os eixos dos materiais, dificuldade em manter as forças constantes ao longo das bordas de amostra, grande variabilidade entre amostra e amostra, e alterações dependentes do tempo devido à degradação biológica. Além disso, uma questão de homogeneidade de deformação dentro da amostra é bastante importante.

Os testes biaxiais por si só não são suficientes para derivar uma relação de tensão-deformação tridimensional(19)(40). Em materiais membranosos são suficientes para produzir uma equação constitutiva bidimensional para o estado plano de tensão. Nesta, uma equação conecta as três componentes da tensão no plano da membrana com as três componentes da deformação na membrana.

2.2.3.1 Ensaio de tensão biaxial planar

Um dos primeiros equipamentos para realizar testes de tração biaxial planar foi desenvolvido por Lanir & Fung em 1974 (56). O equipamento para realizar um ensaio mecânico deste tipo é principalmente composto por: 4 atuadores lineares (braços) controlados independentemente, 2 transdutores de força ou células de carga colocadas em 2 braços ortogonais e um sistema óptico acoplado a uma câmera de alta definição. Em geral, todas as máquinas desse tipo possuem um banho líquido contendo solução fisiológica simulada com temperatura controlada. Os atuadores lineares são os encarregados de tracionar o tecido gerando o deslocamento. Os transdutores de força são usados para determinar a carga a que está submetido o tecido quando deformado. O sistema óptico é utilizado para medir as deformações centrais.

Na figura 9 pode-se observar o desenho esquemático do sistema usado por Azadani *et al.* (46, 57) para testar as propriedades mecânicas de aortas humanas.

Neste equipamento um quadrado de tecido é sujeito em cada lado por 3 anzóis ligados mediante uma seda a cada braço. Cinco marcadores cerâmicos pretos são colocados na superfície do tecido criando uma rede no centro da amostra. O deslocamento em tempo real dos marcadores no tecido é obtido mediante uma câmera colocada sobre a superfície do tecido. Algumas modificações são feitas pelos pesquisadores para tentar melhorar a aquisição de dados e o desenvolvimento do equipamento. Algumas mudanças na maneira de fixar as amostras à máquina podem ser feitas dependendo do tipo de tecido a ser testado.

Corpo de prova

Dependendo da forma em que vai ser fixada a amostra ao equipamento, diferentes formatos de amostra podem ser usados. O principal objetivo no momento da fabricação das amostras é garantir que a tração que vai ser feita sobre ela seja uniforme e homogênea para não favorecer alguma orientação preferencial nas fibras do tecido ou concentradores de tensão. Em várias pesquisas (24, 56, 46, 57) o formato escolhido é um quadrado que pode ter dimensões variáveis.

Figura 9: Desenho esquemático do sistema para realizar o teste de tração biaxial planar. Modificado de (57).

Ou como será visto mais à frente na dissertação, a amostra também pode ter formato de cruz.

Dados do teste

Com este tipo de ensaio, os dados de deslocamento e carga podem ser obtidos em dois eixos simultaneamente. A partir desses dados, uma análise mecânica bidimensional pode ser feita. As análises matemáticas dos dados e as propriedades mecânicas que podem ser achadas com esses dados serão explicadas em secções seguintes.

Máquinas de tração biaxial planar foram utilizadas por Gundiah *et al.*(24) para testar o comportamento mecânico da elastina isolada de aortas humanas, por Sacks(58) para descrever a aplicação desse tipo de teste em tecidos biológico moles, por Vande Geest *et al.*(59), Gasser *et al.*(60) e Azadani *et al.*(46, 57) para testar aortas humanas, por Keyes *et al.*(61) para testar aorta coronária suína, por Humphrey *et al.*(15) para testar pleura visceral, por Sacks *et al.*(62) para testar pericárdio bovino e por Chew(63) para testar pericárdio canino.

2.2.3.2 Ensaio de tensão biaxial por extensão-insuflação

Os equipamentos para realizar este tipo de ensaio partem da ideia de bombear soluções fisiológicas simuladas dentro de tubos de tecido biológico para simular o fluxo que circula dentro deles (sangue no caso das artérias) e as pressões a que estão submetidas as paredes internas. Ao mesmo tempo, são aplicados deslocamentos axiais nos extremos da amostra, o que simula a carga e a deformação axial a que está submetida *in-vivo*.

Em geral, a tração pode ser aplicada por numa máquina universal de alta precisão para ensaios de tração, por um parafuso de ajuste que estica a amostra até o comprimento desejado ou por um atuador ligado a uma célula de carga tipo cantiléver para registrar a força axial à que esta submetido o tecido. Nestes dois últimos um dos extremos da amostra fica presa estaticamente e o outro extremo é segurado ao parafuso de ajuste ou atuador. Em todos os casos, a força à que fica submetido o tecido quando esticado é medida mediante transdutores de força (células de carga).

A pressão no interior da amostra é gerada pelo bombeamento de soluções fisiológicas mediante algum tipo de bomba de pressão controlada digitalmente. A pressão interna da amostra é medida por transdutores de pressão.

O diâmetro externo e o comprimento do tubo de tecido podem ser medidos opticamente utilizando um videoextensômetro acoplado a uma câmera de alta definição. Alguns equipamentos possuem transdutores para medir o diâmetro externo da amostra.

Todos os equipamentos para testar espécimes biológicos possuem em comum o banho de solução fisiológica para manter as condições de umidade e temperatura controladas. A solução

líquida que fica no banho pode estar ou não em circulação contínua.

Controladores digitais externos dirigem o acionamento elétrico da bomba e da máquina para ensaios de tração, bem como a aquisição dos dados de posição, carga e pressão aplicadas. Um computador ligado aos controladores externos registra e processa os dados (de pressão, carga, comprimento, diâmetro externo).

Nas figuras 10, 11 e 12 podem ser observados os esquemas das máquinas de tração biaxial utilizadas por Von Maltzahn(12), Sokolis(64) e Schulze Bauer(65) nas suas pesquisas.

Figura 10: Diagrama esquemático do equipamento para realizar o teste de tração biaxial extensão-pressão. 1a. Cantiléver de aço inoxidável, 1b. Berço arterial do transdutor de diâmetro, 2. Transdutor de força, 3. parafusos de ajuste de altura, 4. Parafusos de ajuste do comprimento axial, 5. Amostra arterial, PSS Solução Salina Fisiológica, WB Banho de água. Modificado de (12).

Sistemas similares aos anteriormente mencionados são utilizados por Weizsacker(66) para testar artérias carótidas de rato, por Stavropoulou(67) em esôfago de rato, por Vito(68) em artérias e pericárdio de cachorro e por Demiray(69) em artéria aorta de rato.

Corpo de prova

Para ensaios mecânicos neste tipo de máquina, em geral são utilizados cilindros circulares de

Figura 11: (a) Diagrama esquemático do equipamento para realizar o teste de extensão-insuflação. Modificado de (64).

Figura 12: Diagrama do sistema para realizar o teste de tração biaxial extensão-pressão. Modificado de (65).

tecido biológico. Portanto, são muito usados para testar vasos sanguíneos e outros condutos do corpo como o esôfago. As dimensões das amostras dependem do tipo e da disponibilidade do tecido. Ainda não existem normas estabelecidas para determinar tais dimensões. Nas figuras 13, 14 e 15 podem ser observadas as amostras de tecido arterial humano utilizadas por Sommer

et al.(5) e Schulze-Bauer *et al.*(65), e de intestino grosso de rato utilizadas por Sokolis *et al.*(64).

Figura 13: Corpo de prova arterial humano para ensaio mecânico biaxial. Modificado de (65).

Figura 14: Corpo de prova arterial humano para ensaio mecânico biaxial. Modificado de (5).

Figura 15: Corpo de prova de intestino grosso de rato para ensaio mecânico biaxial. Modificado de (64).

Dados do teste

Depois de realizado este tipo de teste podem-se obter dados de:

- Deslocamento axial
- Carga axial
- Diâmetro Externo da amostra

- Pressão interna na amostra

Com estes dados pode ser feita uma análise tridimensional do comportamento mecânico dos tecidos biológicos moles. As análises matemáticas dos dados e das propriedades mecânicas que podem ser achadas com esses dados serão explicadas em secções posteriores.

Outro tipo de ensaio de tensão biaxial não muito utilizado é o que usa duas barras de aço paralelas para alongar circunferencialmente um anel de tecido. As amostras são deformadas com uma máquina universal para ensaios de tração. As barras de aço junto com as amostras estão submersas numa solução líquida estéril. Lillie *et al.*(28) utiliza esta técnica para achar as propriedades mecânicas da elastina ao longo da aorta torácica de porco.

2.3 Formulação Matemática Teórica

2.3.1 Descrição dos estados de tensão e deformação tridimensionais

Os ensaios biaxiais em tecidos biológicos moles são realizados usando amostras finas (não mais do que 3mm de espessura) sobre as quais agem forças no plano só. Num teste de tração biaxial, considerando uma placa retangular de espessura uniforme feita de um material ortotrópico, como o mostrado na figura 16, existem dois pares de forças F_{11} e F_{22} que estão agindo nos eixos da placa. Nenhuma força de cisalhamento age sobre a placa; por tanto pode-se dizer que os eixos coordenados x e y são os *eixos principais*.

Considera-se também que a placa está em estado de tensão zero com tamanho original de L_{10} e L_{20} . Depois da imposição das forças, a placa fica maior e a longitude dos eixos fica como L_1 e L_2 . Sejam as espessuras original e a deformada h_0 e h , respectivamente. Então as seguintes tensões são definidas:

Figura 16: Deformação de uma membrana retangular. A membrana é sujeita a forças de tensão nas direções x e y . Não existe força de cisalhamento agindo nos eixos. Modificado de (40).

$$\sigma_{11} = \frac{F_{11}}{L_2 h}, \quad \sigma_{22} = \frac{F_{22}}{L_1 h}, \quad (2.4)$$

$$T_{11} = \frac{F_{11}}{L_{20} h_0}, \quad T_{22} = \frac{F_{22}}{L_{10} h_0} \quad (2.5)$$

$$S_{11} = \frac{1}{\lambda_1} T_{11} = \frac{\rho_0}{\rho} \frac{1}{\lambda_1^2} \sigma_{11}, \quad S_{22} = \frac{1}{\lambda_2} T_{22} = \frac{\rho_0}{\rho} \frac{1}{\lambda_2^2} \sigma_{22} \quad (2.6)$$

Onde σ_{11} e σ_{22} são as tensões definidas por Cauchy e Euler, T_{11} e T_{22} as tensões definidas por Lagrange, e S_{11} e S_{11} são as tensões definidas por Kirchhoff. ρ_0 e ρ são as densidades do material no estado de tensão zero e no estado deformado, respectivamente. Estas tensões são conversíveis umas nas outras.

As tensões de Lagrangianas são as mais convenientes para trabalhar com os dados experimentais de laboratório. As tensões de Kirchhoff estão diretamente relacionadas com a Função de Energia de Deformação (FED). As tensões de Cauchy são usadas nas equações de equilíbrio ou movimento.

Para a descrição da deformação, as razões

$$\lambda_1 = \frac{L_1}{L_{10}}, \quad \lambda_2 = \frac{L_2}{L_{20}} \quad (2.7)$$

são definidas com as razões das elongações principais. As deformações

$$E_1 = \frac{1}{2}(\lambda_1^2 - 1), \quad E_2 = \frac{1}{2}(\lambda_2^2 - 1) \quad (2.8)$$

são definidas de acordo ao método de Green e St. Venant. Enquanto

$$e_1 = \frac{1}{2}\left(1 - \frac{1}{\lambda_1^2}\right), \quad e_2 = \frac{1}{2}\left(1 - \frac{1}{\lambda_2^2}\right) \quad (2.9)$$

é definido e usado de acordo com Almási e Hamel. As medidas de deformação

$$\varepsilon_1 = \frac{L_1 - L_{10}}{L_{10}} = \lambda_1 - 1, \quad \varepsilon_2 = \frac{L_2 - L_{20}}{L_{20}} = \lambda_2 - 1 \quad (2.10)$$

são chamadas de deformações infinitesimais.

Entre as anteriores medidas de deformação existe uma diferença numérica. Por exemplo, se $L_1=2$ e $L_{10}=1$, então $E_1=\frac{3}{2}$, $e_1=\frac{3}{8}$, e $\varepsilon=1$. Se a deformação é pequena E , e e ε são aproximadamente iguais. Na descrição de uma grande deformação, a quantidade mais conveniente para considerar é a distância quadrada entre dois pontos por causa da regra do quadrado das distâncias de Pitágoras. Alguns autores chamam a ' λ ' de deformação verdadeira, a qual também é usada como medida da deformação (40).

2.3.2 Elasticidade Não linear

A teoria da elasticidade Não Linear pode ser usada como base na qual as propriedades dos tecidos biológicos moles podem ser analisadas. A descrição macroscópica do comportamento mecânico dos tecidos, como artérias, esta baseado na mecânica dos meios contínuos.

Dentro do quadro geral da teoria da elasticidade não-linear uma importante tarefa é determinar formas adequadas para as leis constitutivas que ajustem os dados experimentais disponíveis. Em particular, a Função de Energia de Deformação (FED) é o ponto chave para a

descrição da resposta elástica do tecido da parede arterial. Algumas funções são necessárias para a predição do comportamento dos tecidos em simulações de procedimentos clínicos.

Nas próximas subseções, as equações usadas para descrever a elasticidade não linear serão resumidas. Isto inclui uma introdução às notações usadas para descrever as quantidades cinemáticas, os tensores de tensão e os requerimentos gerais da Função de Energia de Deformação.

2.3.2.1 Cinemática da elasticidade Não-Linear

Nesta descrição são consideradas só deformações quase-estáticas, começando desde alguma *configuração de referência*, denotada por B_r num corpo material. Seja um ponto genérico do material rotulado pelo seu vetor de posição $\mathbf{X}$ em B_r . O corpo é agora deformado em uma nova *configuração deformada*, denotada por B , na qual o ponto $\mathbf{X}$ do material possui um vetor posição $\mathbf{x}$. O mapeamento de B_r a B é descrito da forma

$$\mathbf{x} = \chi(\mathbf{X}) \quad (2.11)$$

onde a função vetor χ refere-se à *deformação*. Cada ponto $\mathbf{X}$ em B_r possui uma única imagem em B e cada ponto de B também tem uma única pré-imagem em B_r , ou seja, a função de deformação χ é um a um.

O tensor de *gradiente de deformação*, denotado por $\mathbf{F}$ esta definido por

$$\mathbf{F} = \text{Grad} \mathbf{x} \quad (2.12)$$

e, por convenção, suas componentes cartesianas são levadas a estar na forma $F_{i\alpha} = \partial x_i / \partial X_\alpha$ onde Grad é o operador gradiente em B_r e x_i e X_α são as componentes de $\mathbf{x}$ e $\mathbf{X}$, respectivamente,

para $i, \alpha \in \{1,2,3\}$. Requer-se que $\mathbf{F}$ seja não singular, então é usada a notação padrão

$$J \equiv \det \mathbf{F} > 0 \quad (2.13)$$

Note que quando não existe deformação, B coincide com B_r , então $\mathbf{x}=\mathbf{X}$ e $\mathbf{F}=\mathbf{I}$. $\mathbf{I}$ é o tensor identidade.

As decomposições polares

$$\mathbf{F} = \mathbf{R}\mathbf{U} = \mathbf{V}\mathbf{R} \quad (2.14)$$

de $\mathbf{F}$ estão unicamente definidos quando $\mathbf{R}$ é um tensor ortogonal adequado e $\mathbf{U}$ e $\mathbf{V}$ são definidos como tensores positivos e simétricos. Estes são chamados de *tensores de tensão direito e esquerdo*, respectivamente. E podem ser decompostos em forma espectral em

$$\mathbf{U} = \sum_{i=1}^3 \lambda_i \mathbf{u}^{(i)} \otimes \mathbf{u}^{(i)}, \quad \mathbf{V} = \sum_{i=1}^3 \lambda_i \mathbf{v}^{(i)} \otimes \mathbf{v}^{(i)} \quad (2.15)$$

respectivamente, onde $\lambda_i > 0$, $i \in \{1,2,3\}$ são as *tensões principais*, $\mathbf{u}^{(i)}$ são os autovetores de $\mathbf{U}$ chamados *eixos Lagrangianos Principais*, $\mathbf{v}^{(i)}$ são os autovetores de $\mathbf{V}$ chamados *eixos Eulerianos Principais* e $\otimes$ denota o produto tensorial. A seguir, J pode numa forma geral equivalente ser igual a

$$J = \det \mathbf{F} = \det \mathbf{U} = \det \mathbf{V} = \lambda_1 \lambda_2 \lambda_3 \quad (2.16)$$

O *Tensor de deformação esquerdo de Cauchy-Green*, denotado por $\mathbf{B}$ e o *Tensor de deformação direito de Cauchy-Green*, denotado por $\mathbf{C}$, são construídos a partir de $\mathbf{F}$ como

$$\mathbf{B} = \mathbf{F}\mathbf{F}^T \equiv \mathbf{V}^2, \quad \mathbf{C} = \mathbf{F}^T\mathbf{F} \equiv \mathbf{U}^2 \quad (2.17)$$

onde T significa a transposta de um tensor de segunda ordem. Estes formam a base para a definição dos tipos de tensores de deformação, e em particular do *tensor de deformação de Green*, o qual é definido por

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2}(\mathbf{C} - \mathbf{I}) \quad (2.18)$$

Associadas tanto a $\mathbf{B}$ como a $\mathbf{C}$ estão os seus *invariantes principais* definidos por

$$I_1 = \text{tr}(\mathbf{B}), \quad I_2 = \frac{1}{2}[I_1^2 - \text{tr}(\mathbf{B}^2)], \quad I_3 = \det \mathbf{B} \equiv (\det \mathbf{F})^2 \quad (2.19)$$

onde $\text{tr}(\bullet)$ indica o trace do tensor de segunda ordem $\bullet$.

Para um material *incompressível* a equação (2.16) fica como

$$J = \det \mathbf{F} = \det \mathbf{U} = \det \mathbf{V} = \lambda_1 \lambda_2 \lambda_3 = 1 \quad (2.20)$$

e na restrição de incompressibilidade também pode-se escrever

$$I_3 = 1 \quad (2.21)$$

2.3.2.2 Tensão e equilíbrio

Na figura 17, considere-se o elemento de superfície da em B com direção normal $\mathbf{n}$. A força de contato agindo nessa área devido a qualquer material adjacente ou dispositivo de carga pode ser expressa na forma $\boldsymbol{\sigma}^T \mathbf{n} da$, onde $\boldsymbol{\sigma}$ é o *Tensor de Tensão de Cauchy*. Na ausência de forças no corpo a força total de contato agindo na configuração B deve desaparecer em equilíbrio, ou seja,

$$\int_{\partial B} \boldsymbol{\sigma}^T \mathbf{n} da = \mathbf{0} \quad (2.22)$$

onde ∂B é a superfície de contorno de B . A equação anterior aplica-se igualmente a uma sub-região arbitrária de B , e desde que o integrando é contínuo o local é equivalente

$$\nabla \boldsymbol{\sigma} = \mathbf{0} \quad (2.23)$$

na aplicação do teorema da divergência, onde ∇ é o operador divergência sobre B . Além disso, o equilíbrio de momentos assegura que $\boldsymbol{\sigma}$ tenha a propriedade da simetria $\boldsymbol{\sigma}^T = \boldsymbol{\sigma}$

Agora, de acordo com a fórmula de Nanson's, o elemento de área $\mathbf{n} da$ está relaci-

Figura 17: Transformação de um elemento de área $\mathbf{N}d\mathbf{A}$ na configuração de referência B_r no elemento de área $\mathbf{n}da$ na configuração deformada B . Modificado de (32)

onado ao correspondente elemento de área $\mathbf{N}d\mathbf{A}$ em B_r mediante $\mathbf{n}da = J \mathbf{F}^{-T} \mathbf{N}d\mathbf{A}$, onde $\mathbf{F}^{-T} = (\mathbf{F}^{-1})^T = (\mathbf{F}^T)^{-1}$. A equação 2.22 pode ser escrita então como

$$\int_{\partial B_r} \mathbf{P}^T \mathbf{N} d\mathbf{A} = \mathbf{0} \quad (2.24)$$

Onde a notação

$$\mathbf{P} = J \mathbf{F}^{-1} \boldsymbol{\sigma} \quad (2.25)$$

é introduzida. A equação anterior é chamada de *tensor de tensão nominal* o qual mede a força de contato sobre ∂B por unidade de área do contorno de referência ∂B_r . E a resposta $\mathbf{P}^T$ é chamada de *Primeiro Tensor de Tensão de Piola-Kirchhoff*. De novo, pela aplicação do teorema da divergência, agora sobre B_r , a contraparte local de (2.24) é visto como sendo

$$\nabla \mathbf{P} = \mathbf{0} \quad (2.26)$$

onde ∇ é o operador divergência sobre B_r .

Outro tensor de tensão comumente usado é o *Segundo Tensor de Tensão de Piola-Kirchhoff*,

aqui denotado por $\mathbf{S}$, o qual relaciona $\boldsymbol{\sigma}$ e $\mathbf{P}$ através de

$$\mathbf{S} = J\mathbf{F}^{-1}\boldsymbol{\sigma}\mathbf{F}^{-T} = \mathbf{P}\mathbf{F}^{-T} \quad (2.27)$$

2.3.2.3 Elasticidade

A principal característica física de um material puramente elástico é que consegue armazenar energia sob carga. Esta energia é uma quantidade escalar e é frequentemente chamada de energia de deformação. Matematicamente, um material elástico é aquele para o qual uma Função de Energia de Deformação pode ser definida. A Função de Energia de Deformação escalar é normalmente definida utilizando a letra W . A energia de deformação depende tanto das medidas de deformação como das constantes que devem ser determinadas experimentalmente.

Num material homogêneo W depende só do gradiente de deformação e, portanto, $W=W(\mathbf{F})$ é definido sobre o espaço dos gradientes de deformação. Se o material não é homogêneo então as propriedades dependem da localização no interior do material, em tal caso W depende de $\mathbf{X}$ assim como de $\mathbf{F}$.

Se não houver nenhuma restrição interna, como incompressibilidade, então a tensão nominal trabalha em conjunto com o gradiente de deformação e é dada por

$$\mathbf{P} = \frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}} \quad (2.28)$$

para um material incompressível a contraparte de (2.28) é

$$\mathbf{P} = \frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}} - p\mathbf{F}^{-1}, \quad \det \mathbf{F} = 1 \quad (2.29)$$

onde p é o multiplicador de Lagrange associado à restrição de incompressibilidade.

Tensor de tensão de Cauchy correspondente a (2.28) é obtido de (2.25) como

$$\boldsymbol{\sigma} = J^{-1} \mathbf{F} \frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}} \quad (2.30)$$

para a condição de incompressibilidade do material a anterior equação é modificada como

$$\boldsymbol{\sigma} = \mathbf{F} \frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}} - p \mathbf{I}, \quad \det \mathbf{F} = 1. \quad (2.31)$$

Se a configuração de referência B_r (onde $\mathbf{F}=\mathbf{I}$) estiver livre de tensão, então, para um material não restrito, o tensor de tensão

$$\frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}}(\mathbf{I}) = \mathbf{O}, \quad (2.32)$$

é o tensor nulo. A condição correspondente para um material incompressível é

$$\frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}}(\mathbf{I}) - p_0 \mathbf{I} = \mathbf{O}, \quad (2.33)$$

onde p_0 é a especialização de p em B_r e, em geral, $p_0 \neq 0$. Neste caso, a energia de deformação pode desaparecer. Assim, define-se

$$W(\mathbf{I}) = 0 \quad (2.34)$$

Quando (2.32) ou (2.33) juntamente com (2.34) mantêm a configuração B_r esta é chamada de *configuração natural*. Em contraste, se o corpo não é carregado, ou seja, não está sujeito a forças de corpos ou forças de contato, mas as tensões não desaparecem em todo lugar em B_r então B_r é chamada de *configuração de tensão residual*. Desde que o corpo não seja carregado, as forças de contato devem desaparecer em cada ponto do contorno ∂B_r . Isto significa que as tensões residuais são de caráter não homogêneo.

Existem algumas restrições adicionais sobre a Função de Energia de Deformação que aplicam-se a todos os materiais. Em primeiro lugar, se não houver deformação, nenhuma energia deve ser armazenada no material. Isso equivale ao gradiente de deformação ser igual ao

tensor de identidade, ou ao tensor de deformação finita ser igual a zero. Deste modo,

$$W(F_{ij} = \delta_{ij}) = W(E_{ij} = \mathbf{0}) = \mathbf{0} \quad (2.35)$$

Da mesma forma, precisa-se restringir a Função de Energia de Deformação de tal forma que seja positiva (a energia por definição, deve ser positiva) para qualquer deformação

$$W(F) \geq 0 \quad (2.36)$$

Finalmente, existe uma restrição física de que o material não pode expandir-se infinitamente ou ser esmagado de tal forma que fique com volume nulo. Nesses dois casos, seria necessária uma energia de deformação infinita, o que não é fisicamente possível. Então pode-se escrever

$$W(F) \rightarrow +\infty \quad \text{com o} \quad \det F \rightarrow +\infty \quad (2.37)$$

$$W(F) \rightarrow +\infty \quad \text{com o} \quad \det F \rightarrow 0 \quad (2.38)$$

Assim, essas são as restrições gerais para a Função de Energia de Deformação.

2.3.2.4 Deformações Biaxiais Planares

Materiais isotrópicos Materiais como a borracha, em certa medida, podem ser tratados como elásticos isotrópicos. Como foi mencionado anteriormente, as propriedades de um sólido elástico isotrópico são caracterizadas em termos da Função de Energia de Deformação W e para um material incompressível, W depende só de duas medidas independentes de deformação. Tipicamente estes são os dois invariantes principais I_1 e I_2 do tensor direito de Cauchy-Green $\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F}$ (ou, analogamente, do tensor esquerdo de Cauchy-Green $\mathbf{B} = \mathbf{F} \mathbf{F}^T$) onde $\mathbf{F}$ é o gradiente de deformação. As equações dos invariantes principais foram definidas na equação (2.17).

Assim, a Função de Energia de Deformação W pode ser escrita como $W = W(I_1, I_2)$. O

tensor de tensão associado é dado pela representação padrão

$$\boldsymbol{\sigma} = -p\mathbf{I} + 2W_1\mathbf{B} + 2W_2(I_1\mathbf{B} - \mathbf{B}^2) \quad (2.39)$$

onde $W_i = \partial W / \partial I_i$, $i=1,2$, p é o multiplicador de Lagrange associado à restrição de incompressibilidade e $\mathbf{I}$ é o tensor identidade. Lembrando que para uma membrana fina é válida a aproximação que afirma que, ao longo da espessura do tecido, o tensor de tensão de Cauchy $\sigma_3=0$. Agora, a partir de (2.39), mediante a especialização dos eixos principais de $\mathbf{B}$ e eliminando p , as correspondentes tensões principais no plano σ_1 e σ_2 para uma deformação planar biaxial homogênea pura sobre uma membrana fina são

$$\sigma_1 = 2(\lambda_1^2 - \lambda_1^{-2}\lambda_2^{-2})(W_1 + \lambda_2^2 W_2), \quad \sigma_2 = 2(\lambda_2^2 - \lambda_2^{-2}\lambda_1^{-2})(W_1 + \lambda_1^2 W_2) \quad (2.40)$$

onde λ_1 e λ_2 são as elongações principais no plano. λ_3 é eliminado pela condição de incompressibilidade $I_3 = \lambda_1^2 \lambda_2^2 \lambda_3^2 = 1$, e em termos de λ_1 e λ_2 , $I_1 = \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_1^{-2} \lambda_2^{-2}$ e $I_2 = \lambda_1^{-2} + \lambda_2^{-2} + \lambda_1^2 \lambda_2^2$

É equivalente dizer que $W = \hat{W}(\lambda_1, \lambda_2)$, tratada diretamente como uma função *simétrica* de λ_1 e λ_2 . As tensões são, simplesmente,

$$\sigma_1 = \lambda_1 \frac{\partial \hat{W}}{\partial \lambda_1}, \quad \sigma_2 = \lambda_2 \frac{\partial \hat{W}}{\partial \lambda_2} \quad (2.41)$$

As equações (2.41) formam uma base simples para a avaliação biaxial planar de materiais elásticos isotrópicos, no qual uma das elongações (λ_1 ou λ_2) é mantida fixa e a outra é variada.

A seguir, são consideradas modificações da teoria isotrópica, recém mencionada, para o caso de um material transversalmente isotrópico.

Materiais transversalmente isotrópicos Os sólidos elásticos transversalmente isotrópicos são caracterizados pela existência de uma única direção preferencial à qual será denotada pelo

vetor $\mathbf{M}$ na configuração de referência (para os presentes fins assume-se que a configuração de referência está livre de tensão, mesmo que em geral, isto não se verifique). Podem ser definidos dois invariantes adicionais que dependem de $\mathbf{M}$ ou, equivalentemente, de $\mathbf{m}=\mathbf{F}\mathbf{M}$ na configuração deformada. Estes novos invariantes são denotados por I_4 e I_5 e definidos como

$$I_4 = \mathbf{M} \cdot \mathbf{C}\mathbf{M} = \mathbf{m}^2, \quad I_5 = \mathbf{M} \cdot \mathbf{C}^2\mathbf{M} = \mathbf{m} \cdot \mathbf{B}\mathbf{m} \quad (2.42)$$

A Função de Energia de Deformação associada depende então de quatro invariantes independentes: $W = W(I_1, I_2, I_4, I_5)$, e para três dimensões, o tensor de tensão de Cauchy é dado por

$$\boldsymbol{\sigma} = -p\mathbf{I} + 2W_1\mathbf{B} + 2W_2(I_1\mathbf{B} - \mathbf{B}^2) + 2W_4\mathbf{m} \otimes \mathbf{m} + 2W_5(\mathbf{m} \otimes \mathbf{B}\mathbf{m} + \mathbf{B}\mathbf{m} \otimes \mathbf{m}) \quad (2.43)$$

onde $W_i = \partial W / \partial I_i$, $i=1,2,4,5$, e o produto tensorial $\mathbf{u} \otimes \mathbf{v}$ dos vetores $\mathbf{u}$ e $\mathbf{v}$ é definido por $(\mathbf{u} \otimes \mathbf{v})_{ij} = u_i v_j$

Aplicando o quadro anterior às deformações biaxiais planares, o gradiente de deformação pode ser escrito em forma de matriz, como

$$\mathbf{F} = \begin{bmatrix} F_{11} & F_{12} & 0 \\ F_{21} & F_{22} & 0 \\ 0 & 0 & F_{33} \end{bmatrix},$$

Onde $F_{33} = \lambda_3$ é a elongação normal ao plano. E, desde que o material seja incompressível,

$$(F_{11}F_{22} - F_{12}F_{21})\lambda_3 = 1. \quad (2.44)$$

O tensor esquerdo de Cauchy-Green $\mathbf{B}$, em forma de matriz, fica como

$$\mathbf{B} = \begin{bmatrix} B_{11} & B_{12} & 0 \\ B_{21} & B_{22} & 0 \\ 0 & 0 & B_{33} \end{bmatrix},$$

$$\text{com } B_{11}=F_{11}^2 + F_{12}^2, \quad B_{12} = F_{11}F_{21} + F_{22}F_{12}, \quad B_{22} = F_{21}^2 + F_{22}^2 \quad \text{e} \quad B_{33} = \lambda_3^2.$$

Em forma de matriz a direção preferencial escreve-se como $[\mathbf{M}] = [\cos \alpha, \sin \alpha, 0]^T$ e a sua contraparte espacial $[\mathbf{m}] = [\mathbf{F}][\mathbf{M}]$ como $[\mathbf{m}] = [m_1, m_2, 0]^T$, com

$$m_1 = F_{11} \cos \alpha + F_{12} \sin \alpha, \quad m_2 = F_{21} \cos \alpha + F_{22} \sin \alpha \quad (2.45)$$

Onde α denota o ângulo da direção preferencial $\mathbf{M}$.

Agora, de acordo com (2.43) e sob a hipótese de *membrana fina*, as componentes não nulas de σ podem então ser escritas como

$$\begin{aligned} \sigma_{11} &= 2(B_{11} - B_{33})W_1 + 2[(B_{11} - B_{33})B_{22} - B_{12}^2]W_2 \\ &\quad + 2m_1^2W_4 + 4m_1(B_{11}m_1 + B_{12}m_2)W_5 \\ \sigma_{22} &= 2(B_{22} - B_{33})W_1 + 2[(B_{22} - B_{33})B_{11} - B_{12}^2]W_2 \\ &\quad + 2m_2^2W_4 + 4m_2(B_{12}m_1 + B_{22}m_2)W_5 \\ \sigma_{12} &= 2B_{12}W_1 + 2B_{12}B_{33}W_2 \\ &\quad + 2m_1m_2W_4 + 2[m_1m_2(B_{11} + B_{22}) + B_{12}(m_1^2 + m_2^2)]W_5 \end{aligned}$$

É importante notar que as três equações anteriores ($\sigma_{11}, \sigma_{22}, \sigma_{12}$) envolvem *quatro* funções constitutivas independentes W_1, W_2, W_4, W_5 . No entanto, para a deformação planar biaxial só *três* componentes independentes de deformações são incluídas nessas equações, chamadas de B_{11}, B_{22}, B_{12} . Além disso, só existem três componentes de tensão. Dessas três equações não é possível determinar as quatro funções constitutivas, ou seja, teoricamente não é possível determinar totalmente as propriedades elásticas de materiais transversalmente isotrópicos,

somente sobre a base dos testes biaxiais planares. Assim, pelo menos um teste adicional independente (tridimensional) seria necessário.

Alguns trabalhos assumem *a priori* que um ou mais invariantes estão ausentes da Função de Energia de Deformação. Nesta hipótese, passam a existir equações suficientes para estimar funções constitutivas, numa faixa de deformações. Os testes biaxiais podem ser usados para determinar as funções W_1 e W_4 e construir uma Função de Energia de Deformação W .

Note-se que, se não existe cisalhamento, então $[\mathbf{F}]$ é diagonal da forma $\text{diag}[\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3]$ com $\lambda_3 = \lambda_1^{-1}\lambda_2^{-1}$. E as equações anteriores para $\sigma_{11}, \sigma_{22}, \sigma_{12}$, tornam-se

$$\sigma_{11} = 2(\lambda_1^2 - \lambda_1^{-1}\lambda_2^{-1})(W_1 + \lambda_2^2 W_2) + 2m_1^2 W_4 + 4\lambda_1^2 m_1^2 W_5, \quad (2.46)$$

$$\sigma_{22} = 2(\lambda_2^2 - \lambda_1^{-1}\lambda_2^{-1})(W_1 + \lambda_1^2 W_2) + 2m_2^2 W_4 + 4\lambda_2^2 m_2^2 W_5, \quad (2.47)$$

$$\sigma_{12} = 2m_1 m_2 [W_4 + (\lambda_1^2 + \lambda_2^2) W_5] \quad (2.48)$$

com $m_1 = \lambda_1 \cos \alpha$, $m_2 = \lambda_2 \sin \alpha$. E os invariantes simplificam-se e tornam-se

$$I_1 = \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_1^{-2} \lambda_2^{-2}, \quad I_2 = \lambda_1^{-2} + \lambda_2^{-2} + \lambda_1^2 \lambda_2^2, \quad (2.49)$$

$$I_4 = \lambda_1^2 \cos^2 \alpha + \lambda_2^2 \sin^2 \alpha, \quad I_5 = \lambda_1^4 \cos^2 \alpha + \lambda_2^4 \sin^2 \alpha \quad (2.50)$$

Esta é a situação para um teste biaxial planar padrão na ausência de cisalhamento. Mas é importante observar que se a direção preferencial da fibra não é ao longo de um dos eixos coordenados então a *tensão de cisalhamento é requerida* para manter uma deformação puramente homogênea. Note que, a tensão de cisalhamento desaparece só se α é 0 ou $\pi/2$, ou se o material for isotrópico.

No caso especial (sem cisalhamento) W pode ser tratada como uma função de duas elongações independentes, λ_1 e λ_2 . Assim, $W = \hat{W}(\lambda_1, \lambda_2)$. Note-se que W também depende implicitamente do ângulo α , o qual pode ser considerado como constante do material. Deste modo, as equações (2.46) e (2.47) podem ser escritas simplesmente como

$$\sigma_{11} = \lambda_1 \frac{\partial \hat{W}}{\partial \lambda_1}, \quad \sigma_{22} = \lambda_2 \frac{\partial \hat{W}}{\partial \lambda_2} \quad (2.51)$$

que são idênticas às equações (2.41) na situação isotrópica, excepto que $\hat{W}$ não é uma função *simétrica* de λ_1 e λ_2 , diferente do que sucede na isotropia.

Na próxima seção será apresentado um tratamento mais geral da análise feita acima, em termos das componentes comumente usadas do tensor de deformação Green-Lagrange e o Segundo tensor de tensão de Piola-Kirchhoff, sem a necessidade de assumir isotropia transversal.

2.3.2.5 Resposta planar de um material anisotrópico

Usando a formulação tridimensional da Função de Energia de Deformação W para um material incompressível, considerada como uma função do tensor de Deformação de Green-Lagrange $\mathbf{E} = (\mathbf{C} - \mathbf{I})/2$, o segundo tensor de Piola-Kirchhoff $\mathbf{S}$ é dado por

$$\mathbf{S} = -p\mathbf{C}_{-1} + \frac{\partial W}{\partial \mathbf{E}} \quad (2.52)$$

sujeito à restrição

$$\det \mathbf{C} \equiv \det(\mathbf{I} + 2\mathbf{E}) = 1 \quad (2.53)$$

Em deformações planares têm-se as componentes

$$[\mathbf{C}] = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & 0 \\ C_{12} & C_{22} & 0 \\ 0 & 0 & C_{33} \end{bmatrix}, \quad [\mathbf{C}]^{-1} = \begin{bmatrix} C_{22}C_{33} & -C_{12}C_{33} & 0 \\ -C_{12}C_{33} & C_{11}C_{33} & 0 \\ 0 & 0 & C_{33}^{-1} \end{bmatrix} \quad (2.54)$$

e a incompressibilidade em termos das componentes de $\mathbf{C}$ e $\mathbf{E}$ respectivamente, resulta em

$$C_{33} = (C_{11}C_{22} - C_{12}^2)^{-1}, \quad E_{33} = \{[1 + 2(E_{11} + E_{22}) + 4(E_{11}E_{22} - E_{12}^2)]^{-1}\}/2 \quad (2.55)$$

Sob condições de tensão plana (com $S_{13} = S_{23} = S_{33} = 0$) para o estado biaxial planar, W é dependente só de $E_{11}, E_{22}, E_{12}, E_{33}$, assim

$$W(\mathbf{E}) = W(E_{11}, E_{22}, E_{12}, E_{33}). \quad (2.56)$$

De (2.52) e (2.54) tem-se que

$$S_{11} = -pC_{22}C_{33} + \frac{\partial W}{\partial E_{11}}, \quad S_{22} = -pC_{11}C_{33} + \frac{\partial W}{\partial E_{22}}, \quad (2.57)$$

$$S_{12} = -pC_{12}C_{33} + \frac{\partial W}{\partial E_{12}}, \quad S_{33} = -pC_{33}^{-1} + \frac{\partial W}{\partial E_{33}} = 0. \quad (2.58)$$

Mas pela condição de incompressibilidade, somente três das quatro componentes $E_{11}, E_{22}, E_{12}, E_{33}$ são independentes. Portanto, é introduzida a Função de Energia de Deformação reduzida $\hat{W}$ definida por

$$\hat{W}(E_{11}, E_{22}, E_{12}) = W(E_{11}, E_{22}, E_{12}, E_{33}) \quad (2.59)$$

E_{33} no lado direito é função de (E_{11}, E_{22}, E_{12}) dada pela segunda parte da equação (2.55). Isto leva a

$$S_{11} = \frac{\partial \hat{W}}{\partial E_{11}}, \quad S_{22} = \frac{\partial \hat{W}}{\partial E_{22}}, \quad S_{12} = \frac{\partial \hat{W}}{\partial E_{12}} - C_{12}C_{33}^2 \frac{\partial W}{\partial E_{33}} \quad (2.60)$$

No caso de se adotar inicialmente a teoria bidimensional, E_{33} perde sentido e $\hat{W}$ depende

só de E_{11} , E_{12} , E_{22} e as correspondentes tensões bidimensionais são dadas por

$$S_{11} = \frac{\partial \hat{W}}{\partial E_{11}}, \quad S_{22} = \frac{\partial \hat{W}}{\partial E_{22}}, \quad S_{12} = \frac{\partial \hat{W}}{\partial E_{12}}. \quad (2.61)$$

As deformações planares permitem então determinar $\hat{W}$ como função de E_{11} , E_{22} , E_{12} , mas não diz nada sobre como deveria depender de E_{33} . Portanto, a determinação das propriedades tridimensionais do material não pode ser feita.

A análise acima assume que o material é incompressível. Para um material compressível $S_{33} = \partial W / \partial E_{33}$, mas como $S_{33} = 0$ então $\partial W / \partial E_{33} = 0$. O mesmo resultado é obtido no caso de incompressibilidade. Esta equação determina implicitamente E_{33} em termos de E_{11} , E_{12} e E_{22} , e portanto, substitui a condição de incompressibilidade para este caso. A função $\hat{W}$ pode ser definida então como antes, mediante a equação (2.59), levando novamente às equações (2.61). Assim, é importante notar que a forma bidimensional de W não distingue entre materiais compressíveis e incompressíveis.

2.3.2.6 Modelos Constitutivos

O começo do desenvolvimento das leis constitutivas para tecidos moles pode ser atribuído a Fung(72), que construiu uma relação tensão-elongação uniaxial exponencial baseada em resultados experimentais em tecido mesentérico. Especificamente, denotando λ como a elongação uniaxial e t como a correspondente tensão nominal (ou de engenharia) uniaxial, então pode-se achar a rigidez $dt/d\lambda$ sob carga dependendo linearmente de t . Consequentemente,

$$\frac{dt}{d\lambda} = c_1 + c_2 t, \quad (2.62)$$

onde c_1 (com dimensões de tensão) e c_2 (adimensional) são constantes positivas. Assumindo que a tensão desaparece quando o material está descarregado, resulta

$$t = \frac{c_1}{c_2} \{ \exp[c_2(\lambda - 1)] - 1 \} \quad (2.63)$$

Um gráfico da curva tensão-elongação baseada na equação (2.63) na forma adimensional $t^* \equiv c_2 t / c_1$ é mostrado na figura 18 para um valor representativo de c_2 . Isto para ilustrar a semelhança no comportamento mostrado na figura 4.

Figura 18: Gráfico da tensão adimensional $t^*=t/\mu$ contra a elongação λ para a relação de tensão-elongação uniaxial. A característica deste modelo é a assíntota vertical associada com a singularidade na tensão. Modificado de (32)

Motivado pelo trabalho de Fung, em 1970 Gou(73) introduziu uma Função de Energia de Deformação para materiais isotrópicos e incompressíveis, baseado nos invariantes I_1 e I_2 . Estes invariantes levaram a Demiray(75) a propor uma versão mais simples com um único invariante (I_1), mostrada a seguir

$$W = \frac{\mu}{2\alpha} \{ \exp[\alpha(I_1 - 3)] - 1 \}, \quad (2.64)$$

onde μ e α são constantes positivas, e μ representa o módulo de cisalhamento do material na configuração de referência.

Note-se que, se $\alpha \rightarrow 0$, a função de energia anterior vira a função de energia clássica Neo-Hookean

$$W = \frac{\mu}{2}(I_1 - 3) \quad (2.65)$$

a qual é o modelo clássico para descrever o comportamento mecânico da borracha.

A Função de Energia de Deformação neo-Hookean generalizada foi introduzida por Knowles em 1977 na forma

$$W = \frac{\mu}{2\alpha} \left\{ \left[1 + \frac{\alpha}{n}(I_1 - 3) \right]^n - 1 \right\}, \quad (2.66)$$

Onde μ ainda é o módulo de cisalhamento do material na configuração de referência, e α e n são constantes positivas adimensionais. Se n for igual a 1, esta última energia de deformação fica novamente como a Função de Energia de Deformação Neo-Hookeana. Se $n \rightarrow \infty$ esta tem a propriedade de converter-se no modelo exponencial da equação (2.64).

Demiray (69) propôs uma outra forma de Função de Energia de Deformação baseada no invariante I_1 . Esta tem a forma

$$W = \frac{\alpha}{4}(I_1 - 3)^2 + \frac{\beta}{4c} \{ \exp[c(I_1 - 3)^3] - 1 \}, \quad (2.67)$$

Com α, β (com dimensões de tensão) e c (adimensional) como constantes do material. Os valores dessas constantes foram obtidas mediante o ajuste de dados experimentais obtidos de aortas abdominais de ratos, submetidas a cargas fisiológicas *in-vitro*. Enquanto o ajuste dos dados é razoável, a Função de Energia de Deformação sofre a desvantagem de que o módulo de cisalhamento na configuração de referência é zero.

Para qualquer Função de Energia de Deformação que dependa de I_1 , o tensor de tensão de Cauchy é dado por

$$\boldsymbol{\sigma} = 2W'(I_1)\mathbf{B} - p\mathbf{I} \quad (2.68)$$

Na literatura, vários outros modelos são usados para determinar a Função de Energia de Deformação para diversos tecidos biológicos moles, tais como músculo, pericárdio bovino e artérias de diferentes animais. Esses modelos podem determinar o comportamento mecânico desses tecidos, tanto sob tensões uniaxiais como biaxiais. Os modelos mais especializados são estruturais e tentam considerar as diferentes camadas dos tecidos e as orientações das fibras dentro deles (em geral para implementar este tipo de modelos são necessários dados experimentais de microestrutura). Martins *et al.* compara seis tipos de modelos constitutivos para determinar o comportamento mecânico de materiais hiperelásticos(55).

As Funções de Energia de Deformação isotrópica foram muito importantes no começo do desenvolvimento das leis constitutivas para tecidos biológicos, mas como é sabido, o tecido biológico apresenta uma anisotropia significativa. Atualmente, alguns modelos anisotrópicos estão disponíveis(14, 32).

Diversos modelos propostos para a Função de Energia de Deformação estão baseados diretamente no tensor de deformação de Green $\mathbf{E}$. Neste contexto, os modelos mais comumente usados são os do Tipo Fung Exponencial.

Aplicação da teoria bidimensional ao modelo de Fung A Função de Energia de Deformação mais utilizada para descrever o comportamento mecânico de artérias parece ser a forma bidimensional exponencial proposta por Fung *et al.* em 1979 (72). Vários modelos na literatura estão baseados no modelo exponencial do Fung padrão. Sob deformações planas a Função de Energia de Deformação do Fung é representada por

$$W = \frac{1}{2}c(e^Q - 1) \quad (2.69)$$

onde

$$Q = A_1 E_{11}^2 + A_2 E_{22} + 2A_3 E_{11} E_{22} + A_4 E_{12}^2 + A_5 E_{12} E_{11} + 2A_6 E_{12} E_{22} \quad (2.70)$$

onde $c \neq 0$ é uma constante do material com unidades de tensão e $A_1, \dots, A_6$ são constantes do material adimensionais. Este é um exemplo específico para o $\hat{W}$ antes considerado. As componentes de $\mathbf{S}$ no plano seriam

$$S_{11} = ce^Q(A_1 E_{11} + A_3 E_{22} + A_5 E_{12}), \quad (2.71)$$

$$S_{22} = ce^Q(A_2 E_{11} + A_3 E_{11} + A_6 E_{12}), \quad (2.72)$$

$$S_{12} = ce^Q(A_4 E_{12} + A_5 E_{11} + A_6 E_{22}), \quad (2.73)$$

As equações anteriores aplicam, em particular, para um material ortotrópico no qual dois dos eixos de ortotropia encontram-se no plano. Quando, os eixos de ortotropia são escolhidos coincidentes com os eixos cartesianos, as componentes de tensão são consistentes com a teoria linear clássica da elasticidade ortotrópica, se e somente se $A_5 = A_6 = 0$. Nas equações (2.71-2.73) as constantes podem ser denotadas como $c_1 = cA_1$, $c_2 = cA_2$, $c_3 = cA_3$, $c_4 = cA_4$, com A_5 e $A_6 = 0$.

O significado físico individual das constantes ainda não está claro (40). Portanto, se esta Função de Energia de Deformação vai ser utilizada, deve-se ter cuidado com a escolha apropriada das restrições sobre os valores de c, A_1, A_2 e A_3 , pois a otimização irrestrita dos parâmetros, em geral não garante a convexidade. Assim, é importante garantir que o processo de otimização seja feito dentro de uma faixa de constantes na qual a convexidade esteja

garantida. Como restrições, geralmente são usadas as condições de $c > 0$, $A_1, A_2 > 0$ e $A_1 * A_2 > A_3^2$ (20, 14).

Finalmente, cada modelo constitutivo e o conjunto de parâmetros associados ao material requerem estudos detalhados do material de interesse. A confiabilidade dos resultados do modelo estão fortemente relacionados à qualidade e à completude dos dados dos testes *in-vivo* ou *in-vitro*, que simulam as condições de carga e o ambiente fisiológico.

2.3.2.7 Modelo da parede arterial multi-camadas

A ideia deste tipo de formulações constitutivas é incorporar alguma informação histológica. Portanto, os parâmetros do material envolvidos podem estar associados à estrutura histológica do material (direção das fibras), uma característica que não é possível com os modelos fenomenológicos descritos anteriormente.

Modelo constitutivo proposto por Holzapfel As artérias são compostas por camadas, sendo que cada camada pode ser modelada por separado mediante uma Função de Energia de Deformação. Desde o ponto de vista da engenharia, cada camada pode ser considerada como um composto reforçado por duas famílias de fibras (colágeno) as quais estão num arranjo de espirais simétricas.

É possível assumir que cada camada responde com características mecânicas similares, e portanto, podem usar a mesma forma de Função de Energia de Deformação (mas diferentes sets de parâmetros do material). Neste caso, a Função de Energia de Deformação possui duas componentes. A parte *isotrópica* W_{iso} associada com as deformações isotrópicas e a parte *anisotrópica* W_{aniso} associada com as deformações anisotrópicas. Como as fibras onduladas de colágeno presentes nas paredes arteriais não são ativas sob baixas pressões (ou seja, não

armazenam energia), a resposta isotrópica do material está associada à matriz não-colagenosa do material. A resistência ao estiramento sob altas pressões é quase inteiramente devida às fibras de colágeno. Nesse caso, a sua resposta mecânica é governada pela parte anisotrópica da Função de Energia de Deformação (20). Portanto, a função de dois termos pode ser escrita como

$$W(\mathbf{C}, \mathbf{a}_{01}, \mathbf{a}_{02}) = W_{iso}(\mathbf{C}) + W_{aniso}(\mathbf{C}, \mathbf{a}_{01}, \mathbf{a}_{02}) \quad (2.74)$$

As duas contribuições W_{iso} e W_{aniso} à Função de Energia de Deformação W devem ser particularizadas para ajustar os parâmetros do material à resposta experimental observada nas camadas arteriais. É utilizado o modelo neo-Hookean clássico para determinar a resposta isotrópica em cada camada, e escreve-se como

$$W_{iso} = \frac{c}{2}(I_1 - 3), \quad (2.75)$$

onde $c > 0$ é um parâmetro do material que representa a tensão. O efeito de forte rigidez de cada camada sob altas pressões motiva o uso de uma função exponencial para a descrição da energia de deformação armazenada nas fibras de colágeno, e por tanto

$$W_{aniso}(I_4, I_6) = \frac{k_1}{2k_2} \sum_{j=4,6} \{ \exp[k_2(I_j - 1)^2] - 1 \}, \quad (2.76)$$

onde $k_1 > 0$ é um parâmetro do material que representa a tensão e $k_2 > 0$ é um parâmetro adimensional. Uma apropriada escolha de k_1 e k_2 permite assumir histologicamente no modelo, que o colágeno não influencia a resposta mecânica das artérias no domínio das baixas pressões.

O modelo bicamada mencionado anteriormente foi proposto por Holzapfel em (20) para descrever o comportamento mecânico das camadas arteriais separadas. Mas em algumas ocasiões, é difícil separar fisicamente as duas camadas das paredes arteriais (Adventícia e Média+íntima). Assim que, para descrever a Função de Energia de Deformação das duas camadas

de um tecido biológico mole, submetido a um ensaios de tração biaxial planar é utilizado o modelo proposto por holzapfel com algumas modificações. Deste modo, este material é modelado como uma mistura de uma matriz amorfa de elastina e 4 famílias de fibras de colágeno paralelas ($i=1$ =axial, 2 =circunferencial e 3 e 4 =diagonal simétrica). Portanto, a Função de Energia de Deformação é considerada da seguinte forma

$$W(\mathbf{C}, \mathbf{M}^i) = \frac{c}{2}(I_c - 3) + \sum_{i=1}^4 \frac{c_1^i}{4c_2^i} \{ \exp[c_2^i(I_4^i - 1)^2] - 1 \}, \quad (2.77)$$

onde c , c_1^i e c_2^i são parâmetros do material, $I_c = \text{tr} \mathbf{C}$ é a primeira invariante do tensor direito de Cauchy-Green, e $I_4^i = \mathbf{M}^i \cdot \mathbf{M}^i$ representa o quadrado da extensão da i^{th} família de fibras (ou seja, $(\lambda^i)^2$).

A orientação das fibras estão definidas numa configuração de referência conveniente mediante os vetores unitários $\mathbf{M}^i$, os quais dependem dos ângulos α_0^i , definidos entre as direções das fibras de reforço (diagonais) e as fibras axiais. Por tanto, os ângulos das fibras axiais e circunferenciais são $\alpha_0^1 = 0^\circ$ e $\alpha_0^2 = 90^\circ$, respectivamente. Enquanto que as fibras diagonais são representadas por $\alpha_0^3 = -\alpha_0^4 = \alpha_0$. Assim,

$$I_4^d = (\lambda^{i=3,4})^2 = \lambda_z^2 \cos^2 \alpha_0 + \lambda_\theta^2 \sin^2 \alpha_0, \quad (2.78)$$

onde d denota *diagonal*. As famílias diagonais de colágeno são tipicamente consideradas como mecanicamente equivalentes, pelo que, $c_1^3 = c_1^4 = c_1^{3,4}$, $c_2^3 = c_2^4 = c_2^{3,4}$. Este modelo constitutivo de uma família de quatro fibras requer a estimação de oito parâmetros desconhecidos $(c, c_1^1, c_1^2, c_1^3, c_1^4, c_2^1, c_2^2, c_2^{3,4}, \alpha_0)$.

Assumindo uma deformação homogênea na região central dos espécimes testados biaxialmente, da forma $\mathbf{F} = \text{diag}(\lambda_z, \lambda_\theta, \lambda_r)$ e tensão plana $t_{rr} = 0$, a função de energia armazenada deixa as tensões de Cauchy como sendo da forma

$$t_{zz} = c(\lambda_z^2 - \frac{1}{\lambda_\theta^2 \lambda_z^2}) + c_1^1(\lambda_z^2 - 1)\exp[c_2^1(\lambda_z^2 - 1)^2]\lambda_z^2 + 2c_1^{3,4}(I_4^d - 1)\exp[c_2^{3,4}(I_4^d - 1)^2]\lambda_z^2 \cos^2 \alpha_0 \quad (2.79)$$

e

$$t_{\theta\theta} = c(\lambda_\theta^2 - \frac{1}{\lambda_\theta^2 \lambda_z^2}) + c_1^2(\lambda_\theta^2 - 1)\exp[c_2^2(\lambda_\theta^2 - 1)^2]\lambda_\theta^2 + 2c_1^{3,4}(I_4^d - 1)\exp[c_2^{3,4}(I_4^d - 1)^2]\lambda_\theta^2 \sin^2 \alpha_0 \quad (2.80)$$

os quais permitem uma análise simples dos dados biaxiais (74).

2.4 Histologia

2.4.1 Preparação das lâminas histológicas

O método mais comumente utilizado em histologia permite a obtenção de lâminas histológicas permanentes para serem observadas em microscópio óptico. Para conseguir amostras com espessura de micrômetros é utilizado um instrumento chamado **micrótomo** (Fig. 19). Para realizar o corte, as amostras devem estar embebidas numa substância de consistência firme (para microscopia óptica a substância mais comumente usada é a parafina). Assim, antes das amostras serem cortadas no micrótomo elas precisam passar por uma série de procedimentos para preservar a estrutura dos componentes celulares. Essas etapas serão brevemente enunciadas a seguir.

Fixação

A primeira etapa para realizar uma lâmina histológica de um tecido biológico é a fixação. Esta deve ser realizada no menor tempo possível depois de extrair o tecido e consiste em submergir o tecido numa solução que consiga insolubilizar as proteínas, já que as proteínas são as principais responsáveis de manter a estrutura das células e tecidos. A solução mais comumente utilizada

Figura 19: Desenho esquemático do Micrótomo. Modificado de (39).

é o formaldeído a 10% em solução tamponada. O processo de fixação dura no mínimo 12 horas. Este tempo pode-se estender dependendo do tamanho e da espessura da amostra. A fixação evita a auto-destruição das células (autólise) e/ou a destruição das mesmas por causa de bactérias.

Desidratação

Antes da impregnação do meio de inclusão (por exemplo, parafina), o tecido deve ser desidratado para retirar todo o conteúdo de água e substituí-lo por álcool. Depois da fixação, o tecido deve passar por várias lavagens com solução salina, para logo ser colocado em várias concentrações de álcool, geralmente começando de álcool 70% até álcool puro (100%). O processo de desidratação dura ao redor de várias horas (6 a 24). O tecido pode ficar vários dias em álcool sem afetar o processo de preparação da lâmina histológica.

Diafanização ou clareamento

Agora, o etanol deve ser substituído por uma substância que seja miscível com o meio de inclusão. Para tecidos que serão incluídos em parafina, o clareador mais utilizado é o xilol. O tecido também passa por várias concentrações de xilol. Este procedimento pode durar entre 1 a 6 horas, dependendo do tamanho da peça.

Inclusão

Durante os procedimentos anteriores, a amostra esteve dentro de um cassete especial para histologia. Para realizar a inclusão, retira-se a amostra do cassete e coloca-se num molde de aço que vai ser preenchido com parafina. A parafina (contendo o tecido) deixa-se solidificar ao ambiente. Depois de sólido, o bloco é colocado numa geladeira convencional para mantê-lo duro antes de realizar o corte com o micrótomo.

2.4.2 Corte

Os blocos de parafina são cortados com a navalha de aço do micrótomo. Dependendo das características estruturais do tecido, podem ser obtidas diferentes espessuras de tecido (em artérias elásticas de pequeno calibre é possível obter espessuras de 3 micrômetros). Depois do corte, a fina lâmina de parafina é estirada colocando-a em água morna, para logo ser colocada numa lâmina de vidro especial. A lâmina é aquecida no forno a 60°C para retirar o excesso de parafina.

O procedimento de preparação das lâminas histológicas mais detalhado pode ser consultado na referência (77)

2.4.3 Coloração

A maioria dos tecidos não possuem cor ou são muito claros para serem observados nos microscópios ópticos. Para contornar esta dificuldade, são usados corantes que se comportam como ácidos ou bases formando ligações com os componentes do tecido. Assim, gera-se uma cor diferenciada a cada componente, dependendo do tipo de corante utilizado.

As componentes dos tecidos que coram com corantes básicos são chamadas de *basófilas*. Por outro lado, as que coram com corantes ácidos são chamadas de *acidófilas*. Os corantes

Técnicas	Constituintes	Núcleos	Citoplasma	Colágeno	Elastina
HE	Hemalúmen	azul	—	—	—
	Eosina		róseo	róseo	irregular
Tricromo de Masson	Hematoxilina férrica	preto	—	—	—
	Fucsina ácida	—	vermelho	—	—
	Xilidina Verde-azul	—	—	verde	—
Van Giesson	Fucsina ácida	—	—	Vermelho	Preto
Fucsina de Weigert	Fucsina-resorcina	—	—	—	púrpura

Tabela 1: Principais técnicas de coloração histológica

mais utilizados são a Hematoxilina que age como corante básico e a Eosina que age como corante ácido. Porém, muitos corantes são utilizados.

A tabela 1 mostra algumas das principais técnicas de coloração.

A coloração Tricromo de Masson e Weigert-Van Giesson são amplamente utilizadas para expor as fibras colágenas e elásticas nas preparações de artérias (7, 24, 78, 79, 80). Na coloração de Weigert-Van Giesson, as fibras elásticas são coradas em negro pelo corante de Weigert (fucsina básica/resorcina) e as fibras colágenas em vermelho pelo corante de van Giesson (fucsina ácida). O tecido de fundo, independente do tipo, fica corado em amarelo pelo ácido pícrico.

3 METODOLOGIA

3.1 Seleção da amostra

Para o ensaio de tração biaxial planar em tecido biológico foram coletadas aortas e subclávias suínas. O tecido foi recolhido de vários açougues escolhidos ao acaso (amostragem probabilística). Todos os animais dos quais foi coletado o tecido arterial eram machos com um peso entre 80 e 100 quilos e uma idade entre 6 e 7 meses. O tipo de porco utilizado foi o porco doméstico comum.

Para os testes foram selecionadas seções de aorta abdominal e torácica, além de artérias subclávias esquerdas. No total foram coletados 19 espécimes arteriais suínos, dos quais foram feitas 16 amostras de aorta abdominal, 12 de aorta torácica e 11 de subclávias esquerdas.

Os passos mencionados a seguir, foram realizados para cada amostra e pelo mesmo técnico.

3.2 Conservação do tecido

A técnica escolhida para a conservação do tecido foi a refrigeração. Para realizar este procedimento o mais importante é controlar a temperatura e a hidratação. A seguir é descrito o procedimento feito para conservar o tecido antes de se realizar os testes.

3.2.1 Temperatura

Depois do sacrifício

Depois do sacrifício e antes dos ensaios, os tecidos foram mantidos numa temperatura entre 2 e 6°C. É importante lembrar que os ensaios devem ser realizados dentro das 48 horas depois do sacrifício, já que depois desse tempo, os mecanismos de degradação do tecido são ativados e as propriedades mecânicas podem ser afetadas por este processo.

Transporte

Durante o transporte do lugar da coleta até o laboratório de ensaios, a temperatura do tecido foi mantida entre 4-6°C. O transporte foi feito numa caixa térmica com gelo. Para tal, houve o cuidado de evitar que o tecido ficasse em contato direto com as superfícies congeladas.

No laboratório

O tecido foi mantido numa geladeira a 4°C enquanto os testes não eram realizados.

3.2.2 Hidratação

Para preservar o tônus do tecido depois da coleta é importante tentar manter o ambiente fisiológico do tecido. O soro fisiológico é utilizado para evitar a desidratação e a perda de tônus do tecido. Esta solução deve ser utilizada fria e esterilizada.

Depois do sacrifício

As artérias foram mantidas junto com seus órgãos mais próximos (coração, traqueia, pedaços de pulmão e gordura ao redor). Isto impede uma rápida desidratação do tecido arterial.

Transporte

Depois de colocar o tecido no recipiente para o transporte foi adicionada uma quantidade de soro fisiológico, suficiente para manter a superfície do tecido úmida.

No laboratório

Uma vez no laboratório, o tecido foi colocado no refrigerador dentro do recipiente em que foi transportado. Enquanto eram feitas as amostras, o resto do tecido foi mantido dentro da caixa

térmica com gelo.

3.3 Elaboração das amostras

3.3.1 Ferramentas utilizadas na elaboração das amostras

Molde Peça em forma de pá feita de PMMA (poli-metil metacrilato) com uma cruz feita de aço afiado no extremo. As dimensões da cruz são 3x3cm e cada eixo têm uma largura de 5mm.

Figura 20: Molde para a elaboração das peças

Martelo Usado para bater no molde colocado por cima do tecido. Assim é conformada a amostra.

Lâminas de vidro São usadas para medir a espessura do tecido. Entre duas lâminas é colocado o tecido e com um paquímetro é medida a espessura do conjunto. Cada lâmina possui uma espessura de 0.90 ± 0.01 mm.

Paquímetro Usado para medir a espessura das amostras.

3.3.2 Procedimento

Os passos para a elaboração das amostras são os seguintes:

- O tecido foi retirado do frio e colocado na temperatura ambiente.

- Foi removido o tecido conectivo e outros órgãos até as artérias ficarem visivelmente mais claras e lisas.

Figura 21: Limpeza do tecido

- Foram cortados cilindros de artéria com aproximadamente 3 cm de comprimento. De cada cilindro foi retirado um pequeno anel que foi colocado numa solução fixadora de formaldeído 10%. O resto do tecido foi colocado em soro fisiológico.

Figura 22: (a) Cilindro de aproximadamente 3 cm de comprimento, (b) Anel de cada cilindro para realizar a histologia de cada amostra testada e (c) Resto do tecido colocado em soro fisiológico.

- A espessura da amostra foi inspecionada para determinar qual a porção que tinha a espessura mais uniforme. O cilindro foi cortado pelo lado com a espessura menos uniforme.
- Para fazer o corte da amostra em formato de cruz, o retângulo de tecido foi colocado numa superfície firme. O molde foi posicionado sobre a porção de tecido mais uniforme em

Figura 23: Retângulo Amostra

espessura, de tal jeito que, sempre um eixo da amostra (eixo da cruz) estivesse orientado no sentido do fluxo sanguíneo. Com isto, um eixo da amostra iria corresponder ao eixo axial to tecido.

- Com um golpe firme de martelo foi conformada a amostra.

Figura 24: Amostra em forma de cruz com tecido colado ao redor

- O excesso de tecido foi retirado com o bisturi (Fig. 25).

A figura 26 mostra o formato e as dimensões do tipo de amostra utilizada nos testes.

Finalmente, cada extremidade da cruz possui uma largura de 5 mm. Depois da fixação, cada eixo da amostra possui um comprimento diferente.

Figura 25: Excesso de tecido na amostra

Figura 26: Formato final da amostra

3.4 Critério de exclusão da amostra

As amostras com qualquer tipo de corte nas superfícies e/ou nas laterais foram excluídas dos testes. Este tipo de defeito na amostra pode gerar concentradores de tensão e não refletir a verdadeira resistência do tecido.

3.5 Medição da espessura

A espessura das amostras foi medida de duas formas: **Com paquímetro** A amostra foi colocada entre duas lâminas de vidro (aquelas utilizadas em histologia). Com um paquímetro digital a espessura de cada amostra foi medida em vários lugares (no mínimo 5 medições). Para obter um resultado mais realista, foi calculada a média dos valores de espessura obtidos (fig.

27) e a esse resultado foi subtraído os valores das espessuras das lâminas.

Figura 27: Medição da espessura

Via software Mediante o software de processamento de imagens ImageJ, foi determinada a espessura da amostra de acordo com as fotografias tiradas em alta definição.

As espessuras medidas das duas formas, com paquímetro e via software, foram muito próximas. Mesmo assim, no processamento dos dados foram utilizadas as medidas obtidas via software por possuir menos dispersão.

3.6 Fixação da amostra

Para se realizar o ensaio mecânico, a amostra deve estar fixada simetricamente e posicionada corretamente no equipamento para conseguir uma tração homogênea.

3.6.1 Ferramentas utilizadas na fixação das amostras

Suporte principal Peça feita de aço, desenhada especialmente para esta aplicação. Este componente permite alinhar as peças de fixação para conseguir segurar a amostra o mais simetricamente possível (Fig. 28).

Figura 28: Suporte principal

Peças de fixação 1 Peça fabricada em alumínio que junto à peça de fixação 2 segura os extremos da amostra (Fig. 29).

Peças de fixação 2 Peça fabricada em alumínio que junto à peça de fixação 1 segura os extremos da amostra (Fig. 29).

Parafusos e porcas Utilizadas para unir as peças de fixação. As porcas 1 são usadas no sistema de fixação da amostra e as porcas 2 são usadas para segurar a amostra no equipamento (Fig. 29).

Figura 29: 1. Peças de fixação 1, 2. Peças de fixação 2, 3. Porcas de fixação, 4. Parafusos de fixação

Cunhas poliméricas Peças de polietileno usadas para preencher os espaços vazios que

ficam no suporte principal depois de colocar as peças de fixação 1. Estas peças ajudam ao correto alinhamento da amostra (Fig. 30).

Figura 30: Cunhas poliméricas que permitem um melhor alinhamento da amostra

Cunhas de borracha Pequenas peças de borracha colocadas entre as duas peças de fixação para evitar o empenamento da amostra. Estas peças devem ter uma espessura um pouco maior que a própria amostra.

3.6.2 Procedimento

A seguir são enunciados os passos para fixar as amostras.

- No suporte principal foram colocadas as porcas 1, as peças de fixação 1 e as cunhas poliméricas nos extremos e no centro (Fig. 31).
- A peça de tecido foi colocada por cima da cunha central. É importante que a peça de tecido fique o mais centrada possível (Fig. 32).
- Para evitar o empenamento da amostra, foi colocada uma pequena cunha de borracha no extremo de cada peça de fixação 1.
- A seguir, foram colocadas as peças de fixação 2.

Figura 31: Peças no suporte

Figura 32: Colocação da amostra no suporte

- Os parafusos de fixação foram introduzidos entre as peças de fixação 2 e 1.
- Cuidou-se que cada extremidade da amostra ficasse aproximadamente à mesma distância do centro.

Na figura 33 pode-se ver a amostra fixada.

Para que os dados de carga-deslocamento registrados pelo equipamento sejam válidos, o escorregamento da amostra deve ser evitado. Isto é obtido apertando as peças de fixação 1. Este procedimento depende em grande medida da sensibilidade do técnico. Sendo este cuidado muito importante, a fixação de todas as amostras foi realizada pelo mesmo técnico.

Caso aconteça o escorregamento, produz-se um deslocamento que não gera carga na amostra, e portanto, na curva de carga-deslocamento aparece uma queda na tensão que não

Figura 33: Amostra fixa no suporte

representa o comportamento mecânico real do tecido. Assim, é de suma importância fixar bem a amostra à máquina de ensaios. Pequenas mudanças na configuração da amostra durante o teste, causadas pelo movimento das peças de fixação, pode gerar também dados inconsistentes.

3.7 Teste de tração biaxial planar

3.7.1 Descrição do Equipamento - Máquina de tração biaxial

Todas as peças móveis do equipamento estavam posicionadas numa mesa feita em aço inoxidável com dimensões de 800x800mm. A alimentação elétrica do sistema era monofásica de 230V (tensão) e 50Hz (frequência). Na figura 34 pode-se observar a mesa de ensaios.

3.7.1.1 Características do sistema

O sistema realizava ensaios mecânicos de tração ou compressão, com adaptações especiais para realizar ensaios em tecidos biológicos moles ou elastômeros. Os ensaios podiam ser uni ou biaxiais. Dependendo da velocidade aplicada no teste, o equipamento permitia realizar ensaios estáticos ou dinâmicos.

Figura 34: Mesa de ensaios que contém a máquina de tração biaxial planar

No ensaio podiam ser aplicadas forças até 50 N com uma precisão de $\pm 0.1\text{N}$. O sistema contava com uma elevada precisão de posicionamento com incrementos de $\pm 0.02\mu\text{m}$. O curso do ensaio ia até 100 mm.

Em resumo, o equipamento possuía as seguintes características

- Sistema de ensaio uniaxial ou biaxial
- Sistema de ensaio dinâmico ou estático
- Força de ensaio até 50 N [$\pm 0.1\text{N}$]
- Velocidade de deformação até 7mm/s
- Banho para ensaios em solução aquosa salina com temperatura controlada
- Precisão de posicionamento com incrementos de $\pm 0.02\mu\text{m}$

- Curso de ensaio até 100 mm

3.7.1.2 Hardware

Porta amostras Cada motor possuía no extremo uma peça de alumínio unida à peça de fixação na amostra. Estas peças podem ser vistas na imagem 35.

Figura 35: Peças de união da amostra ao equipamento

Banho No equipamento, os braços de alumínio para segurar as amostras estavam dentro de uma caixa feita em alumínio. Esta caixa era usada como banho para submergir as amostras de tecido em soro fisiológico (ou outros tipos de soluções aquosas). Esta possuía no interior um sensor de temperatura para controlar a temperatura do líquido. A figura 36 mostra a caixa com dimensões de 15x15cm.

Controlador de temperatura do banho Um sistema de resistências e sensores de temperatura permitiam elevar a temperatura do líquido até a temperatura programada e mantê-la estável. A precisão do sistema era de $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

Transdutores O equipamento estava constituído por 2 eixos lineares, um perpendicular

Figura 36: Caixa de alumínio que serve como banho para submergir tecidos biológicos

ao outro formando assim uma cruz. Os movimentos de tração ou compressão eram feitos por 4 micro-servomotores DC, com um curso de 50mm cada e uma velocidade máxima de 3.5mm/s.

A posição de cada motor na mesa era ajustável para conseguir testar amostras de diferentes dimensões. A leitura das forças axiais aplicadas era feita através de 2 células de carga de tração/compressão, cada uma de 50N. A comunicação entre o sistema de aquisição de dados e o computador de comando foi feito mediante uma porta serial RS-232.

3.7.1.3 Software

O software do equipamento permitia um controle automático do deslocamento num eixo ou nos dois simultaneamente. Cada motor possuía um comando manual individual, mas o controle também podia ser feito por eixos. A figura 37 mostra as imagens dos comandos que podiam ser vistos na tela do computador do equipamento.

O tipo de ensaio podia ser programado para realizar tração ou compressão. Além disso,

(a) Controle individual do motores

(b) Controle individual dos eixos

Figura 37: (a) Controle independente dos motores (b) Controle do ensaio por eixos.

podiam ser definidas as trajetórias de solicitação, as quais podiam ser constantes, em rampa ou dentes de serra.

O software possuía várias funções que permitiam criar diferentes programas ou rotinas de ensaio a serem realizados pelo equipamento, se for desejado, um depois do outro.

3.7.1.4 Limitações do equipamento

Para contar com uma elevada precisão de posicionamento no sistema, foi limitada a velocidade de aplicação das cargas. Assim, com este equipamento era difícil medir o comportamento mecânico dinâmico de tecidos, tais como os tendões. Os quais são tracionados naturalmente (dentro do corpo) com velocidades superiores às que podiam ser aplicadas pelo equipamento.

O controle de temperatura permitia aumentar a temperatura do líquido a partir da temperatura ambiente e mantê-la estável, mas não permitia diminuir a temperatura do mesmo. Para a diminuição da temperatura, seria necessário o uso de acessórios externos. O controle de temperatura nesse caso servia como termômetro.

Projetistas O sistema de ensaio biaxial para caracterização de elastômeros e tecidos moles controlado por computador foi desenvolvido pelo Núcleo de Automação Industrial (NAI) do Instituto de Engenharia Mecânica-Pólo FEUP (IDMEC-FEUP) da Universidade do Porto, Portugal. O equipamento encontra-se no laboratório de Biomecânica da Universidade do Porto, Portugal.

3.7.2 Realização do teste de tração biaxial planar

Antes de começar o teste, foi importante estabilizar a temperatura do banho de soro fisiológico em 37°C. A amostra foi retirada do suporte principal e colocada na máquina de ensaios. Os 4 motores foram acionados logo que as garras estivessem próximas, para permitir fixar a amostra no equipamento.

A seguir, foram programados no computador da máquina de ensaios os testes a serem realizados. O ensaio de pré-condicionamento e de ruptura foram programados com uma taxa de aquisição de dados de 100Hz (o máximo permitido pelo equipamento). Este consta de 5 ciclos de tração, onde a amostra é esticada em 10% do seu comprimento inicial. No ensaio de ruptura o tecido é tracionado até alcançar a máxima resistência e chegar à ruptura.

A figura 38 mostra uma vista da tela do computador da máquina de ensaios com os dois tipos de ensaios que foram realizados. Na imagem, podem-se ver a frequência e o tipo de ciclos

que foram aplicados no ensaio de pré-condicionamento.

The screenshot shows the 'Definição de Ensaios' (Test Definition) window. The 'Nome Ensaio' (Test Name) field is set to 'Pre-condicionamento'. The interface is divided into two main sections for 'Eixo 1' and 'Eixo 2'. Both axes have the 'Utilizar' (Use) checkbox checked. For both axes, the 'Dente Serra' (Sawtooth) profile is selected. The parameters for both axes are identical: 'Velocidade de subida' (Up speed) is 4 mm/min, 'Fim de pico' (Peak end) is 1.2 mm, 'Velocidade de descida' (Down speed) is 4 mm/min, 'Fim' (End) is 1.2 mm, and 'Nº Ciclos' (Number of cycles) is 5. The 'Lista de Ensaios' (List of Tests) on the right is empty. At the bottom right, there are buttons for 'Adicionar' (Add), 'Remover' (Remove), and 'Iniciar Ensaio' (Start Test).

(a) Ensaio de pré-condicionamento

The screenshot shows the 'Definição de Ensaios' (Test Definition) window. The 'Nome Ensaio' (Test Name) field is set to 'ruptura'. The interface is divided into two main sections for 'Eixo 1' and 'Eixo 2'. Both axes have the 'Utilizar' (Use) checkbox checked. For both axes, the 'Dente Serra' (Sawtooth) profile is selected. The parameters for both axes are identical: 'Velocidade de subida' (Up speed) is 4 mm/min, 'Fim de pico' (Peak end) is 99 mm, 'Velocidade de descida' (Down speed) is 4 mm/min, 'Fim' (End) is 80 mm, and 'Nº Ciclos' (Number of cycles) is 1. The 'Lista de Ensaios' (List of Tests) on the right contains the entry 'Pre-condicionamento'. At the bottom right, there are buttons for 'Adicionar' (Add), 'Remover' (Remove), and 'Iniciar Ensaio' (Start Test).

(b) Ensaio do ruptura

Figura 38: (a)Configuração do ensaio de pré-condicionamento, (b)Configuração do ensaio de ruptura.

Uma vez alcançada a ruptura, a amostra foi retirada da máquina de ensaios. As peças de fixação foram retiradas para serem utilizadas em outra amostra. A amostra já testada foi colocada no cassete histológico (com o correspondente anel de tecido sem testar) numa solução tamponada de formaldeído 10%.

3.8 Processamento dos dados

3.8.1 Dados

Formato Os dados experimentais foram registrados em arquivos com extensão .csv (comma-separated values) que podem ser abertos e/ou criados por programas de planilha eletrônica com o Microsoft Excel ou por um editor de texto.

Descrição do arquivo Nas colunas do ficheiro de dados encontra-se a informação seguinte:

- Tempo: Tempo de registro do ponto experimental;
- Posição M1 (mm), Posição M2 (mm), Posição M3 (mm), Posição M4 (mm): Posição dos 4 servo-motores;
- C.Carga_Eixo_1 (N), C.Carga_Eixo_2 (N): Carga medida em cada eixo;
- Temp_Banho (°C): Temperatura do banho térmico em graus célsius;
- Nome (Unidade): (——);
- Número Ensaio: N°do ensaio no script, 1 para pré-condicionamento e 2 para ruptura;
- Número Ciclo Eixo 1, Número Ciclo Eixo 2: No caso de existirem ensaios cíclicos (exm. No pré-condicionamento).

3.8.2 Tratamento matemático

3.8.2.1 Princípios biomecânicos

Para realizar o processamento matemático dos dados foram consideradas as seguintes hipóteses: o tecido arterial suíno foi assumido como anisotrópico (ortotrópico) e hiperelástico.

Nas curvas de tensão-deformação, a tensão foi definida como a medida da força média agindo por unidade de área de uma superfície no interior de um corpo deformável na configuração deformada. As forças planares (f), medidas pelas células de carga durante a deformação deram lugar as tensões de Cauchy (σ) nas direções principais, e são dadas por

$$\sigma_1 = \lambda_1 \frac{f_1}{hL_{02}} \quad (3.1)$$

$$\sigma_2 = \lambda_2 \frac{f_2}{hL_{01}} \quad (3.2)$$

onde h é a espessura, λ_i , $i = 1, 2$ é a taxa de elongação nas direções axial (1) e circunferencial (2) e L_{0i} , $i = 1, 2$ são os comprimentos iniciais nas duas direções principais. Admite-se que as componentes de tensão σ_{12} e σ_{21} são iguais a zero (0) desde que experimentalmente as cargas sejam aplicadas normais aos eixos (58). As segundas tensões de Piola-Kirchhoff na direção axial (S_1) e circunferencial (S_2) são dadas por

$$S_1 = \lambda_1 \sigma_1 \quad (3.3)$$

$$S_2 = \lambda_2 \sigma_2 \quad (3.4)$$

com λ_1 e λ_2 como as taxas de elongação nas direções principais, e T_1 e T_2 como as tensões de Cauchy nas direções principais.

A deformação axial e circunferencial nas artérias serão descritas mediante as deformações

de Green, definidas como

$$E_1 = (\lambda_1^2 - 1) \quad (3.5)$$

onde o subíndice 1 indica direção axial e λ_1 é a taxa de alongação da parede arterial ($\lambda_1 = L_1/L_{01}$), L refere-se ao comprimento do vaso num estado carregado (comprimento instantâneo) e L_0 corresponde ao respectivo comprimento em estado de tensão zero (comprimento inicial). Similarmente, a deformação de Green no eixo circunferencial será definida como

$$E_2 = (\lambda_2^2 - 1) \quad (3.6)$$

onde o subíndice 2 indica a direção circunferencial e $\lambda_2 = L_2/L_{02}$ é a taxa de alongação na direção circunferencial.

3.8.2.2 Modelagem constitutiva

A resposta dos materiais à tensão ou deformação pode ser descrita matematicamente por um conjunto de equações constitutivas derivadas de uma Função de Energia de Deformação escalar (W). E a segunda tensão de Piola-Kirchhoff (S) pode ser calculada pela equação

$$S_{ij} = \frac{\partial W}{\partial E_{ij}} \quad \text{com } i, j = 1, 2 \quad (3.7)$$

No presente estudo, os dados de tensão-deformação experimentais foram ajustados mediante duas funções de energia de deformação. Em primeiro lugar, com a Função de Energia de Deformação generalizada tipo Fung bidimensional para tecidos biológicos moles. Este é o modelo mais amplamente utilizado em pesquisas que utilizam equipamentos de tensão biaxial planar. Este modelo não precisa de dados de estrutura interna do tecido, e portanto, faz-se o modelo mais simples para tratar matematicamente os dados de tensão-deformação obtidos.

A Função de Energia de Deformação antes mencionada é dada pelas seguintes equações

$$W = \frac{c}{2}(e^Q - 1), \quad Q = A_1 E_1^2 + A_2 E_2^2 + 2A_3 E_1 E_2 \quad (3.8)$$

onde c e A_i são constantes do material.

Assim, as segundas tensões de Piola-Kirchhoff baseadas no modelo são dadas por

$$S_1 = ce^Q(A_1 E_1 + A_3 E_2), \quad (3.9)$$

$$S_2 = ce^Q(A_2 E_1 + A_3 E_1), \quad (3.10)$$

Em segundo lugar, tem-se a Função de Energia de Deformação bicamada proposta por Holzapfel. Neste modelo, podem ser usados dados histológicos sobre a orientação das fibras de colágeno. No entanto, é possível determinar os ângulos entre as fibras como sendo parâmetros da equação.

A Função de Energia de Deformação antes mencionada é dada pelas equações 2.77, 2.79 e 2.80.

3.8.2.3 Pós-Processamento dos dados

No presente trabalho foi desenvolvido um programa de processamento de dados ??, utilizando a ferramenta computacional MATLAB. O programa construiu os gráficos de tensão-deformação a partir dos dados de carga-deslocamento registrados pela máquina de tração biaxial planar e estimou as constantes dos modelos de Função de Energia de Deformação.

Os códigos utilizados e a sua respectiva explicação são apresentados no apêndice 1.

3.9 Histologia

Para analisar a microestrutura do tecido arterial e quantificar o conteúdo celular foram realizadas lâminas histológicas das amostras testadas.

3.9.1 Fixação

Uma vez terminados os ensaios mecânicos, as amostras testadas foram colocadas no cassete histológico junto com seu respectivo anel de tecido arterial sem testar. Em seguida, foram submersas em solução de formaldeído 10% tamponado por 24 horas. Depois das 24 horas os cassetes foram lavados 4 vezes por 15 minutos com soro fisiológico.

3.9.2 Desidratação

O processo de desidratação foi realizado colocando as amostras em álcool 70%. As amostras ficaram 8 dias em álcool 70%. Depois passaram por concentrações de 80, 95 e 100% de álcool. Este processo teve uma duração de aproximadamente 3 horas.

3.9.3 Clareamento

O clareamento foi feito com xilol e utilizou-se para este procedimento xilol I, II e III. O processo teve uma duração total de 1 hora.

3.9.4 Inclusão

A inclusão foi feita em parafina a 60°C. As amostras foram retiradas do cassete e colocadas num molde de aço. O molde foi preenchido com parafina e colocada numa superfície gelada. As amostras incluídas em parafina foram colocadas na geladeira.

3.9.5 Corte

O corte foi feito com um micrótomo manual. A espessura de cada lâmina de parafina foi de 5 μ m. Depois de cortada, a lâmina de parafina foi colocada numa lâmina de vidro e depois no forno a 60°C para retirar o excesso de parafina. Em seguida, foram cortadas duas lâminas de cada amostra.

3.9.6 Coloração

Uma das lâminas foi corada com HE para ter uma visão geral da estrutura da artéria. A outra lâmina foi corada com a coloração de Weigert-Van Giesson para ressaltar as fibras elásticas e colágenas.

3.9.7 Processamento das imagens histológicas

Com um microscópio óptico de transmissão foram tiradas 15 micrografias de cada lâmina histológica em diferentes lugares. Todas as micrografias têm uma resolução de 2000X. Neste sentido, foram utilizadas algumas ferramentas do software ImageJ para quantificar o conteúdo percentual de colágeno e elastina nas imagens. O procedimento realizado na imagem da amostra 8-02 corada com corante de Weigert Van-Giesson foi o seguinte:

- A imagem original mostrada na figura 39 foi duplicada. Esta imagem está num sistema de referência RGB (Red, Green, Blue) onde cada pixel possui uma posição x,y.
- A imagem duplicada foi dividida nas componentes azul, verde e vermelha mediante a ferramenta 'split channels'. A componente 'azul' foi utilizada para continuar com processamento. Os tons de cinzas da imagem 'azul' foram invertidos. A ferramenta 'threshold' do software binariza a imagem e estabelece um limite até o qual, os pixels em determinada posição ficarão em branco e o resto em preto. Este limite foi estabelecido

Figura 39: Coloração com o corante de Weigert- Van Giesson da amostra 8-02. 1. Colágeno (vermelho), 2.Elastina (preto), 3.Outros tecidos conjuntivos e músculo liso (amarelo).

manualmente, fazendo os pixels brancos coincidir com os pixels marrons-pretos na imagem original. A porcentagem de pixels brancos na imagem foi determinada, e com isto a porcentagem de elastina na micrografia. A imagem obtida ao final deste procedimento é mostrada na figura 40.

Figura 40: Imagem da componente 'azul' da imagem original que serve para de determinar a porcentagem de elastina.

- Da imagem original é subtraída a imagem da componente 'azul' processada. O resultado desta subtração é mostrado na figura 41.

Figura 41: Imagem que resulta de subtrair a imagem 'azul' processada da imagem original.

- A imagem 41 foi duplicada. O duplicado foi dividido nas componentes azul, verde e vermelha da imagem. A componente 'verde' foi utilizada para continuar com o processamento. Com a ferramenta threshold, os pixels com tonalidades verdes e amarelas ficam em branco e o resto de pixels ficaram com cor preta. A figura 42 mostra o resultado deste procedimento. Nesta nova imagem, os pixels que correspondem às tonalidades rosas, vermelhas, marrons e pretas da imagem original ficaram em preto. A porcentagem de pixels em preto então, foi calculada. Assim, subtraindo esta porcentagem da porcentagem de elastina estimada anteriormente, foi determinada a porcentagem do colágeno. Deste modo, foi calculada a porcentagem de colágeno (vermelho) e elastina (preto) na amostra 8-02.
- Da imagem 41 foi subtraída a imagem 42, deixando apenas os tons vermelhos-rosas correspondentes ao colágeno. O resultado desta subtração é mostrado na figura 43.

Figura 42: Imagem da componente 'verde' da imagem 3.20 que serve para de determinar a porcentagem de preto na mesma.

O procedimento anterior foi realizado para as 15 imagens de cada lâmina. A média das porcentagens estimadas foi calculada.

Figura 43: Imagem que resulta da subtração da imagem 42 na imagem 41

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Amostras

Para que a caracterização do tecido possa ser realizada é importante conhecer a espessura do espécime, o formato do espécime (simetria) e a qual eixo do espécime está alinhado com o eixo do vaso. Na amostra já preparada, cada extremidade da cruz possui uma largura de 5 mm. Depois da fixação, por exemplo na amostra 8-02, o eixo axial da amostra possui um comprimento de 14.72 mm e o eixo circunferencial um comprimento de 14.16 mm.

Na figura 44 pode-se ver uma amostra testada (aorta 8-02) com as peças de fixação nos extremos.

Figura 44: Formato final da amostra

Uma vez finalizado o ensaio, foi registrada a configuração de ruptura de cada amostra. Na figura 45 é mostrada uma fotografia da ruptura da amostra 8-02.

Figura 45: Fotografia da ruptura da amostra de aorta suína 8-02

4.2 Comportamento Mecânico

Dos dados registrados pelo equipamento foram excluídos os correspondentes ao ensaio de pré-condicionamento por não representar parte significativa do comportamento mecânico nas curvas de tensão-deformação.

Os dados de carga-deslocamento da amostra 8-02 sem nenhum tipo de processamento (brutos) são mostrados na figura 46. Para a filtragem das curvas (figura 47), dos dados brutos foi subtraído o valor da pré-carga (*offset*) para obter uma curva iniciada com carga nula. A seguir foram excluídos os dados decrescentes depois do ponto de resistência máxima para facilitar a suavização da curva. Os dados de carga-deslocamento dos testes válidos foram suavizados por uma técnica chamada *média móvel*. Esta técnica calcula a média de um determinado número de pontos (o qual é especificado pelo usuário) em torno de cada ponto dos dados e substitui esse ponto com o novo valor médio.

Através da suavização da curva de tensão-deformação, o seu formato ficou mais evidente

Figura 46: Curvas dos dados experimentais sem nenhum tipo de processamento. Eixo 1-Preto, Eixo 2-Vermelho

Figura 47: Dados experimentais brutos e suavizados dos dois eixos na amostra 8-02

apresentado assim um comportamento típico de um material elástico não-linear. Pela análise da curva, verifica-se uma grande deformação e um respetivo pequeno aumento na tensão que acontece na região inicial e mais plana da curva. Provavelmente, este fenómeno deve-se à retificação das fibras colágenas e elásticas. Enquanto acontece a retificação, a resistência ao deslocamento é pequena. Neste sentido, as fibras de colágenos vão alinhando-se e ficando no seu comprimento natural, aumentando assim a rigidez do tecido. Depois de atingir o limite elástico, o tecido não consegue retornar ao comprimento inicial apresentando uma zona de plasticidade. A plasticidade no tecido decorre parcialmente da ruptura de algumas fibras colágenas e elásticas.

Este comportamento mecânico de tensão-deformação dos tecidos biológicos pode ser expresso por diferentes tipos de tensões e deformações. As curvas de tensão de Cauchy-Elongação (σ - λ) e a Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green (S-E) para a amostra 8-02 são mostradas nas figuras 48 e 49 respectivamente. Em preto encontram-se as curvas para o eixo 1 (axial em sentido do fluxo sanguíneo) e em vermelho as curvas para o eixo 2 (circunferencial).

As amostras testadas foram separadas em 3 grupos: aortas torácicas, aortas abdominais e subclávias esquerdas. Para cada grupo de amostras foram obtidas as curvas de tensão-deformação dos eixos 1 e 2. Nas figuras 50, 51, 52, 53, 54, e 55 podem ser observadas as curvas da Segunda Tensão de Piola Kirchhoff vs. Deformação de Green ($S - E$) para todos os grupos de amostras levados até ruptura.

O valor da média, do desvio padrão e do coeficiente de variação do limite de resistência à tração e o respetivo limite de elongação para cada eixo dos diferentes grupos de amostras são mostrados na tabela 2. Na tabela 3 mostram-se só as médias das tensões e deformações nos grupos.

Figura 48: Curva de Tensão de Cauchy-Elongação ($\sigma - \lambda$)

Figura 49: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green($S-E$)

Figura 50: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Aortas torácicas

Figura 51: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Aortas torácicas

Figura 52: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S - E) do eixo 1 das Aortas abdominais

Figura 53: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S - E) do eixo 2 das Aortas abdominais

Figura 54: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S - E) do eixo 1 das Subclávias Esquerdas

Figura 55: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S - E) do eixo 2 das Subclávias Esquerdas

Artéria/Amostra	Tensões e Deformações Máximas			
	E_1	E_2	S_1 (MPa)	S_2 (MPa)
Aortas Abdominais				
401	2.04E+000	2.01E+000	9.94E-001	2.89E-001
402	2.50E+000	2.44E+000	7.64E-001	2.81E-001
704	1.89E+000	1.57E+000	8.70E-001	4.02E-001
1101	2.34E+000	2.83E+000	4.39E-001	4.42E-001
1201	1.66E+000	1.66E+000	9.19E-001	4.04E-001
1302	1.81E+000	1.81E+000	7.98E-001	1.76E-001
1401	1.79E+000	2.17E+000	3.44E-001	4.43E-001
1501	1.99E+000	2.65E+000	3.29E-001	5.73E-001
1601	2.13E+000	1.69E+000	8.34E-001	2.90E-001
1701	2.04E+000	2.44E+000	5.78E-001	5.51E-001
1802	2.06E+000	2.31E+000	2.41E-001	5.65E-001
1901	1.81E+000	2.25E+000	6.14E-001	2.22E-001
Média	2.00E+000	2.15E+000	6.44E-001	3.87E-001
Desvio Padrão	0.24027	0.40979	0.25608	0.13536
Coef. Variação (%)	11.98	19.03	39.78	35.02
Aortas Torácicas				
101	3.21E+000	2.78E+000	4.72E-001	3.64E-001
102	3.40E+000	2.85E+000	3.85E-001	2.21E-001
802	2.98E+000	2.99E+000	4.84E-001	3.15E-001
901	3.14E+000	2.62E+000	4.54E-001	2.20E-001
1001	2.89E+000	3.08E+000	5.66E-001	4.29E-001
1103	3.24E+000	2.28E+000	3.36E-001	2.45E-001
1203	2.92E+000	2.63E+000	5.14E-001	1.50E-001
1702	3.16E+000	3.26E+000	3.17E-001	2.78E-001
1803	1.98E+000	1.95E+000	4.76E-001	2.74E-001
1903	2.35E+000	1.75E+000	5.78E-001	3.09E-001
Média	2.85E+000	2.52E+000	4.57E-001	2.75E-001
Desvio Padrão	0.49317	0.5647	0.08402	0.07764
Coef. Variação (%)	17.31	22.41	18.39	28.26
Subclávias Esquerdas				
202	1.28E+000	6.62E-001	3.17E-001	1.29E-001
301	1.64E+000	1.74E+000	2.24E-001	2.18E-001
404	2.15E+000	2.16E+000	4.68E-001	2.93E-001
601	2.63E+000	2.60E+000	4.47E-001	1.93E-001
701	2.00E+000	1.93E+000	3.37E-001	2.06E-001
702	3.13E+000	3.21E+000	5.95E-001	1.40E-001
801	2.77E+000	2.13E+000	3.48E-001	7.52E-002
Média	2.23E+000	2.06E+000	3.91E-001	1.79E-001
Desvio Padrão	0.65408	0.78583	0.12162	0.07098
Coef. Variação (%)	29.36	38.12	31.11	39.63

Tabela 2: Tensões e Deformações Máximas das amostras quando levadas até ruptura

Tensões e deformações	A. Abdominais	A. Torácicas	Subclávias Esquerdas
S_1 (MPa)	6.44E-001	4.57E-001	3.91E-001
S_2 (MPa)	3.87E-001	2.75E-001	1.79E-001
E_1	2.00	2.85	2.23
E_2	2.15	2.52	2.06

Tabela 3: Média das Tensões e Deformações Máximas dos grupos de amostras quando levadas até ruptura

Tomando os gráficos como base de dados para análise, aprecia-se que o formato geral de todas as curvas é o mesmo, ou seja, apresentam um comportamento mecânico hiperelástico típico dos tecidos biológicos moles. No entanto, existe variabilidade entre amostra e amostra no caminho de tensão-deformação percorrido até chegar à ruptura. O alinhamento inicial das fibras de colágeno e a retificação que acontece quando aplicada uma tensão, são parâmetros que podem determinar o desenvolvimento diferente da curva de tensão-deformação. O mencionado antes, também faz com que o coeficiente de variação dos valores de tensão e deformação sejam relativamente elevados. Da tabela 2, os coeficientes de variação indicam heterogeneidade entre amostras, pois apresentam valores superiores a 20%, sendo que a variabilidade é maior no grupo das subclávias.

Na tabela 3 pode-se verificar que nos três grupos de amostras, o Eixo 1 suportou maior tensão média antes da ruptura. Por outro lado, as aortas abdominais suportaram mais tensão nos dois eixos do que as aortas torácicas, sendo que as aortas torácicas suportaram mais tensão que as subclávias esquerdas. Em relação à deformação, o Eixo 1 nos grupos de aortas torácicas e subclávias esquerdas apresentou um valor maior que o Eixo 2. Adicionalmente, as aortas torácicas alcançaram uma maior deformação até à ruptura comparadas com as aortas abdominais e subclávias esquerdas. Estes resultados evidenciam que as artérias proximais ao coração experimentam mais deformação até à ruptura do que aquelas que ficam mais distais. Garcia *et. al.* (49) apresentou resultados similares em artérias carótidas suínas. Em contraste, as artérias aortas abdominais (distais) apresentaram maior valor de tensão até à ruptura, resistiram maior tensão. Destes resultados é possível levantar a hipótese que as fibras de colágeno exercem um papel importante na resistência à ruptura das aortas abdominais.

O comportamento em regime elástico (mais precisamente hiperelástico e reversível) do material biológico é determinado mediante a derivação das curvas de ruptura. As curvas em regime elástico são apresentadas nas figuras 56, 57, 58, 59, 60 e 61 para os dois eixos dos três grupos de amostras.

Figura 56: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Aortas torácicas

Os valores da média, do desvio padrão e do coeficiente de variação do limite elástico e o respectivo valor de elongação para cada eixo dos grupos de amostras, assim como os módulos tangentes (E_{tan}) estimados nos valores de máxima elasticidade são indicados na tabela 4. A Tabela 5 mostra as médias das tensões e deformações para cada grupo.

Em regime elástico, o comportamento médio em relação a resistência à tensão e à deformação dos eixos apresenta o mesmo comportamento mostrado em regime de ruptura.

Figura 57: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Aortas torácicas

Figura 58: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Aortas abdominais

Figura 59: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Aortas abdominais

Figura 60: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 1 das Subclávias Esquerdas

Figura 61: Curva da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff-Deformação de Green(S-E) do eixo 2 das Subclávias Esquerdas

As curvas de tensão-deformação obtidas poderiam ser comparadas com resultados de outras pesquisas. No entanto, não é muito comum levar tecidos biológicos até à ruptura em ensaios mecânicos biaxiais. Em geral, pesquisas feitas em máquinas biaxiais planares testam os espécimes em tensões ou pressões fisiológicas. Isto decorre dos limites dos equipamentos utilizados. Pelo tipo de garras usadas para fixar a amostra (exemplo: anzóis), não é possível aplicar um deslocamento ou carga uniforme até à ruptura.

Assim, certas pesquisas estudaram o comportamento mecânico do tecido arterial de porco e humano de acordo com as condições de tensão e deformação fisiológicas. Para isso, as condições de carga ou deslocamento foram controladas com a intenção de simular a pressão efetiva intra-luminal (no interior do vaso)(46, 57, 59, 80, 82). Na tabela 6 encontram-se alguns valores aproximados de tensões e deformações em artéria aorta humana e suína testadas sob condições de deslocamento ou carga controladas. Desta tabela, pode-se ver que sob cargas

Amostra	Limite elástico		Limite elongação		Módulo tangente	
	S_1 (MPa)	S_2 (MPa)	E_1	E_2	E_{tan_1} (MPa)	E_{tan_2} (MPa)
A. Abdominais						
401	6.95E-001	2.29E-001	1.46E+000	1.60E+000	7.37E-001	2.21E-001
402	5.47E-001	1.97E-001	1.96E+000	1.76E+000	5.17E-001	1.68E-001
704	5.96E-001	3.14E-001	1.40E+000	1.26E+000	7.87E-001	4.28E-001
1101	3.01E-001	3.12E-001	1.45E+000	2.00E+000	3.03E-001	2.15E-001
1201	5.57E-001	2.50E-001	1.12E+000	1.09E+000	9.60E-001	3.90E-001
1302	4.90E-001	1.14E-001	1.14E+000	1.17E+000	7.79E-001	1.58E-001
1401	2.33E-001	3.43E-001	1.13E+000	1.81E+000	3.28E-001	3.97E-001
1501	2.20E-001	3.88E-001	1.29E+000	1.84E+000	2.59E-001	3.94E-001
1601	5.51E-001	1.77E-001	1.19E+000	1.13E+000	8.21E-001	2.69E-001
1701	3.72E-001	3.61E-001	1.30E+000	1.76E+000	5.15E-001	3.58E-001
1802	1.66E-001	3.63E-001	1.35E+000	1.56E+000	1.63E-001	4.11E-001
1901	5.74E-001	1.58E-001	1.70E+000	1.70E+000	5.23E-001	1.79E-001
Média	4.42E-001	2.67E-001	1.37E+000	1.56E+000	5.58E-001	2.99E-001
Desvio Padrão	1.75E-001	9.18E-002	2.51E-001	3.15E-001	2.58E-001	1.07E-001
Coef. Variação(%)	39.64	34.36	18.28	20.26	46.28	35.65
A. Torácicas						
101	3.13E-001	2.69E-001	2.40E+000	1.91E+000	2.85E-001	2.00E-001
102	2.64E-001	1.56E-001	2.37E+000	2.09E+000	1.93E-001	1.16E-001
802	3.28E-001	2.29E-001	2.20E+000	1.98E+000	2.53E-001	1.71E-001
901	3.15E-001	1.50E-001	2.31E+000	1.81E+000	2.37E-001	1.34E-001
1001	3.97E-001	2.99E-001	1.85E+000	2.20E+000	2.89E-001	2.22E-001
1103	2.35E-001	1.71E-001	2.44E+000	1.72E+000	1.45E-001	1.89E-001
1203	3.44E-001	1.09E-001	2.20E+000	1.25E+000	3.01E-001	7.04E-002
1702	2.29E-001	2.03E-001	1.87E+000	2.27E+000	1.38E-001	1.26E-001
1803	4.02E-001	1.83E-001	1.68E+000	1.32E+000	3.61E-001	2.14E-001
1903	4.05E-001	1.91E-001	1.58E+000	1.18E+000	4.06E-001	3.14E-001
Média	3.23E-001	1.96E-001	2.09E+000	1.77E+000	2.61E-001	1.76E-001
Desvio Padrão	6.59E-002	5.70E-002	3.16E-001	3.98E-001	8.67E-002	6.87E-002
Coef. Variação(%)	20.39	29.08	15.11	22.47	33.24	39.07
Subclávias						
202	2.02E-001	1.29E-001	7.58E-001	6.62E-001	3.20E-001	1.43E-001
301	1.46E-001	2.08E-001	9.38E-001	1.64E+000	1.91E-001	1.52E-001
404	4.43E-001	2.19E-001	2.02E+000	1.54E+000	2.73E-001	1.61E-001
601	3.99E-001	1.65E-001	2.36E+000	2.20E+000	2.58E-001	9.48E-002
701	3.18E-001	1.46E-001	1.85E+000	1.30E+000	1.97E-001	1.34E-001
702	4.61E-001	9.98E-002	2.62E+000	2.45E+000	3.45E-001	6.68E-002
801	2.46E-001	6.06E-002	2.09E+000	1.59E+000	1.86E-001	3.84E-002
Média	3.16E-001	1.47E-001	1.80E+000	1.63E+000	2.53E-001	1.13E-001
Desvio Padrão	1.23E-001	5.66E-002	7.01E-001	5.85E-001	6.45E-002	4.70E-002
Coef. Variação(%)	38.88	38.55	38.85	35.96	25.47	41.59

Tabela 4: Limite elástico em tensão e deformação. Módulo de elasticidade Tangente E_{tan}

Tensões e deformações	A. Abdominais	A. Torácicas	Subclávias Esquerdas
S_1 (MPa)	4.42E-001	3.23E-001	3.16E-001
S_2 (MPa)	2.67E-001	1.96E-001	1.47E-001
E_1	1.37	2.09	1.80
E_2	1.56	1.77	1.63

Tabela 5: Média das Tensões e Deformações Máximas das amostras em Regime Elástico

fisiológicas, os valores obtidos de tensão e deformação são menores do que os obtidos em regime elástico. O anterior pode sugerir que fisiologicamente as artérias agem em regime elástico.

	S_1 (MPa)	S_2 (MPa)	E_1	E_2	σ_1 (MPa)	σ_2 (MPa)	λ_1 (MPa)	λ_2 (MPa)
Humano	0.085-0.2	0.080-0.2	0.09-0.4	0.05-0.45	-	-	-	-
Porco	-	-	-	-	0.24	0.25	1.47	1.18

Tabela 6: Tensões e deformações estimadas em outras pesquisas sob condições controladas de carga ou deslocamento em aortas humanas e suínas

Por outro lado, os ensaios uniaxiais testando cada eixo individualmente, levaram as amostras de aorta abdominal humana e suína à ruptura (53, 54, 88, 89, 90). Na tabela 7 encontram-se alguns valores aproximados de tensões e deformações em artérias aortas humanas e suínas testadas até à ruptura. Os valores de tensão e deformação estimados nesta pesquisa encontram-se também na faixa de tensões e deformações encontradas em outras pesquisas.

	S_1 (MPa)	S_2 (MPa)	E_1	E_2	σ_1 (MPa)	σ_2 (MPa)	λ_1 (MPa)	λ_2 (MPa)
Humano	0.21	0.24	-	-	1-2	1-1.8	1.95	1.90
Porco	0.45-0.49	-	1.1-1.78	-	1.4	1.1	1.55	1.65

Tabela 7: Tensões e deformações estimadas em outras pesquisas levando as amostras de aortas humanas e suínas até à ruptura

4.3 Modelagem constitutiva

Modelo de Fung As curvas de Tensão (S)-Deformação (E) experimentais de todas as amostras foram ajustadas com o modelo bidimensional tipo Fung (ver Apêndice A). Este modelo, como mencionado, foi desenvolvido para materiais que apresentam um comportamento

hiperelástico, e portanto, faz uso dos valores de tensão-deformação em regime elástico. É o modelo mais frequentemente utilizado para ajustar os dados obtidos com os equipamentos de tração biaxial planar.

As curvas dos dados experimentais e ajustados para os eixos axial e circunferencial para a amostra 8-02 são apresentadas nas figuras 62 e 63. A tabela 8 contém as constantes A_1 , A_2 , A_3 e c estimadas para o modelo de Função de Energia de Deformação tipo Fung e o Coeficiente de Correlação (R^2) entre as curvas experimental e ajustada. Estes valores referem-se aos três grupos de amostras: aortas abdominais, aortas torácicas e subclávias esquerdas. Na tabela encontram-se também o respectivo valor da média, do desvio padrão e do coeficiente de variação de cada parâmetro.

Figura 62: Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 1. (Preta)experimental (Vermelha)teórica

Tomando como base os gráficos do ajuste e o valor do R^2 , pode-se verificar que o modelo bidimensional tipo Fung reproduz, dentro de certa precisão, o comportamento mecânico da artéria testada. Um comportamento similar no ajuste foi apresentado pelo resto das amostras.

Figura 63: Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 2. (Preta)experimental (Vermelha)teórica

O modelo de Fung mostrou-se sensível ao valor inicial (semente) dos parâmetros no algoritmo de busca dos parâmetros de menor erro.

O R^2 reportado por vários autores encontra-se numa faixa entre 0.966-0.99 (13, 14, 20, 33, 46, 57, 61, 64, 65, 67, 80, 89). Assim, de acordo com a tabela 8, o R^2 estimado para todos os grupos de amostras apresenta um valor dentro da faixa de valores reportada na literatura. Isto, indica o ajuste realizado com o modelo de Fung comportou-se como o esperado e em, média conseguiu ajustar bem o modelo aos dados experimentais.

Modelo de Holzapfel As curvas de ajuste dos dados experimentais da amostra 8-02 feitas com o Modelo de Função de Energia de Deformação Bicamada proposto por Holzapfel são mostradas nas figuras 64 e 65. Destas figuras, evidencia-se que o modelo bicamada consegue simular bem o comportamento mecânico inicial deste tipo de tecido biológico. No entanto,

Amostra	Constantes do modelo				R ²	
	A ₁	A ₂	A ₃	c	R ₁ ²	R ₂ ²
A. Abdominais						
401	2.38E-001	7.06E-002	1.05E-003	1.07E+000	0.9986	0.9930
402	1.05E-001	4.94E-002	1.80E-003	1.39E+000	0.9999	0.9980
704	3.96E-001	2.70E-001	-3.39E-004	3.43E-001	0.9991	0.9937
1101	1.85E-001	1.17E-001	9.16E-004	6.20E-001	.9959	0.9977
1201	5.94E-001	3.07E-001	-2.02E-003	2.93E-001	0.9980	0.9908
1302	6.25E-001	1.55E-001	-1.24E-003	2.69E-001	0.9957	0.9854
1401	5.71E-001	1.99E-001	-1.72E-003	1.51E-001	0.9940	0.9898
1501	2.06E-001	1.78E-001	5.08E-004	4.48E-001	0.9970	0.9991
1601	2.18E-001	5.87E-001	-1.06E-003	2.85E-001	0.9927	0.9973
1701	4.13E-001	2.30E-001	-8.48E-004	2.52E-001	0.9932	0.9943
1802	1.18E-001	1.75E-001	9.24E-004	6.75E-001	0.9968	0.9989
1901	2.87E-001	7.64E-002	4.23E-004	4.50E-001	0.9957	0.9980
Média	3.30E-001	2.01E-001	-1.34E-004	5.21E-001	0.9964	0.9947
Desvio Padrão	0.186	0.145	0.001	0.371	0.0023	0.0043
Coef. Variação(%)	56.39	72.14	924.2	71.21	0.2312	0.4320
A. Torácicas						
101	8.08E-002	4.90E-002	1.87E-003	1.07E+000	0.9987	0.9970
102	7.60E-002	5.12E-002	1.89E-003	7.77E-001	0.9988	0.9912
802	1.00E-001	8.28E-002	1.60E-003	6.89E-001	0.9985	0.9985
901	6.86E-002	4.62E-002	1.96E-003	1.10E+000	0.9990	0.9953
1001	1.14E-001	6.30E-002	1.60E-003	1.07E+000	0.9922	0.9977
1103	6.97E-002	6.47E-002	1.87E-003	8.56E-001	0.9899	0.9728
1202	2.45E-001	2.28E-001	3.71E-005	3.11E-001	0.9978	0.9979
1203	3.51E-002	3.62E-002	2.26E-003	2.28E+000	0.9854	0.9987
1702	1.03E-001	6.60E-002	1.67E-003	7.13E-001	0.9865	0.9961
1803	1.81E-001	1.21E-001	8.43E-004	6.89E-001	0.9977	0.9964
1903	2.44E-001	1.73E-001	2.51E-004	4.74E-001	0.9996	0.9848
Média	1.20E-001	8.92E-002	1.44E-003	9.12E-001	0.9949	0.9933
Desvio Padrão	0.0711	0.061	0.001	0.516	0.0054	0.0079
Coef. Variação(%)	59.82	68.14	50.79	56.55	0.5414	0.7978
Subclávias						
202	5.52E-001	4.39E-001	5.55E-003	3.53E-001	0.9974	0.9743
301	2.44E-001	1.46E-001	3.58E-004	4.68E-001	0.9988	0.9968
404	3.82E-002	2.99E-002	2.33E-003	3.86E+000	0.9994	0.9997
601	2.33E-002	1.06E-002	2.27E-003	4.94E+000	0.9930	0.9980
701	1.74E-002	1.28E-002	-7.47E-005	8.20E+000	0.9990	0.9990
702	9.62E-002	2.59E-002	2.34E-003	7.75E-001	0.9999	0.9819
801	3.49E-003	1.35E-003	-6.32E-006	2.82E+001	0.9974	0.9976
Média	1.39E-001	9.51E-002	1.82E-003	6.69E+000	0.9978	0.9925
Desvio Padrão	0.200	0.160	0.002	9.925	0.0025	0.01011
Coef. Variação(%)	143.67	167.80	108.96	148.36	0.2355	1.01879

Tabela 8: Constantes do modelo tipo Fung

para conseguir ajustar todos os parâmetros do modelo, no eixo 1 foi diminuída a faixa de tensão da curva ajustada . Portanto, o ajuste dessa curva pode não ser considerado ótimo. Já para o eixo 2, os valores de tensão ajustados foram mais próximos aos experimentais. O programa computacional para estimar as constantes do modelo mostrou-se bastante suscetível aos parâmetros iniciais de busca.

A tabela 9 apresenta as constantes estimadas para cada amostra, assim como o valor da média, do desvio padrão e do coeficiente de variação em cada grupo de amostras. O coeficiente de variação superou o 20% para todas as constantes, o que indica uma alta heterogeneidade nos valores das constantes para cada amostra. Os valores de R^2 encontrados com o modelo de Holzapfel encontram-se no limite superior da faixa de valores encontrados na literatura (próximos a 1) mostrando que o modelo é apropriado para ajustar este tipo de dados experimentais. Comparando tais valores com os obtidos ao ajustar os dados experimentais com o modelo de Fung, podemos afirmar que o modelo de Holzapfel consegue ajustar, em certa faixa de tensão, melhor os dados de tensão-deformação obtidos nos testes.

Um dos parâmetros estimados neste modelo é o ângulo (α). Este parâmetro dá uma ideia da orientação do grupo de fibras colágenas diagonais. Assim, os valores estimados pelo modelo podem ser comparados com os obtidos em análises histológicas em futuras pesquisas ou, por outro lado, uma análise histológica pode ser utilizada para nutrir o modelo com os valores dos ângulos. No apêndice encontra-se a tabela com os intervalos de confiança dos valores dos parâmetros das constantes do modelo de Holzapfel.

4.4 Histologia

4.4.1 Microestrutura

Nas figuras 66 e 67 são mostradas as micrografias da amostra de aorta torácica 8-02. Na coloração feita com HE (figura 66) pode ser observada a camada média da artéria. Tingidos em roxo, encontram-se os núcleos das células de músculo liso. As linhas contínuas rosas são

Artéria/Amostra	Constantes do modelo										R ²	
	c	c ₁ ¹	c ₂ ¹	c ₁ ²	c ₂ ²	c ₁ ^{3,4}	c ₂ ^{3,4}	α(°)	R ₁ ²	R ₂ ²		
Aortas Abdominais	4.666E-003	3.920E-002	1.434E-002	1.203E-002	6.062E-003	1.070E-002	1.425E-002	31.56	0.9995	0.9998		
	7.931E-003	5.320E-003	2.366E-002	1.240E-002	7.384E-003	1.290E-002	1.164E-006	11.31	0.9999	0.9998		
	1.514E-007	2.356E-002	3.012E-002	1.586E-002	3.359E-002	7.557E-003	3.261E-002	38.11	0.9996	0.9966		
	4.622E-009	1.707E-002	1.201E-002	1.038E-002	9.368E-003	8.180E-003	1.151E-002	41.72	0.9986	0.9997		
	2.179E-009	3.798E-002	4.577E-002	2.251E-002	3.397E-002	3.122E-003	4.168E-002	37.28	0.9992	0.9977		
	8.923E-006	3.261E-002	3.674E-002	9.251E-003	6.898E-004	6.474E-003	3.692E-002	35.52	0.9983	0.9999		
	7.845E-006	2.233E-002	3.187E-002	5.630E-003	5.595E-002	1.139E-006	3.291E-002	16.37	0.9981	0.9969		
	7.446E-007	1.021E-002	1.629E-002	9.454E-003	1.278E-002	1.031E-002	1.609E-002	42.63	0.9991	0.9999		
	4.337E-010	1.471E-002	2.803E-002	3.593E-002	3.886E-002	3.401E-003	3.753E-002	54.36	0.9995	0.9990		
	4.528E-012	2.210E-002	3.142E-002	1.470E-002	2.161E-002	1.931E-003	3.141E-002	36.57	0.9968	0.9997		
	1.046E-003	1.625E-002	1.407E-003	1.768E-002	1.475E-002	5.704E-003	1.457E-002	53.02	0.9997	0.9999		
	3.676E-006	1.194E-002	1.606E-002	1.982E-003	8.225E-003	1.205E-002	1.607E-002	30.88	0.9976	0.9995		
	Média	2.111E-002	2.398E-002	1.398E-002	2.027E-002	6.861E-003	2.379E-002	35.24	0.9988	0.9991		
	Desvio Padrão	1.081E-002	1.235E-002	8.780E-003	1.675E-002	4.167E-003	1.318E-002	13.83	0.0019	0.0012		
	Coefficiente de Variação(%)	221.87	51.23	51.50	62.78	82.65	55.41	39.25	0.0891	0.1229		
Aortas Torácicas	5.449E-006	1.197E-002	6.899E-003	3.882E-006	1.036E-001	9.971E-003	1.312E-004	54.28	0.9997	0.9996		
	3.528E-005	9.279E-003	4.912E-004	3.848E-003	7.737E-003	4.044E-003	7.673E-003	42.28	0.9999	0.9983		
	5.022E-008	1.383E-002	6.036E-003	1.062E-002	8.576E-003	1.695E-003	8.036E-003	39.76	0.9995	0.9975		
	5.142E-003	1.341E-002	9.331E-008	6.606E-003	7.918E-003	2.130E-003	1.459E-002	40.65	0.9999	0.9996		
	1.356E-010	1.957E-002	5.982E-003	8.333E-003	3.392E-003	7.974E-003	6.038E-003	44.30	0.9978	0.9999		
	7.978E-003	1.292E-002	6.101E-007	6.602E-003	1.930E-002	1.410E-007	9.250E-005	1.30	0.9990	0.9986		
	1.293E-003	1.798E-002	1.433E-002	1.509E-002	2.522E-002	4.539E-004	2.543E-002	38.93	0.9992	0.9993		
	7.377E-003	1.465E-002	8.647E-013	1.367E-002	6.933E-003	1.639E-003	6.586E-012	45.85	0.9933	0.9999		
	3.529E-007	7.130E-003	4.598E-003	4.253E-003	5.329E-003	8.496E-003	4.686E-003	39.20	0.9957	0.9995		
	4.477E-006	2.922E-002	8.285E-003	1.737E-002	1.407E-002	1.766E-003	1.200E-002	43.75	0.9998	0.9984		
	8.250E-003	1.794E-002	2.174E-004	1.043E-002	4.276E-002	4.589E-003	3.900E-002	22.96	0.9999	0.9994		
	Média	1.526E-002	4.258E-003	8.802E-003	2.226E-002	3.887E-003	1.070E-002	37.31	0.9985	0.9991		
	Desvio Padrão	5.933E-003	4.645E-003	5.245E-003	2.933E-002	3.461E-003	1.203E-002	14.96	0.0022	0.0008		
	Coefficiente de variação (%)	132.82	38.87	109.08	59.59	131.78	112.46	40.09	0.2156	0.0784		
	Subclávias Esquerdas											
Subclávias Esquerdas	2.557E-010	4.932E-002	1.198E-002	4.643E-002	3.617E-014	5.554E-003	3.587E-014	60.79	0.9994	0.9876		
	2.179E-006	1.659E-002	7.465E-003	1.010E-002	1.385E-002	8.819E-003	1.081E-002	36.41	0.9998	0.9994		
	1.311E-002	2.574E-002	5.007E-003	2.013E-002	3.302E-008	2.624E-003	3.960E-004	54.11	0.9999	0.9998		
	2.142E-002	1.089E-003	2.206E-002	7.039E-003	3.634E-003	9.729E-003	1.930E-007	13.37	0.9997	0.9997		
	1.123E-002	1.562E-002	3.031E-009	9.524E-003	4.378E-003	9.402E-003	3.312E-008	41.79	0.9996	0.9995		
	2.642E-003	1.048E-002	5.619E-003	3.554E-003	1.623E-011	2.937E-003	5.861E-003	31.07	0.9999	0.9999		
	1.436E-002	1.566E-002	2.831E-012	3.321E-003	9.333E-003	5.633E-008	5.620E-007	18.97	0.9994	0.9972		
	Média	1.921E-002	7.448E-003	1.430E-002	4.457E-003	5.581E-003	2.438E-003	36.76	0.9997	0.9976		
	Desvio Padrão	1.520E-002	7.685E-003	1.525E-002	5.359E-003	3.855E-003	4.277E-003	17.29	0.0002	0.0045		
	Coefficiente de variação (%)	91.88	79.10	103.19	106.65	120.25	175.41	47.06	0.0237	0.4518		

Tabela 9: Constantes do modelo bicamada tipo Holzapfel

Figura 64: Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 1. (Preta)experimental (Vermelha)teórica. Modelo Holzapfel

as fibras e lâminas elásticas. Tingidos com tonalidades mais claras de rosa encontram-se o músculo liso, as fibras colágenas e outros tecidos conectivos da artéria. Com esta coloração não é possível distinguir claramente as fibras colágenas.

A coloração de Weigert-Van Giesson permite uma melhor identificação tanto de fibras elásticas como colágenas. Na figura 67, as linhas contínuas escuras (marrom-preto) são as fibras e lâminas elásticas. Em vermelho podem ser vistas as fibras colágenas e em amarelo são tingidos outros tecidos conjuntivos da artéria. Desta micrografia foi possível quantificar percentualmente o conteúdo aproximado de colágeno e elastina. Os gráficos de barras dos valores das médias determinados para os componentes passivos presentes nos diferentes grupos de artérias são mostrados na figura 68. Estes valores incluindo o desvio padrão e o coeficiente de variação são apresentados na tabela 10. A porcentagem de componentes passivos entre amostras mostra-se homogênea, assim, a heterogeneidade em tensão-deformação pode decorrer da forma em que se alinham as fibras colágenas e elásticas quando aplicada a carga.

Figura 65: Curvas de tensão de Kirchhoff-Deformação de Green, Eixo 2. (Preta)experimental (Vermelha)teórica. Modelo Holzapfel

Figura 66: Coloração com HE da amostra 8-02. 1.Elastina (rosa escuro), 2. Núcleo de uma célula de músculo liso (roxo), 3. Célula de Músculo liso (cor de rosa ao redor do núcleo roxo).

Os autores Humphrey e Holzapfel (83) num artigo de revisão publicaram intervalos de

Figura 67: Coloração com o corante de Weigert- Van Giesson da amostra 8-02. 1. Colágeno (vermelho), 2.Elastina (preto), 3.Outros tecidos conjuntivos e músculo liso (amarelo).

Grupos amostras	Colágeno	Elastina	Outros
A. Abdominais			
Média	32.121	58.030	9.850
Desvio padrão	3.889	2.584	1.845
Coef. Variação (%)	12.10	4.45	18.73
A. Torácicas			
Média	33.252	57.557	9.191
Desvio padrão	2.451	1.481	1.336
Coef. Variação (%)	7.73	2.57	14.53
Subclávias Esquerdas			
Média	31.022	59.775	9.203
Desvio padrão	3.115	1.829	2.042
Coef. Variação (%)	10.03	3.06	22.18

Tabela 10: Média e Desvio padrão das porcentagens do conteúdo celular nos grupos de amostras

porcentagens do conteúdo celular em artérias aortas torácicas humanas. Foram reportadas porcentagens de entre 22-33% de fibras elásticas, 64-72% de lâminas elásticas e 18-31% de fibras colágenas. Garcia *et al* reportaram porcentagens de entre 45-60% de elastina e 20-28% de colágeno para artérias carótidas suínas perto do coração. As amostras testadas eram porções de artérias elásticas proximais ao coração portanto, esperava-se uma elevada porcentagem de elastina na sua composição sendo que os resultados confirmaram o esperado. A porcentagem de músculo liso não foi quantificada, pois o ensaio foi realizado numa velocidade quase-estática na qual a ação do músculo liso não é representativa. Além disso, em artérias elásticas o

conteúdo deste componente celular não é predominante. Deste modo, os resultados obtidos se encontram numa faixa de porcentagens esperada para este tipo de tecidos.

(a) A. Abdominais

(b) A. Torácicas

(c) Subclávias Esquerdas

Figura 68: Porcentagens dos valores da média para o conteúdo celular passivo em artérias (a)Aortas Abdominais, (b)Aortas Torácicas e (c)Subclávias Esquerdas.

5 CONCLUSÕES

O trabalho desenvolvido ao longo desta dissertação permitiu obter uma metodologia para a elaboração das amostras necessárias para a realização dos testes de tração biaxiais. Neste sentido, a dissertação expõe os detalhes da metodologia apresentando também a descrição de cada etapa do teste e as considerações especiais para a realização do mesmo. Deste modo, com os dados de carga-deslocamento registrados pelo equipamento conseguiram-se estimar as principais propriedades mecânicas de um tecido biológico mole.

A caracterização mecânica de 3 grupos de artérias: aorta abdominal, aorta torácica e subclávia esquerda foi realizada. As diferentes curvas de tensão-deformação, limite de resistência (σ_{max}), limite elástico (σ_Y) e módulo tangente (E_{tan}) foram estimados. Com isto, foi evidenciado o comportamento hiperelástico não-linear das artérias.

Observando o comportamento mecânico de cada eixo (axial e circunferencial) individualmente e fazendo uma comparação entre ambos, pode-se afirmar que o eixo axial apresenta em média uma resistência à tração maior para todos os grupos de amostras.

Foi possível ajustar os dados experimentais de tensão-deformação a dois dos modelos mais frequentemente utilizados na caracterização mecânica de tecidos biológicos, derivados da mecânica dos meios contínuos, utilizando a Função de Energia de Deformação. Estes modelos permitem prever o comportamento do tecido sob diferentes tensões ou deformações. Os elevados coeficientes de correlação entre as curvas experimentais e ajustadas indicam que os

modelos de função de energia de deformação de Fung e de Holzapfel modelam o tecido arterial suíno. Constata-se que o modelo do Holzapfel apresentou melhor ajuste que o modelo do Fung. No entanto, como indicado no gráficos, o modelo de Holzapfel apresenta deficiências na região próxima do limite elástico nas curvas de tensão-deformação.

A simplicidade nas equações, o menor número de parâmetros que devem ser estimados no modelo e o bom coeficiente de correlação no ajuste, fazem do modelo de Fung atraente para representar este tipo de tecido biológico e seus dados experimentais. No entanto, este modelo não utiliza dados estruturais do tecido e as constantes do modelo ainda não possuem significado fisiológico imediato. Já, o modelo de Holzapfel apresenta a possibilidade de utilizar dados estruturais, tais como orientação das fibras colágenas, o que permite descrever melhor a realidade do tecido.

As análises histológicas dos grupos de amostras permitiram estimar o percentual médio do conteúdo dos componentes celulares passivos das artérias. Foi observada uma maior porcentagem de elastina em todos os grupos. Esses resultados eram esperados por se tratar de estudos em artérias elásticas.

Espera-se que esta metodologia possa balizar trabalhos de caracterização de tecidos biológicos relevantes na prática de diagnóstico médico. Dos dados experimentais estima-se a energia de deformação elástica, da energia de deformação elástica estimam-se grandezas físicas que poderão quicá estar correlacionadas falhas de tecido.

*

APÊNDICE A - PROGRAMA PARA O PROCESSAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS E A ESTIMAÇÃO DAS CONSTANTES DOS MODELOS MATEMÁTICOS

Programa Geral

Programa que processa dados de carga-deslocamento obtidos mediante o ensaio de tração biaxial planar para estimar a Tensão de Cauchy, Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff, a elongação e a deformação de Green. Com estes dados o programa estima as constantes desconhecidas dos modelos de Função de Energia de Deformação de Fung e Holzapfel e ajusta os dados experimentais ao modelo teórico.

BLOCO QUE CARREGA O ARQUIVO DE DADOS

```
dados_entrada=load('a802.txt');
```

BLOCO QUE CRIA VARIÁVEIS AUXILIARES.

```
A= size (dados_entrada);  
distancias=zeros(A(1,1),4);  
e=zeros(A(1,1),2);
```

BLOCO DE CARACTERÍSTICAS DO TECIDO

espessura=2.078;largura=5; L01=14.72;L02=14.16;

BLOCO QUE CALCULA O DESLOCAMENTO DOS 4 MOTORES

```
for i=1:A(1,1)
.   distancias(i,1)= dados_entrada(1,1)-dados_entrada(i,1);
.   distancias(i,2)= dados_entrada(1,2)-dados_entrada(i,2);
.   distancias(i,3)= dados_entrada(1,3)-dados_entrada(i,3);
.   distancias(i,4)= dados_entrada(1,4)-dados_entrada(i,4);
end
```

BLOCO QUE CALCULA O DESLOCAMENTO DE CADA UM DOS EIXOS

```
deslocamento(:,1)=distancias(:,1)+distancias(:,3);
deslocamento(:,2)=distancias(:,2)+distancias(:,4);
carga(:,1)=dados_entrada(:,5);
carga(:,2)=dados_entrada(:,6);
Eixo1=[deslocamento(:,1),carga(:,1)];
Eixo2=[deslocamento(:,2),carga(:,2)];
```

BLOCO ARRUMA-DADOS. Utiliza a função `arrumados` para subtrais a pré-carga aplicada no ensaio e os valores repetidos no eixo de deslocamento.

```
[dadosarrumados1] = Arruma_dados (Eixo1);
dadosarrumados1(:,2)=dadosarrumados1(:,2)-dadosarrumados1(1,2);
[dadosarrumados2] = Arruma_dados (Eixo2);
dadosarrumados2(:,2)=dadosarrumados2(:,2)-dadosarrumados2(1,2);
desloc_eixo1=dadosarrumados1(:,1);carga_eixo1=dadosarrumados1(:,2);
desloc_eixo2=dadosarrumados2(:,1);carga_eixo2=dadosarrumados2(:,2);
```

BLOCO CORTA-DADOS. Utiliza a função `Cortados` para cortar os dados experimentais

no máximo valor.

```
[carga_eixo1_c,desloc_eixo1_c] = Cortadados(carga_eixo1,desloc_eixo1);
[carga_eixo2_c,desloc_eixo2_c] = Cortadados(carga_eixo2,desloc_eixo2);
desloc_carga_eixo1(:,1)=desloc_eixo1_c;
desloc_carga_eixo1(:,2)=carga_eixo1_c;
desloc_carga_eixo2(:,1)=desloc_eixo2_c;
desloc_carga_eixo2(:,2)=carga_eixo2_c;
```

BLOCO FILTRA-DADOS. Os dados são suavizados utilizando a função Smoothing

```
[desloc_carga_eixo1_suave] = smoothing (desloc_carga_eixo1, 100);
[desloc_carga_eixo2_suave] = smoothing (desloc_carga_eixo2, 100);
```

BLOCO QUE ESTIMA TENSÕES E DEFORMAÇÕES ATÉ RUPTURA

```
a1=size(desloc_carga_eixo1_suave);
a2=size(desloc_carga_eixo2_suave);
stretches l/lo (Elongações)
lambda_1=ones(a1(1,1),1)+desloc_carga_eixo1_suave(:,1)/L01;
lambda_2=ones(a2(1,1),1)+desloc_carga_eixo2_suave(:,1)/L02;
L instantâneo L0+delta(L) (Comprimentos instantâneos)
L_1=L01*ones(a1(1,1),1)+desloc_carga_eixo1_suave(:,1);
L_2=L02*ones(a2(1,1),1)+desloc_carga_eixo2_suave(:,1);
Tensão de Lagrange para cada eixo
T_1=desloc_carga_eixo1_suave(:,2)/(espessura*largura);
T_2=desloc_carga_eixo2_suave(:,2)/(espessura*largura);
Tensor de tensão de Cauchy
sigma_1=lambda_1.*T_1(:,1);
sigma_2=lambda_2.*T_2(:,1);
Segunda Tensão de Piola Kirchhoff
```

```
S_1=(ones(a1(1,1),1)./lambda_1).*T_1(:,1);
```

```
S_2=(ones(a2(1,1),1)./lambda_2).*T_2(:,1);
```

Deformacao de Green

```
E_1=(1/2).*(lambda_1.^2-ones(a1(1,1),1));
```

```
E_2=(1/2).*(lambda_2.^2-ones(a2(1,1),1));
```

BLOCO DERIVA-DADOS. A função Derivados deriva os dados suavizados para encontrar o ponto de inflexão da curva. Assim, pode ser determinada a curva em regime elástico do material e pode ser estimado o limite elástico.

```
desloc_suave_eixo1=desloc_carga_eixo1_suave(:,1);
```

```
carga_suave_eixo1=desloc_carga_eixo1_suave(:,2);
```

```
desloc_suave_eixo2=desloc_carga_eixo2_suave(:,1);
```

```
carga_suave_eixo2=desloc_carga_eixo2_suave(:,2);
```

```
[carga_deriv_eixo1,desloc_deriv_eixo1,Derivadasuave1]=Derivados
```

```
(carga_suave_eixo1,desloc_suave_eixo1);
```

```
[carga_deriv_eixo2,desloc_deriv_eixo2,Derivadasuave2]=Derivados
```

```
(carga_suave_eixo2,desloc_suave_eixo2);
```

```
desloc_carga_deriv_eixo1(:,1)=desloc_deriv_eixo1;
```

```
desloc_carga_deriv_eixo1(:,2)=carga_deriv_eixo1;
```

```
desloc_carga_deriv_eixo2(:,1)=desloc_deriv_eixo2;
```

```
desloc_carga_deriv_eixo2(:,2)=carga_deriv_eixo2;
```

BLOCO QUE ESTIMA AS TENSÕES E DEFORMAÇÕES EM REGIME ELÁSTICO

```
b1=size(desloc_carga_deriv_eixo1);
```

```
b2=size(desloc_carga_deriv_eixo2);
```

stretches l/lo (Elongações)

lambda_1_RE=ones(b1(1,1),1)+desloc_carga_deriv_eixo1(:,1)/L01;

lambda_2_RE=ones(b2(1,1),1)+desloc_carga_deriv_eixo2(:,1)/L02;

Tensão de Lagrange para cada eixo. 1-axial, 2-circunferencial.

T_1_RE=desloc_carga_deriv_eixo1(:,2)/(espessura*largura);

T_2_RE=desloc_carga_deriv_eixo2(:,2)/(espessura*largura);

Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff

S_1_RE=(ones(b1(1,1),1)./lambda_1_RE).*T_1_RE(:,1);

S_2_RE=(ones(b2(1,1),1)./lambda_2_RE).*T_2_RE(:,1);

Deformacao de Green

E_1_RE=(1/2).*(lambda_1_RE.^2-ones(b1(1,1),1));

E_2_RE=(1/2).*(lambda_2_RE.^2-ones(b2(1,1),1));

BLOCO QUE DERIVA A CURVA DE TENSÃO PARA OBTER O MÓDULO TANGENTE

[Derivadasuave_S_E_1] = DerivadosD (S_1_RE,E_1_RE);

[Derivadasuave_S_E_2] = DerivadosD (S_2_RE,E_2_RE);

[Derivadasuave_sigma_lambda_1] = DerivadosD (sigma_1_RE,lambda_1_RE);

[Derivadasuave_sigma_lambda_2] = DerivadosD (sigma_2_RE,lambda_2_RE);

BLOCO PARA DETERMINAR OS PARAMETROS DA FUNÇÃO DE ENERGIA DE DEFORMAÇÃO DE FUNG. Calcula os parâmetros do modelo de Função de Energia de Deformação utilizando a função do Matlab: fminsearch.

ncorte_E_1_RE=size(E_1_RE);

ncorte_E_2_RE=size(E_2_RE);

if ncorte_E_2_RE(1,1)<ncorte_E_1_RE(1,1)

. E_1_RE=E_1_RE(1:ncorte_E_2_RE(1,1),1);

. S_1_RE=S_1_RE(1:ncorte_E_2_RE(1,1),1);

```
else
```

```
.    E_2_RE=E_2_RE(1:ncorte_E_1_RE(1,1),1);
```

```
.    S_2_RE=S_2_RE(1:ncorte_E_1_RE(1,1),1);
```

```
end
```

```
x0=[1000;0.1;0.1;0.0010];    Valores iniciais para os parâmetros de ajuste
```

[x,resnorm]=fminsearch(@Erro,x0); A função 'fminsearch' é geralmente referida como uma otimização não-linear multidimensional sem restrições (que utiliza o método de Nelder-Mead). Nesta função, as restrições são colocadas pelo usuário. Esta função estima o mínimo de uma função escalar de várias variáveis, a partir de uma estimativa inicial. A função começa no ponto x0 e retorna um valor de x que é um minimizador local da função @Objetivo (neste caso @Erro). x0 pode ser um escalar, vetor ou matriz.

```
c=x(1);
```

```
A1=x(2);
```

```
A2=x(3);
```

```
A3=x(4);
```

```
E_corte=[E_1_RE E_2_RE];
```

```
[yvalor]=Fung(x,E_corte);
```

```
[yvalor2]=Fung2(x,E_corte);
```

```
nlinhas=size(E_corte);
```

```
X=[S_1_RE yvalor];
```

```
R_1= corrcoef(X);
```

```
R2_1=(R_1(1,2)2);
```

```
Y=[S_2_RE yvalor2];
```

```
R_2= corrcoef(Y); R2_2=(R_2(1,2)2);
```

```
R2= [R2_1 R2_2]; Coeficiente de correlação
```

BLOCO PARA DETERMINAR OS PARAMETROS DA FUNÇÃO DE ENERGIA DE
DEFORMAÇÃO DE HOLZAPFEL

```

ncorte_lambda_1_RE=size(lambda_1_RE);
ncorte_lambda_2_RE=size(lambda_2_RE);
.
if ncorte_lambda_2_RE(1,1)<ncorte_lambda_1_RE(1,1)
.    lambda_1_RE=lambda_1_RE(1:ncorte_lambda_2_RE(1,1),1);
.    sigma_1_RE=sigma_1_RE(1:ncorte_lambda_2_RE(1,1),1);
else
.    lambda_2_RE=lambda_2_RE(1:ncorte_lambda_1_RE(1,1),1);
.    sigma_2_RE=sigma_2_RE(1:ncorte_lambda_1_RE(1,1),1);
end

lb = [0,0,0,0,0,0,0,0];      Condições de contorno inferiores
ub = [1e16,1e16,1e16,1e16,1e16,1e16,1e16,pi/2];      Condições de contorno superiores
x0=[0.0001;0.001;0.001;0.001;0.001;0.001;0.0001;0.79];Valores iniciais para os parâmetros
de ajuste
[x,resnorm,residual,exitflag,output,lambda,jacobian]=lsqnonlin(@holzapfel_fit,x0,lb,ub);
ci=nlparci(x,residual,'jacobian',jacobian);

lambda_corte_h=[lambda_1_RE lambda_2_RE];
[yval_h]=Holzapfel(x,lambda_corte_h);
[yval_h2]=Holzapfel2(x,lambda_corte_h);

X=[sigma_1_RE yval_h];
R_1= corrcoef(X);
R2_1=(R_1(1,2)^2);
Y=[sigma_2_RE yval_h2];

```

```
R_2= corrcoef(Y);
R2_2=(R_2(1,2)2);
R2= [R2_1 R2_2]; Coeficiente de correlação
```

Descrição das funções utilizadas no programa

Função Arruma_dados

Nas colunas de dados iniciais de deslocamento fornecidas pelo equipamento alguns valores ficaram repetidos. Para resolver isso, a função arruma_dados verifica quias dados estão consecutivamente repetidos e faz a média entre eles, deixando só um valor para esse conjunto de dados repetidos. O procedimento anterior, é feito também para os valores de carga correspondentes a esses valores de deslocamento. Além disso nas colunas de carga, o valor inicial correspondente à pré-carga é subtraído de todos os valores seguintes para obter uma coluna iniciando em zero.

```
function [dadosarrumados] = Arruma_dados (Dados)
ndados = size(Dados);
dadosarrumados=zeros(ndados);
i=1;
k=1;
while i<=ndados(1);
.   dadosarrumados(k,1)=Dados(i,1);
.   soma=Dados(i,2);
.   j=i+1;
if j>ndados(1)
.   dadosarrumados(k,2)=Dados(i,2);
.   break;
end
```



```

acumulador=1;
while Dados(j,1)==Dados(i,1)
.    soma=soma+Dados(j,2);
.    acumulador=acumulador+1;
.    j=j+1;
if j>ndados(1)
.    break;
end
end
dadosarrumados(k,2)=soma/acumulador;
i=i+acumulador;
k=k+1;
end
dadosarrumados=dadosarrumados(1:(k-1),:);
end

```

Função Cortadados

Função que corta os dados experimentais no dado crescente de maior valor. O anterior facilita a suavização correta dos dados na curva. A função procura o maior valor na coluna de carga e descarta o resto de valores depois desse máximo. O número de filas da coluna de deslocamento é cortado para ficar com o mesmo número de filas que o vetor de carga.

```

function [carga_eixo1_c,desloc_eixo1_c] = Cortadados (carga_eixo1,desloc_eixo1);
nlinhas = size(carga_eixo1);
imaior=1;
Smaior= carga_eixo1(1,1);
for i=2:nlinhas(1,1)
.    if carga_eixo1(i,1) > Smaior

```

```

.         Smaior=carga_eixo1(i,1);
.         imaior=i;
.     end
end
carga_eixo1_c = carga_eixo1(1:imaior,1); desloc_eixo1_c = desloc_eixo1(1:imaior,:);

```

Função Smoothing

Função que suaviza a curva realizando uma filtragem dos dados de carga-deslocamento. A função faz a média de certo número de dados (o número dados é colocado no dado de entrada 'vizinhos') ao redor de cada dado registrado e substitui esse valor pelo valor médio estimado.

```
function [Dadossuaves] = smoothing (Dados, vizinhos)
```

```
ndados=size(Dados);
```

```
Dadossuaves=Dados;
```

```
for i=1:ndados(1)
```

```
.     if i< (vizinhos+1)
```

```
.         naux=vizinhos-i+1;
```

```
.         aux=naux*Dados(1,2);
```

```
.         for j=1:(i+vizinhos)
```

```
.             aux=aux+Dados(j,2);
```

```
.         end
```

```
.     elseif i> (ndados(1)-vizinhos)
```

```
.         naux=i-ndados(1)+vizinhos;
```

```
.         aux=naux*Dados(ndados(1),2);
```

```
.         for j=(i-vizinhos):ndados(1)
```

```
.             aux=aux+Dados(j,2);
```

```
.         end
```

```
.     else
```

```
.         aux=0;
```

```

.         for j=(i-vizinhos):(i+vizinhos)
.             aux=aux+Dados(j,2);
.         end
.     end

```

```

        DadoSuaves(i,2)=aux/(2*vizinhos+1);
end
end

```

Função Derivados

Função que deriva os dados cortados e suavizados para encontrar a inclinação da curva em cada ponto. Esta função suaviza novamente os dados derivados para retirar o ruído. O ponto máximo da derivada é o ponto de inflexão onde a curva muda a concavidade. Fisiologicamente, este ponto máximo indica o limite elástico do material.

DS1S: dados suavizadosos eixo 1 coluna de carga (S)

DS1E: dados suavizadosos eixo 1 coluna de deslocamento (E)

DS1Sd: dados suavizadosos eixo 1 coluna de carga (S) derivados

DS1Ed: dados suavizadosos eixo 1 coluna de deslocamento (E) derivados

.

```
function [DS1Sd,DS1Ed, Derivadasuave] = Derivados (DS1S,DS1E)
```

```
nlinhas = size(DS1S);
```

```
derivadaS=zeros(nlinhas(1,1),1);
```

Bloco que calcula a derivada de S

```
for i=1:nlinhas(1,1)
```

```
    if i==1
```

```
        derivadaS(i)=(DS1S(i+1,1)-DS1S(i))/(DS1E(i+1,1)-DS1E(i));
```

```
    elseif i==nlinhas(1,1)
```

```

.         derivadaS(i)=(DS1S(i)-DS1S(i-1))/(DS1E(i)-DS1E(i-1));
.     else
.         derivadaS(i)=1/2*((DS1S(i+1,1)-DS1S(i))/(DS1E(i+1,1)-DS1E(i))+(DS1S(i)-
DS1S(i-1))/(DS1E(i)-
DS1E(i-1)));
.     end
end

```

Suavização da derivada de S

```
dadosaux= [DS1E derivadaS];
```

```
[Derivadasuave] = smoothing (dadosaux, 200);
```

```
Derivadasuave=Derivadasuave(:,2);
```

Bloco que corta os dados no máximo dado das derivadas (ponto de inflexão)

```
imaior=1;
```

```
m linhas = size(DS1E);
```

```
DSmaior= Derivadasuave(1,1);
```

```
for i=2:m linhas(1,1)
```

```
.     if Derivadasuave(i,1) > DSmaior
```

```
.         DSmaior=Derivadasuave(i,1);
```

```
.         imaior=i;
```

```
.     end
```

```
end
```

```
DS1Sd = DS1S(1:imaior,1);
```

```
DS1Ed = DS1E(1:imaior,:);
```

Função Erro

Função que carrega os valores iniciais para as constantes das equações do modelo constitutivo de Fung. Cria uma variável objetivo (obj) que contém a equação do erro quadrático médio.

```
function [obj]=Erro(x0)
```

```
S1=load('S1d.dat');
```

```
S2=load('S2d.dat');
```

```
E1=load('E1d.dat');
```

```
E2=load('E2d.dat');
```

```
ndados=size(E2);
```

```
c=x0(1);
```

```
a1=x0(2);
```

```
a2=x0(3);
```

```
a3=x0(4);
```

BLOCO COM AS CONDIÇÕES DE CONTORNO. Já que vai ser estimado o mínimo valor da variável objetivo (obj), então se a1, a2 e c possuem valores negativos obriga-se à variável 'obj' a ter um valor muito elevado. O anterior restringe os valores negativos nas constantes.

```
if (a1 <0 || a2<0 || c<0)
```

```
.    obj=1e15;
```

```
.    return;
```

```
end
```

```
    aux1=a1*a2;
```

```
aux2=a32;
```

```
.
```

```
if (aux1<aux2)
```

```
.    obj=1e15;
```

```
.    return;
```

```
end
```

```
Q=zeros(ndados(1));
```

```
e1=zeros(ndados(1));
```

```
e2=zeros(ndados(1));
```

```

.
for i=1:ndados(1)
.   Q(i)=a1*E1(i)^2+a2*E2(i)^2+2*a3*E1(i)*E2(i);
.   e1(i)=S1(i) - c*exp(Q(i))*(a1*E1(i)+a3*E2(i));
.   e2(i)=S2(i) - c*exp(Q(i))*(a2*E2(i)+a3*E1(i));
end
aux=0;
for i=1:ndados(1)
.   aux= aux+ (e1(i))^2 + (e2(i))^2;
end
obj=aux;

```

A variável obj (objetivo) é a soma dos erros quadráticos médios para cada ponto de tensão-deformação da curva em cada eixo

```

end

```

Função Fung

Função que carrega as constantes estimadas para o modelo de Fung e as deformações E, para substituir esses dados nas equações da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff (eqs. 2.71). Assim, são estimados os valores de S_1 dados pelo modelo.

```

function F = Fung (x0, E)
nlinhas= size(E);
F = zeros(nlinhas(1,1),1);
.
for i=1:nlinhas(1,1)
.   F(i)= x0(1)*exp(x0(2)*E(i,1)^2+x0(3)*E(i,2)^2+2*x0(4)*E(i,1)*E(i,2))*(x0(2)*E(i,1)+
x0(4)*E(i,2)+x0(3)*E(i,2)+x0(4)*E(i,1));
end

```

end

Função Fung2

Função que carrega as constantes estimadas para o modelo de Fung e as deformações E, para substituir esses dados nas equações da Segunda Tensão de Piola-Kirchhoff (eqs. 2.72). Assim, são estimados os valores de S_2 dados pelo modelo.

```
function F = Fung2 (x0, E)
nlinhas= size(E);
F = zeros(nlinhas(1,1),1);
.
for i=1:nlinhas(1,1)
.   F(i)= x0(1)*exp(x0(2)*E(i,1)^2+x0(3)*E(i,2)^2+2*x0(4)*E(i,1)*E(i,2)) *(x0(2)*E(i,1)+
.   x0(4)*E(i,2));
end
end
```

Função Holzapfel

Função que carrega as constantes estimadas para o modelo de Holzapfel e as elongações lambda, para substituir esses dados nas equações da Tensão de Cauchy (eqs. 2.79). Assim, são estimados os valores de σ_1 dados pelo ajuste.

```
function H = Holzapfel (x0,lambda)
c=x0(1);
c11=x0(2);
c21=x0(3);
c12=x0(4);
c22=x0(5);
```

```

c134=x0(6);
c234=x0(7);
alpha=x0(8);
nlinhas= size(lambda);
lambda1=lambda(:,1);
lambda2=lambda(:,2);
H= zeros(nlinhas(1,1),1);
for i=1:nlinhas(1,1)
.   H(i)=(c*(lambda1(i)^2-(1/(lambda1(i)^2*lambda2(i)^2))))+(c11*(lambda1(i)^2-1)*exp(c21*
(lambda1(i)^2-1)^2)*lambda1(i)^2)+(2*c134*(lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2+lambda2(i)^2*(sin(alpha))^2-
1)*exp(c234*(lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2+lambda2(i)^2*(sin(alpha))^2-
1)^2)*lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2);
end
end

```

Função Holzapfel2

Função que carrega as constantes estimadas para o modelo de Holzapfel e as elongações λ , para substituir esses dados nas equações da Tensão de Cauchy (eqs. 2.80). Assim, são estimados os valores de σ_2 dados pelo ajuste.

```

function H = Holzapfel2 (y0,lambda)
nlinhas= size(lambda);
H= zeros(nlinhas(1,1),1);
for i=1:nlinhas(1,1)
.   H(i)=(y0(1)*(lambda(i,2)^2-(1/(lambda(i,1)^2*lambda(i,2)^2))))+(y0(4)*(lambda(i,2)^2-
1)*exp(y0(5)*(lambda(i,2)^2-1)^2)*lambda(i,2)^2)+(2*y0(6)*(lambda(i,1)^2*(cos(y0(8)))^2+
lambda(i,2)^2*(sin(y0(8)))^2-1)*exp(y0(7)*(lambda(i,1)^2*(cos(y0(8)))^2+lambda(i,2)^2*(sin(y0(8)))^2-
1)^2)*lambda(i,2)^2*(sin(y0(8)))^2);

```


end

end

Função Holzapfel_fit

Função carrega os valores iniciais para as constantes das equações do modelo constitutivo de Holzapfel. E cria uma variável objetivo (H) que contém a equação do erro quadrático médio.

```
function [H] = holzapfel_fit(x0)
sigma1=load('sigma_1_RE.dat');
sigma2=load('sigma_2_RE.dat');
lambda1=load('lambda_1_RE.dat');
lambda2=load('lambda_2_RE.dat');

ndadoslambda2=size(lambda2);
ndadoslambda1=size(lambda1);

if ndadoslambda2(1)<ndadoslambda1(1)
.   ndados=ndadoslambda2;
else .   ndados=ndadoslambda1;
end
c=x0(1);
c11=x0(2);
c21=x0(3);
c12=x0(4);
c22=x0(5);
c134=x0(6);
c234=x0(7);
alpha=x0(8);
```

```

h1=zeros(ndados(1));
h2=zeros(ndados(1));
for i=1:ndados(1)
.    h1(i)=(c*(lambda1(i)^2-(1/(lambda1(i)^2*lambda2(i)^2))))+(c11*(lambda1(i)^2-
1)*exp(c21*(lambda1(i)^2-1)^2)*lambda1(i)^2)+(2*c134*(lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2+lambda2(i)^2*
(sin(alpha))^2-1)*exp(c234*(lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2+lambda2(i)^2*(sin(alpha))^2)-
1)^2)*lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2) - sigma1(i);
.    h2(i)=(c*(lambda2(i)^2-(1/(lambda1(i)^2*lambda2(i)^2))))+(c12*(lambda2(i)^2-
1)*exp(c22*(lambda2(i)^2-1)^2)*lambda2(i)^2)+(2*c134*(lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2+lambda2(i)^2*
(sin(alpha))^2-1)*exp(c234*(lambda1(i)^2*(cos(alpha))^2+lambda2(i)^2*(sin(alpha))^2)-
1)^2)*lambda2(i)^2*(sin(alpha))^2) - sigma2(i);
end
H= [h1; h2];
end

```


APÊNDICE B - PROTOCOLO DE TESTE

ESCOPO

Este protocolo abrange a metodologia para a preparação das amostras e do teste de tração biaxial planar usado para caracterizar as propriedades e comportamento mecânico de tecidos biológicos moles. O protocolo aborda os materiais, operações e equipamentos utilizados. Esta metodologia é aplicável a todo tipo de tecido mole desde que possua as dimensões necessárias para elaboração das amostras. Para realizar o teste, requer-se de uma máquina de tração biaxial planar que aplique tensão simultânea em dois eixos perpendiculares. Propriedades como rigidez e energia de deformação são achadas mediante os dados de deslocamento e carga registrados pelo equipamento.

A informação detalhada do software que utiliza o equipamento para adquirir e processar os dados não faz parte do escopo deste protocolo.

DEFINIÇÕES E TERMINOLOGIA

Os seguintes termos são aplicáveis à metodologia de ensaio de tração biaxial e permitem o conhecimento prévio de alguns termos e definições que serão citados ao longo do texto.

Ensaio De Pré-condicionamento

6 ciclos de tração biaxial começando com 0.22 N de pré-carga até 10% do comprimento inicial da amostra. Velocidade do teste 4 mm/min (quase-estático).

Este é um ensaio feito para adaptar o tecido às novas condições de umidade e temperatura. Assim, como diminuir a histerese que pode ser apresentada pelo tecido.

Ensaio De Ruptura

1 ciclo tração biaxial até completar a ruptura do tecido. Velocidade do teste 4 mm/min (quase-estático).

Este ensaio é iniciado imediatamente depois do ensaio de pré-condicionamento. Procura determinar a resistência máxima do tecido.

Soro Fisiológico

A solução salina ou soro fisiológico é uma solução aquosa de substâncias compatíveis com os organismos vivos devido às suas características definidas de osmoticidade, pH e força iônica. Contem 0,9%, em massa de Na Cl em água destilada, ou seja, cada 100 ml da solução aquosa contém 0,9 gramas do sal. 100 ml de soro fisiológico contem 0,354 gramas de Na⁺ e 0,546 gramas de Cl⁻, com pH= 6,0.

Esta solução é utilizada simular as condições fisiológicas de temperatura e hidratação do tecido.

Energia de deformação

A energia de deformação é o aumento de energia interna acumulado no interior de um sólido deformável como resultado do trabalho realizado pelas forças que provocam a deformação. A energia de deformação é igual ao trabalho realizado por uma carga a qual é incrementada lentamente quando aplicada ao elemento.

Quando, um sólido é deformado aumenta sua energia interna, este aumento de energia

pode ocasionar mudanças termodinâmicas reversíveis e/ou mudanças termodinâmicas irreversíveis. Portanto, a energia de deformação admite a seguinte decomposição:

$$E_{def} = E_{rev} + E_{irrev} \quad (B.1)$$

Onde o primeiro somando é a energia investida em provocar só transformações reversíveis comumente chamada energia potencial elástica. O segundo somando representa a energia investida em diversos processos irreversíveis como: plastificar, fissurar ou romper, etc. o sólido.

A energia de deformação E_{def} ou energia potencial elástica para um sólido deformável vem dada pelo produto das componentes do tensor de tensão e do tensor de deformação. A densidade de energia de deformação é igual à área embaixo da curva tensão-deformação.

Espécime

Designa um exemplar de qualquer material ou ser vivo. Em biologia, um espécime designa individualmente um animal, planta ou microrganismo. Exemplos: Cada porco é um espécime. Cada artéria aorta completa é um espécime.

Amostra

É um conceito de estatística que significa um subconjunto de elementos pertencentes a uma população. Por exemplo, de uma artéria aorta podem sair várias amostras.

Temperatura Ambiente

Temperatura do laboratório. Nos dias de realização dos testes era de aproximadamente 20°C.

Célula de carga

Transdutor utilizado para converter uma força num sinal elétrico. Esta conversão é indireta e é realizada em duas etapas. Mediante um dispositivo mecânico, a força que deseja-se medir deforma um extensômetro. O extensômetro converte o deslocamento ou deformação em sinais elétricos. O sinal elétrico de saída é tipicamente da ordem de uns poucos milivolts e deve ser amplificada mediante um amplificador de instrumentação antes que possa ser utilizada. A saída do transdutor liga-se num algoritmo para calcular a força aplicada ao transdutor.

Tono ou tônus do tecido

O tônus refere-se ao estado normal de elasticidade e resistência de um órgão ou tecido e de sua aptidão para responder a um estímulo ordinário. O tônus é quem regula a atitude do corpo em algumas posições.

RESUMO DO MÉTODO DE TESTE

Para este tipo de teste mecânico é usada uma máquina de tração biaxial feita especialmente para ensaios em tecidos biológicos. São utilizadas 4 células de carga, um banho de soro fisiológico e sensores de posicionamento para gerar a tração no tecido, manter o tecido hidratado e determinar o deslocamento da amostra enquanto é aplicada uma carga, respectivamente. Os dados de deslocamento e carga são adquiridos e guardados via o software da máquina. Tecido arterial suíno foi escolhido para testar a metodologia de ensaio. Amostras de tecido arterial-aórtico de porco foram fabricadas em forma de cruz. Tais amostras foram presas num sistema de fixação conformado por diferentes peças feitas em aço inoxidável e alumínio. No teste, a amostra é segurada nos quatro extremos e colocada na máquina de tração biaxial, ao tempo que é submersa num banho de soro fisiológico a $\pm 37^{\circ}\text{C}$. Logo, são iniciados os ensaios de tração quase-estáticos de pré-condicionamento e ruptura. O registro fotográfico da amostra e do teste é feito antes, durante e depois do mesmo. Depois da ruptura, a amostra é retirada da máquina e colocada numa solução tamponada

de formaldeído 10% para realizar o processo de fixação na preparação histológica. Os valores de tensão-deformação e energia de deformação são calculados dos dados de deslocamento e carga registrados pelo dispositivo.

SELEÇÃO DA AMOSTRA

Com a finalidade de avaliar o procedimento proposto para o ensaio de tração biaxial devem ser coletadas amostras de tecido biológico mole. O tamanho da amostra deve ser o suficientemente grande para permitir a elaboração e fixação da amostra (2 lados de 20mm cada, aproximadamente).

O tecido deve estar limpo, sem outros elementos que interfiram no comportamento mecânico e na observabilidade do teste.

Informações tais como idade, peso, raça, número de espécimes e amostras, e identificação de cada amostra devem ser registradas para manter uma ordem e controle do teste.

CONSERVAÇÃO DO TECIDO

Depois do sacrifício do animal, quanto mais rápidos forem feitos os ensaios melhor

será representado o comportamento mecânico dos tecidos. No entanto, nem sempre é possível realizar estes ensaios imediatamente. A técnica escolhida para a conservação dos tecidos enuncia as considerações básicas para evitar a perda das propriedades mecânicas dos tecidos antes de serem testados.

A técnica de conservação descrita a seguir é simples e não requer de nenhum equipamento especial. Para este procedimento o mais importante é controlar a temperatura e a hidratação do tecido. No entanto, existem outras técnicas que prolongam a vida útil dos tecidos.

Temperatura

Depois do sacrifício

Depois do sacrifício e antes dos ensaios, os tecidos devem estar numa temperatura entre 2 e 6°C não por mais de 48 horas. Logo desse tempo, os mecanismos de degradação do tecido são ativados.

Transporte

O transporte do tecido, se necessário, pode ser feito em sacolas ou recipientes que mantenham a temperatura entre 4 e 6°C. O tecido não deve ficar em contato direto com superfícies conge-

ladas. Deste modo, o tecido pode ser levado do lugar da coleta até o laboratório de ensaios.

No laboratório

Enquanto não estejam sendo feito os experimentos o tecido deve permanecer em refrigeração. Esta é feita normalmente uma geladeira convencional com uma temperatura de 4°C.

Hidratação

Para manter o tônus do tecido depois da coleta é importante não modificar o ambiente fisiológico do tecido. O soro fisiológico é utilizado para evitar a desidratação e a perda de tônus no tecido. Esta solução deve ser utilizada fria e esterilizada. No caso da conservação de tecidos que possuam algum tipo de célula muscular é importante que a solução salina não possua íons de cálcio (Ca⁺), pois estes promovem a rigidez pós-morte do tecido alterando assim as suas propriedades mecânicas.

Depois do sacrifício

Depois do sacrifício recomenda-se retirar as artérias junto com seus órgãos mais próximos. Estes tecidos ao redor impedem uma rápida desidratação do tecido arterial, e com isto, o espécime pode permanecer sem adição de líquidos hidratantes por mais tempo. Depois de 12 horas nestas condições o tecido deve ser hidra-

tado com soro fisiológico.

Transporte

Depois de colocar o tecido num recipiente para o transporte, deve ser adicionada uma quantidade suficiente de soro fisiológico para manter a superfície do tecido úmida.

No laboratório

Para a refrigeração, o tecido coloca-se no refrigerador na mesma sacola ou recipiente em que foi transportado.

ELABORAÇÃO DAS AMOSTRAS

A elaboração pode ser feita em qualquer sala arejada. A mesa de trabalho deve estar limpa e com os instrumentos necessários de perto.

A uniformidade na espessura do tecido e a simetria no formato da amostra são muito importantes para que o ensaio reproduza o comportamento mecânico real do tecido.

Medidas de segurança

Os seguintes são alguns cuidados básicos para elaborar as amostras com segurança.

- Usar luvas para evitar o contato da pele

com fluidos e tecidos biológicos.

- Em caso de desconforto com o cheiro do tecido é recomendável utilizar uma máscara para tapar o nariz e a boca.
- Recomenda-se ter à mão uma lixeira para resíduos biológicos e outra para resíduos ordinários.

Procedimento para a elaboração da amostra

Os etapas para a elaboração das amostras são os seguintes

- Retirar o tecido da refrigeração e colocar em temperatura ambiente.
- Limpar as artérias. Remover o tecido conectivo e outros órgãos até ficar visivelmente mais clara e lisa.

Figura 69: Limpeza do tecido

- Cortar cilindros de aproximadamente 3 cm de comprimento. Cortar um anel de cada cilindro para a posterior análise his-

tológica. Colocar o tecido restante em soro fisiológico.

(a)

(b)

(c)

Figura 70: (a)Amostra cilíndrica, (b)Anel de tecido colocado num cassete histológico e, (c)Tecido colocado em soro fisiológico.

- Cortar o cilindro pelo lado com a espessura menos uniforme.
- Colocar o retângulo de tecido obtido

Figura 71: Retângulo Amostra

numa superfície firme. Posicionar o molde sobre a porção de tecido mais uniforme em espessura. O molde deve ser posicionado, para permitir que um eixo da amostra fique orientado no sentido do fluxo sanguíneo.

- Com o martelo, bater firmemente no molde para conformar a amostra.

Figura 72: Amostra em forma de cruz com tecido colado ao redor

- Tirar o excesso de tecido com o bisturi.

Cada extremidade da cruz possui uma largura de 5 mm. Depois da fixação cada amostra cada eixo possui um comprimento

Figura 73: Excesso de tecido na amostra

Figura 74: Formato final da amostra

diferente. A figura 74 mostra o formato e as dimensões do tipo de amostra utilizada nos testes.

Critério de exclusão da amostra

Amostras com qualquer tipo de corte nas superfícies e/ou nas laterais não devem ser consideradas para os testes. Este tipo de defeito na amostra pode gerar concentradores de tensão e não refletir a verdadeira resistência do tecido.

Medição da espessura

Com paquímetro

Colocar a amostra entre duas lâminas de vidro.

Com um paquímetro digital medir em vários lugares a espessura de cada amostra (mínimo 5 medições). Fazer a média dessas medições.

Figura 75: Medição da espessura

Via software

Fotografias em alta definição e softwares para processamento de imagens permitem determinar a espessura da amostra. A fotografia deve ter um objeto que sirva como medida de referência (exm. Régua).

EQUIPAMENTO - Máquina de tração biaxial

As peças do equipamento estão posicionadas numa mesa feita em aço inoxidável com dimensões de 800x800 mm. A alimentação elétrica do sistema é monofásica de 230V e 50Hz.

Características do sistema

O sistema está destinado para realizar ensaios mecânicos de tração ou compressão

em tecidos biológicos moles ou elastômeros. Os ensaios podem ser uni ou biaxiais. Dependendo da velocidade aplicada no teste, o equipamento permite realizar ensaios estáticos ou dinâmicos. Possui uma velocidade de deformação de 7 mm/s. No ensaio podem ser aplicadas forças de até $\pm 50\text{N}$ com uma precisão de $\pm 0.1\text{N}$. O sistema conta com uma elevada precisão de posicionamento com incrementos de $\pm 0.02\mu\text{m}$. O curso do ensaio vai até 100 mm.

Resumidamente o equipamento possui as seguintes características

- Sistema de ensaio uniaxial ou biaxial
- Sistema de ensaio dinâmico ou estático
- Força de ensaio até $\pm 50\text{N}$ [$\pm 0.1\text{N}$]
- Velocidade de deformação de até 7mm/s
- Tina para ensaios em solução aquosa salina com temperatura controlada
- Precisão de posicionamento com incrementos de $\pm 0.02\mu\text{m}$
- Curso de ensaio até 100 mm

Hardware

Porta amostras

Cada um dos servo-motores que geram o deslocamento possui no extremo uma peça de alumínio na qual se une a peça fixação na amostra. A imagem 76 mostra as peças descritas anteriormente.

Figura 76: Peças de união da amostra ao equipamento

Banho

O sistema para prender as amostras encontra-se dentro de uma caixa feita em alumínio. Esta caixa é usada como banho para submergir as amostras de tecido em soro fisiológico (ou outros tipos de soluções aquosas). Esta possui no interior um sensor de temperatura para controlar a temperatura do banho. A figura 77 mostra a caixa. Esta possui dimensões de 15x15 cm.

Controlador de temperatura do banho

Um sistema de resistências e sensores de temperatura permitem elevar a temperatura do banho até a temperatura programada e mantê-la

Figura 77: Caixa de alumínio que serve como banho para submergir tecidos biológicos

estável. A precisão do sistema é de $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$

Transdutores

O equipamento está constituído por 2 eixos lineares, um perpendicular ao outro formando uma cruz. Os movimentos de tração ou compressão são feitos por 4 micro-servomotores DC, cada um com um curso de 50 mm e uma velocidade máxima de 3.5 mm/s. A posição de cada motor na mesa é ajustável para conseguir testar amostras de diferentes dimensões. A leitura das forças axiais aplicadas é feita através de 2 células de carga de tração/compressão, cada uma de 50N. A comunicação entre o sistema de aquisição de dados e o computador de comando é feita por uma porta série RS-232. Este último sistema não é o mais atual no mercado, mas para este tipo de comunicação existem inúmeros protocolos que podem ser utilizados no caso de querer modificar alguma parte do software e/ou hardware do sistema.

Software

O software do equipamento permite um controle automático da força ou do deslocamento, num eixo ou nos dois simultaneamente. Cada motor possui um comando manual individual, mas também pode ser feito o controle por eixos. O tipo de ensaio pode ser programado para realizar tração ou compressão. Além disso, podem ser definidas as trajetórias de solicitação, as quais podem ser constantes, em rampa ou dentes de serra. O software possui várias funções que permitem criar diferentes programas ou rotinas de ensaio a serem realizados pelo equipamento, se for desejado, um atrás do outro.

Limitações do equipamento

Para contar com uma elevada precisão de posicionamento no sistema, foi limitada a velocidade de aplicação das cargas. Assim, com este equipamento é difícil medir o comportamento mecânico dinâmico de tecidos tais como tendões, os quais são tracionados naturalmente (dentro do corpo) com velocidades superiores às que podiam ser aplicadas pelo equipamento.

O controle de temperatura permite aumentar a temperatura do líquido a partir da temperatura ambiente e a mantinha estável, mas não permite diminuir a temperatura do mesmo. Sendo necessários para a diminuição da temperatura o uso de acessórios externos. O controle de temperatura nesse caso servia como termômetro.

Projetistas

O sistema de ensaio biaxial para caracterização de elastômeros e tecidos moles controlado por computador foi desenvolvido pelo Núcleo de Automação Industrial (NAI) do Instituto de Engenharia Mecânica-Pólo FEUP (IDMEC-FEUP) da Universidade do Porto, Portugal. O equipamento encontra-se no laboratório de Biomecânica da Universidade do Porto, Portugal.

FERRAMENTAS

Esta seção descreve o tipo de ferramentas e instrumentos necessários para o desenvolvimento dos ensaios. Nas diferentes fases foram utilizadas as seguintes ferramentas

Elaboração das amostras

Molde

Peça em forma de pá feita de PMMA (poli-metil metacrilato) com uma cruz feita de aço afiado no extremo. As dimensões da cruz são de 3x3 cm e cada extremo têm largura de 5mm.

Figura 78: Molde para a elaboração das peças

Martelo

Usado para bater no molde e assim conformar a amostra.

Bisturi

Usado para limpar o tecido, separar os segmentos de vaso e tirar o excesso tecido uma vez feita a amostra.

Lâminas de vidro

Usadas para medir a espessura da amostra em duas delas. Cada lâmina possui uma espessura de 0.90 ± 0.01 mm.

Paquímetro

Instrumento usado para medir a distância entre dois lados simetricamente opostos em um objeto. Serve para medir a espessura das amos-

tras.

Fixação da amostra

Suporte principal

Peça feita de aço e desenhada especialmente para esta aplicação. Este componente permite alinhar as peças de fixação para conseguir segurar a amostra o mais simetricamente possível.

Figura 79: Suporte principal

Cunhas poliméricas

4 peças de polietileno usadas para preencher os espaços que ficam no suporte principal depois de colocar as peças de fixação 1. Estas permitem o correto alinhamento da amostra.

Peças de fixação 1

Peça fabricada em alumínio a qual junto à peça de fixação 2 seguram os extremos da amostra.

Peças de fixação 2

Peça fabricada em alumínio a qual junto à peça de fixação 1 seguram os extremos da amostra.

Cunhas

Pequenas peças de borracha colocadas entre as duas peças de fixação para evitar o empenamento da amostra. Devem ter uma espessura um pouco maior que a amostra.

Parafusos e porcas

Utilizadas para unir as peças de fixação. As porcas 1 são usadas no sistema de fixação da amostra e as porcas 2 são usadas para segurar a amostra no equipamento.

Ensaio Mecânico

Máquina de ensaios de tração biaxial

Descrita na subseção 'Descrição do Equipamento - Máquina de tração biaxial'.

Câmera fotográfica com função de vídeo de alta resolução

Utilizada para documentar em imagem e vídeo com alta definição os procedimentos realizados no ensaio.

PROCEDIMENTO

Obtenção da amostra

Pode ser obtida uma amostra de qualidade seguindo o procedimento enunciado na seção **Elaboração das amostras.**

Fixação da amostra

Para realizar o ensaio mecânico a amostra deve estar simetricamente fixada e corretamente posicionada no equipamento para conseguir uma tração uniforme. As seguintes são o conjunto de etapas para realizar este procedimento.

- No suporte principal são colocadas as porcas 1, as peças de fixação 1 e as cunhas poliméricas nos extremos e no centro.

Figura 80: Peças no suporte

- A peça de tecido é colocada por cima da cunha central. É importante que a peça de tecido fique o mais centrada possível.
- Para evitar o empenamento da amostra, entre as peças de fixação deve-se colocar uma pequena cunha feita de borra-

Figura 81: Colocação da amostra no suporte

cha no extremo da peça de fixação 1. Recomenda-se que a cunha tenha uma espessura um pouco maior que a espessura da amostra e que também seja feita de um material elastomérico.

- Colocar as peças de fixação 2 por cima das extremidades da amostra.
- Introduzir os parafusos de fixação entre as peças de fixação 2 e 1. As extremidades da amostras devem ficar o mais simetricamente possível. Cada extremidade da amostra deve ficar aproximadamente à mesma distância do centro. Parafusar completamente. A força aplicada para apertar o parafuso depende da sensibilidade e experiência do técnico.
- Fotografar a amostra fixada. Esta fotografia ajudará a determinar as dimensões finais da amostra. Importante colocar uma régua que sirva como escala de referência na fotografia.

Figura 82: Amostra no suporte

Figura 83: Amostra no suporte

Preparação do equipamento

- A temperatura do banho de soro fisiológico deve estabilizar em 37°C. Figura 84.

Figura 84: Equipamento mostrando a temperatura desejada controlada

- A amostra é retirada do suporte principal para ser colocada na máquina de ensaios.

- Os 4 motores são posicionados para conseguir colocar a amostra nos parafusos de fixação do equipamento.
- As porcas 2 são colocadas para evitar que a mostra se mexa durante o teste de tração biaxial.
- A câmera é calibrada para registrar o vídeo do teste.
- Apertar o botão 'Iniciar Ensaio'.
- Depois da ruptura da mostra o ensaio deve ser terminado. Não é necessário esperar o deslocamento total dos motores.
- Retirar a amostra já testada do equipamento.
- As peças de fixação são retiradas da amostra testada. Esta é posteriormente colocada no cassete histológico (com o correspondente anel de tecido sem testar) numa solução tamponada de de formaldeído 10%.

Teste

- No computador da máquina de ensaios abrir o programa para realizar o ensaio de tração biaxial.
- Aplicar uma pré-carga de 0.22N para manter a amostra em posição horizontal.
- Escolher o ensaio que será feito. Os diferentes ensaios podem ser programados previamente, e guardados para uma posterior utilização.
- Escolher a máxima frequência de aquisição de dados (100Hz).
- Adicionar os ensaios a serem feitos (por exemplo o ensaio de pré-condicionament e ruptura).
- Registrar em vídeo o ensaio.

DADOS

Formato

Os dados experimentais são registrados em arquivos com extensão .csv (comma-separated values) que podem ser abertos e/ou criados por programas de planilha eletrônico com o Microsoft Excel ou por um editor de texto.

Descrição do arquivo

Nas colunas do ficheiro de dados encontram-se a seguinte informação

- Tempo Tempo de registro do ponto experimental;
- Posição M1 (mm), Posição M2 (mm), Posição M3 (mm), Posição M4 (mm)
Posição dos 4 servo-motores;
- C.Carga_Eixo_1 (N), C.Carga_Eixo_2 (N) Carga medida em cada eixo;
- Temp_Banho (°C) Temperatura do banho térmico em graus Celsius;
- Nome (Unidade): (———);
- Número Ensaio N°do ensaio no script, 1 para pré-condicionamento e 2 para ruptura;
- Número Ciclo Eixo 1, Número Ciclo Eixo 2 No caso de existirem ensaios cíclicos (exm. No pré-condicionamento).

**APÊNDICE C - TABELA INTERVALO DE
CONFIANÇA DOS
PARÂMETROS DO MODELO
DE HOLZAPFEL**

Artéria/Amostra	Intervalo de Confiança das Constantes do modelo									
	c	c ₁ ¹	c ₁ ²	c ₁ ³	c ₁ ⁴	c ₂ ²	c ₁ ^{3,4}	c ₂ ^{3,4}	α	
Aortas Abdominais	7.62e-05 - 9.411e-03	5.24e-01 - 6.02e-01	1.13e-02 - 3.99e-02	4.75e-02 - 7.16e-02	1.79e-02 - 3.01e-02	1.79e-02 - 3.01e-02	2.49e-01 - 2.71e-01	3.02e-02 - 5.87e-02	8.67e+00 - 9.77e+00	
	1.98e-05 - 1.59e-02	1.94e-04 - 1.08e-02	3.07e-04 - 4.76e-02	1.68e-04 - 2.50e-02	7.99e-05 - 1.48e-02	7.99e-05 - 1.48e-02	1.17e-04 - 2.59e-02	1.47e-04 - 1.49e-04	1.72e-02 - 4.12e-01	
	9.79e-05 - 9.82e-05	2.48e-01 - 2.95e-01	1.47e-02 - 7.49e-02	1.40e-01 - 1.71e-01	5.67e-03 - 7.28e-02	5.67e-03 - 7.28e-02	7.77e-02 - 9.28e-02	2.99e-02 - 9.51e-02	1.17e+01 - 1.31e+01	
	5.29e-05 - 5.29e-05	2.36e-01 - 2.70e-01	4.03e-03 - 2.81e-02	8.29e-02 - 1.04e-01	9.83e-03 - 2.86e-02	9.83e-03 - 2.86e-02	8.72e-02 - 1.036e-01	1.12e-02 - 3.42e-02	8.77e+00 - 1.02e+01	
	1.18e-04 - 1.18e-04	1.16e+00 - 1.24e+00	6.05e-02 - 1.52e-01	3.88e-01 - 4.33e-01	7.025e-02 - 1.38e-01	7.025e-02 - 1.38e-01	3.87e-01 - 3.93e-01	6.22e-01 - 7.052e-01	1.12e+02 - 1.13e+02	
	8.50e-05 - 1.03e-04	4.14e-01 - 4.80e-01	9.72e-03 - 8.32e-02	9.75e-03 - 2.82e-02	2.44e-02 - 2.57e-02	2.44e-02 - 2.57e-02	2.06e-01 - 2.19e-01	3.31e-02 - 1.07e-01	1.16e+01 - 1.28e+01	
	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	
	3.26e-05 - 3.41e-05	1.49e-01 - 1.69e-01	1.67e-02 - 4.93e-02	1.08e-01 - 1.27e-01	1.99e-02 - 4.55e-02	1.99e-02 - 4.55e-02	3.22e-02 - 5.28e-02	1.78e-02 - 5.00e-02	6.04e+00 - 7.53e+00	
	9.40e-05 - 9.40e-05	4.05e-02 - 6.99e-02	1.46e-02 - 7.06e-02	3.97e-01 - 4.69e-01	7.22e-03 - 8.49e-02	7.22e-03 - 8.49e-02	1.81e-01 - 1.88e-01	7.641e-02 - 1.51e-01	2.47e+01 - 2.66e+01	
	7.68e-05 - 7.68e-05	4.77e-01 - 5.21e-01	5.55e-02 - 1.18e-01	1.50e-01 - 1.79e-01	5.45e-02 - 9.77e-02	5.45e-02 - 9.77e-02	1.76e-01 - 1.79e-01	4.95e-01 - 5.57e-01	7.00e+01 - 7.13e+01	
	2.68e-05 - 2.12e-03	1.05e-02 - 4.30e-02	4.88e-03 - 7.69e-03	9.60e-02 - 1.31e-01	5.99e-03 - 3.55e-02	5.99e-03 - 3.55e-02	4.68e-02 - 5.82e-02	1.51e-02 - 4.42e-02	3.36e+00 - 5.23e+00	
	8.07e-05 - 8.81e-05	3.07e-01 - 3.31e-01	3.19e-02 - 6.40e-02	3.95e-02 - 4.35e-02	8.90e-02 - 1.05e-01	8.90e-02 - 1.05e-01	1.35e-01 - 1.59e-01	2.14e-02 - 5.36e-02	5.162e+00 - 6.24e+00	
Aortas Torácicas	1.99e-05 - 3.08e-05	1.37e-04 - 2.41e-02	6.11e-05 - 1.39e-02	1.23e-07 - 7.89e-06	4.63e-04 - 2.08e-01	4.63e-04 - 2.08e-01	7.41e-05 - 2.00e-02	1.70e-05 - 2.79e-04	4.95e-03 - 1.90e+00	
	1.94e-05 - 9.00e-05	2.90e-03 - 2.15e-02	1.35e-03 - 2.33e-03	2.55e-02 - 3.32e-02	1.95e-03 - 1.74e-02	1.95e-03 - 1.74e-02	1.29e-02 - 2.10e-02	2.01e-03 - 1.74e-02	1.73e+00 - 3.21e+00	
	4.59e-05 - 4.60e-05	3.72e-02 - 6.49e-02	2.82e-03 - 1.49e-02	6.80e-02 - 8.93e-02	1.55e-03 - 1.87e-02	1.55e-03 - 1.87e-02	1.87e-02 - 2.21e-02	1.79e-02 - 3.39e-02	1.63e+01 - 1.77e+01	
	1.62e-05 - 1.03e-02	6.28e-04 - 2.74e-02	4.60e-04 - 4.60e-04	9.39e-04 - 1.42e-02	5.77e-04 - 1.64e-02	5.77e-04 - 1.64e-02	7.89e-04 - 5.05e-03	1.50e-03 - 3.07e-02	6.55e-02 - 1.48e+00	
	6.73e-05 - 6.73e-05	2.64e-01 - 3.03e-01	1.01e-02 - 2.20e-02	1.39e-01 - 1.56e-01	2.31e-02 - 2.98e-02	2.31e-02 - 2.98e-02	9.97e-02 - 1.16e-01	2.28e-02 - 3.49e-02	1.16e+01 - 1.31e+01	
	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	
	2.49e-05 - 2.61e-03	1.08e-01 - 1.44e-01	3.52e-02 - 6.39e-02	4.63e-02 - 7.65e-02	2.52e-02 - 7.557e-02	2.52e-02 - 7.557e-02	4.72e-02 - 4.81e-02	1.04e+00 - 1.09e+00	6.93e+01 - 7.06e+01	
	4.58e-05 - 1.48e-02	3.06e-01 - 3.35e-01	7.56e-02 - 7.56e-02	3.22e-01 - 3.49e-01	7.77e-02 - 9.16e-02	7.77e-02 - 9.16e-02	8.49e-02 - 8.82e-02	6.96e-01 - 6.96e-01	9.22e+01 - 9.38e+01	
	6.25e-05 - 6.32e-05	7.64e-01 - 7.79e-01	1.24e-02 - 2.16e-02	3.24e-01 - 3.33e-01	2.64e-02 - 3.71e-02	2.64e-02 - 3.71e-02	2.31e-01 - 2.48e-01	1.44e-02 - 2.37e-02	2.98e+01 - 3.11e+01	
	4.48e-05 - 5.38e-05	3.32e-02 - 9.16e-02	2.53e-03 - 1.91e-02	2.83e-02 - 6.31e-02	1.25e-03 - 2.94e-02	1.25e-03 - 2.94e-02	6.12e-03 - 9.65e-03	2.84e-02 - 5.24e-02	8.54e+00 - 1.01e+01	
	2.69e-05 - 1.65e-02	1.37e-03 - 3.72e-02	2.03e-03 - 2.47e-03	4.75e-03 - 2.56e-02	1.65e-03 - 8.72e-02	1.65e-03 - 8.72e-02	2.52e-03 - 1.17e-02	2.73e-03 - 8.07e-02	6.11e-01 - 1.41e+00	
Subclávias Esquerdas	1.16e-05 - 1.16e-05	1.47e-02 - 1.13e-01	3.41e-03 - 2.74e-02	1.50e-01 - 2.43e-01	6.85e-03 - 6.85e-03	6.85e-03 - 6.85e-03	6.76e-02 - 7.87e-02	1.35e-02 - 1.35e-02	4.96e+00 - 7.08e+00	
	2.82e-05 - 3.26e-05	2.30e-01 - 2.63e-01	2.47e-02 - 3.96e-02	1.01e-01 - 1.21e-01	1.18e-02 - 3.95e-02	1.18e-02 - 3.95e-02	6.87e-02 - 8.63e-02	3.24e-02 - 5.40e-02	8.59e+00 - 9.80e+00	
	2.67e-05 - 2.62e-02	1.05e-02 - 6.20e-02	9.32e-04 - 1.09e-02	9.53e-02 - 1.36e-01	1.40e-03 - 1.40e-03	1.40e-03 - 1.40e-03	4.37e-02 - 4.89e-02	1.37e-02 - 1.44e-02	7.71e+00 - 9.60e+00	
	2.82e-05 - 4.29e-02	5.05e-05 - 2.23e-03	3.12e-04 - 4.44e-02	3.01e-04 - 1.44e-02	1.29e-04 - 7.40e-03	1.29e-04 - 7.40e-03	1.53e-04 - 1.96e-02	6.44e-05 - 6.48e-05	3.35e-02 - 5.00e-01	
	2.50e-05 - 2.25e-02	6.72e-01 - 7.03e-01	7.67e-02 - 7.67e-02	4.23e-01 - 4.42e-01	9.41e-02 - 1.03e-01	9.41e-02 - 1.03e-01	1.33e-01 - 1.52e-01	1.15e-01 - 1.15e-01	2.85e+01 - 2.99e+01	
	7.91e-06 - 5.29e-03	2.34e-02 - 4.43e-02	3.44e-04 - 1.16e-02	3.73e-04 - 7.48e-03	3.78e-04 - 3.78e-04	3.78e-04 - 3.78e-04	1.18e-02 - 1.77e-02	5.70e-04 - 1.23e-02	1.18e+00 - 2.29e+00	
	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	
	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	NaN - NaN	

Tabela 11: Intervalo de Confiança das Constantes do modelo bicamada tipo Holzapfel

REFERÊNCIAS

- 1 <http://www.brasil.gov.br/sobre/saude/saude-do-homem/doencas-cardiovasculares>, acessado em 20/05/2012.
- 2 Cebal JR, Castro MA, Burgess JE, Pergolizzi RS, Sheridan MJ, Putman CM. Characterization of cerebral aneurysms for assessing risk of rupture by using patient-specific computational hemodynamics models. *Am. J. Neuroradiol.* 26:2550–2559, 2005.
- 3 Lasheras, J. C. The Biomechanics of Arterial Aneurysms. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 39:293-319, 2007.
- 4 <http://aneurismas-aneurisma.blogspot.com/2008/03/definio.html>, acessado em 20/01/2012.
- 5 Sommer G, Regitnig P, Költringer L, Holzapfel GA. Biaxial mechanical properties of intact and layer-dissected human carotid arteries at physiological and supra-physiological loadings. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 298:898-912, 2010.
- 6 Schulze-Bauer C., Regitnig, P., Holzapfel, G. a. Mechanics of the human femoral adventitia including the high-pressure response. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 282:2427-2440, 2002.
- 7 A. García, E. Peña, A. Laborda, F. Lostalé, M.A. De Gregorio, M. Doblaré, M.A. Martínez. Experimental study and constitutive modelling of the passive mechanical properties of the porcine carotid artery and its relation to histological analysis: Implications in animal cardiovascular device trials. *Medical Engineering & Physics* 33:665–676, 2011.
- 8 Dobrin PB, Canfield TR. Elastase, collagenase, and the biaxial elastic properties of dog carotid artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 247:124–131, 1984.
- 9 Cox, R. H. Anisotropic properties of the canine carotid artery in vitro. *Journal of biomechanics*, 8(5):293–300, 1975.
- 10 Slifka J., Drexler E. S., Wright J. E., & Shandas R. Bubble-test method for synthetic and bovine vascular material. *Journal of biomechanics*, 39:1939–1942, 2006.
- 11 Bia D., Armentano R. L., Barmak W., Migliaro E., & Fischer E. I. C. In- vitro model to study arterial wall dynamics through pressure-diameter relationship analysis. *Latin American Applied Research*, 35:217-224, 2005.
- 12 Wolf W. Von Maltzahn and Rema G. Warriyar. Experimental measurements of elastic properties of media and adventitia of bovine carotid arteries. *J. Biomechanics* 17:839-847, 1984.
- 13 Pandit A., Lu X., Wang C., & Kassab G. S. Biaxial elastic material properties of porcine coronary media and adventitia. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 288:2581–2587, 2005.
- 14 Holzapfel, G. a., & Ogden, R. W. Constitutive modelling of arteries. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 466(2118):1551–1597, 2010.
- 15 Humphrey, J. D. Review Paper: Continuum biomechanics of soft biological tissues. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 459(2029):3–46, 2003.
- 16 Surg V. E. Static Elastic Wall Properties of the Abdominal Porcine Aorta. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 13:31-36, 1997.

- 17 Sokolis D. P., Boudoulas H., Karayannacos P. E. Assessment of the aortic stress-strain relation in uniaxial tension. *Journal of Biomechanics*. 35(9):1213-1223, 2002.
- 18 G. A. Holzapfel and R. W. Ogden. Constitutive modelling of arteries. *Proc. R. Soc. A*. 466:1551-1597, 2010.
- 19 Gerard A. Holzapfel, Ray W. Ogden. On planar biaxial tests for anisotropic nonlinearly elastic solids. A continuum mechanical framework. *Mathematics and Mechanics of Solids* 14:474–489, 2009.
- 20 G. A. Holzapfel and T. C. Gasser. A New Constitutive Framework for Arterial Wall Mechanics and a Comparative Study of Material Models. *Journal of elasticity*. 61: 1-48. 2000.
- 21 Young B., Lowe J. S., Stevens A. Wheater: *Histologia Funcional: Texto e Atlas em Cores*. Editora Elsevier. 2007.
- 22 Junqueira, L.C. & Carneiro, J. *Histologia Básica*. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- 23 <http://aparatocirculatorio.blogspot.es/> Acessado em 1 de junho de 2013.
- 24 Gundiah N., Ratcliffe M., Pruitt L. Determination of strain energy function for arterial elastin: Experiments using histology and mechanical tests. *Journal of Biomechanics*. 40(3):586-594, 2007.
- 25 Clark, J.M., Glagov, S. Transmural organization of the arterial media: the lamellar unit revisited. *Arteriosclerosis* 5:19–34, 1985.
- 26 Bussow, H. Zar wandstruktur der groten arterien der vogel. *Z. Zellforsch.* 142 :263–288, 1973.
- 27 Phillip B. Mechanical properties of arteries. *Physiological Reviews* Vol 58: 397-460. 1978.
- 28 M.A. Lillie , J.M. Gosline. Mechanical properties of elastin along the thoracic aorta in the pig. *Journal of Biomechanics* 40, 2214–2221. 2007.
- 29 Gosline, J.. Hydrophobic interaction and a model for the elasticity of elastin. *Biopolymers* 17, 677–695. 1978.
- 30 J. D. Humphrey [2001c]. *Cardiovascular Solid Mechanics. Cells, Tissues, and Organs*. Springer.
- 31 Cox RH. Regional variation of series elasticity in canine arterial smooth muscles. *American Journal of Physiology*. 234:542-551, 1978.
- 32 Holzapfel G. A. & Ogden R. W. *Biomechanical Modelling at the Molecular, Cellular and Tissue Levels*. Springer, New York, 2009.
- 33 Schulze-Bauer, G. Holzapfel. Determination of constitutive equations for human arteries from clinical data. *Journal of Biomechanics* 36:165–169, 2003.
- 34 Rodríguez, J. M. Goicolea, F. Gabaldón. A volumetric model for growth of arterial walls with arbitrary geometry and loads. *Journal of Biomechanics* 40:961–971, 2007.
- 35 Guinea GV, Atienza JM, Elices M, Aragoncillo P, Hayashi K. Thermomechanical behavior of human carotid arteries in the passive state. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 288:2940–2945. 2005.
- 36 Dobrin PB, Canfield TR. Elastase, collagenase, and the biaxial elastic properties of dog carotid artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 247:124–131. 1984.
- 37 Namrata Gundiah , Mark B. Ratcliffe , Lisa A. Pruitt. The biomechanics of arterial elastin. *journal oh the mechanical behavior of biomedical materials*. 2:288–296, 2009.
- 38 http://pt.wikipedia.org/wiki/Tecido_mole, acessado em 20 de maio de 2013.

- 39 Pedro Alexandre Lopes de Sousa Martins. Experimental and numerical studies of soft biological tissues. Tese submetida à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Mecânica. Maio 2010.
- 40 Fung, Y. C. Biomechanics. Mechanical Properties of Living Tissues, Springer, New York, 2nd edition, 1993.
- 41 T. E. Carew, R. N. Vaishnav, D. J. Patel. Compressibility of the Arterial Wall. *Circulation Research*. 23:61-68, 1968.
- 42 R. Erbel, H. Eggebrecht. Aortic dimensions and the risk of dissection. *Heart* 92:137–142, 2006.
- 43 M. A. Ergin, D. Spielvogel, A. Apaydin, S. L. Lansman, J.N. Mc-Cullough, J. D. Galla y R. B. Griepp. Surgical treatment of the dilated ascending aorta: when and how? *The Annals Of Thoracic Surgery* 67:1834–1839, 1999.
- 44 Chang M. He and Margot R. Roach. The composition and mechanical properties of abdominal aortic aneurysms. *Journal of Vascular Surgery* 20:6–13, 1994.
- 45 Y.C. Fung, K. Fronek and P. Patitucci, Pseudoelasticity of arteries and the choice of its mathematical expression. *Am. J. Physiol.* 237:620–631, 1979.
- 46 Ali N. Azadani, Sam Chitsaz, Peter B. Matthews, Nicolas Jaussaud, James Leung, Tonia Tsinman, Liang Ge, and Elaine E. Tseng. Comparison of Mechanical Properties of Human Ascending Aorta and Aortic Sinuses. *Ann Thorac Surg* 93:87–94, 2012.
- 47 Callister W. Fundamentals of materials science and engineering. Wiley, New York. 2001.
- 48 P.A.L.S. Martins, A.L. Silva Filho, A. Moura Rodrigues Maciel Fonseca, A. Santos, L. Santos, T. Mascarenhas, R.M. Natal Jorge, A.J.M. Ferreira. Uniaxial mechanical behavior of the human female bladder. *Int Urogynecol J* 22:991-995, 2011.
- 49 Claudio García Herrera. Comportamiento Mecánico de la Aorta Ascendente: Caracterización Experimental y Simulación Numérica. Tesis Doctoral. Madrid, Julio 2008.
- 50 Aisling Ní Annaidh, Karine Bruyère, Michel Destrade, Michael D. Gilchrist, Mélanie Otténio. Characterization of the anisotropic mechanical properties of excised human skin. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 5:139-148, 2012.
- 51 V.L.A. Trindade, P.A.L.S. Martins, S. Santos, M.P.L. Parente, R.M. Natal Jorge, A. Santos, L. Santos, J.M. Fernandez. Experimental study of the influence os senescence in the biomachanical properties of temporal tendon and deep fascia based on uniaxial tension tests. *Journal of Biomechanics* 45:199-201, 2012.
- 52 D. P. Sokolisa, H. Boudoulasb, P. E. Karayannacos. Assessment of the aortic stress–strain relation in uniaxial tension. *Journal of Biomechanics* 35:1213–1223, 2002.
- 53 Frederick H. Silver, Patrick B. Snowhill and David J. Foran. Mechanical Behavior of Vessel Wall: A Comparative Study of Aorta, Vena Cava, and Carotid Artery. *Annals of Biomedical Engineering*, 31:793–803, 2003.
- 54 C. García Herrera, G.V.Guinea1, J.M. Goicolea, J.M.Atienza, F.J.Rojo, E.Claes, M.Elices, R.J. Burgos, F.J. Goicolea, A. García Touchard, C. García Montero. Análisis del comportamiento mecánico y la rotura de la pared de la aorta humana. *Anales de la mecánica de la fractura* 1:333-338. 2007.
- 55 P.A.L.S. Martins, R.M. Natal Jorge, A.J.M. Ferreira. A comparative study of several material models for prediction of hyperelastic properties: Application to silicone-rubber and soft tissues. *Strain* 42:135-147, 2006.

- 56 Y. Lanir and Y. C. Fung. Two-dimensional mechanical properties of rabbit skin-Experimental system. *J. Biomechanics* 7:29-34, 1974.
- 57 Ali N. Azadani Sam Chitsaz, Alex Mannion, Aart Mookhoek, Andrew Wisneski, Julius M. Guccione, Michael D. Hope, Liang Ge and Elaine E. Tseng. Biomechanical Properties of Human Ascending Thoracic Aortic Aneurysms. *Ann Thorac Surg* 96:50–88, 2013.
- 58 Michael S. Sacks. Biaxial Mechanical Evaluation of Planar Biological Materials. *Journal of Elasticity* 61:199–246, 2000.
- 59 Jonathan P. Vande Geest, Michael S. Sacks, David A. Vorp. The effects of aneurysm on the biaxial mechanical behavior of human abdominal aorta. *Journal of Biomechanics* 39:1324–1334, 2006.
- 60 T. Christian Gasser, Sara Gallinetti, Xiao Xing, Caroline Forsell, Jesper Swedenborg, Joy Roy. Spatial orientation of collagen fibers in the abdominal aortic aneurysm's wall and its relation to wall mechanics. *Acta Biomaterialia* 8:3091–3103, 2012.
- 61 Joseph T. Keyes, Danielle R. Lockwood, Urs Utzinger, Leonardo G. Montilla, Russell S. Witte and Jonathan P. Vande Geest. Comparisons of Planar and Tubular Biaxial Tensile Testing Protocols of the Same Porcine Coronary Arteries. *Annals of Biomedical Engineering*, 41:1579–1591, 2013.
- 62 Michael S. Sacks and C. J. Chuong. Orthotropic Mechanical Properties of Chemically Treated Bovine Pericardium. *Annals of Biomedical Engineering*, 26:892–902, 1998.
- 63 Paul H. Chew, Frank C. P. Yin and Scott L. Zeger. Biaxial Stress-strain Properties of Canine Pericardium. *J Mol Cell Cardiol*. 18:567-578, 1986.
- 64 1Dimitrios P. Sokolis, Ioannis K. Orfanidis and Michalis Peroulis. Biomechanical testing and material characterization for the rat large intestine: regional dependence of material parameters. *Physiol. Meas.* 32:1969–1982, 2011.
- 65 Christian A. J. Schulze-Bauer, Peter Regitnig and Gerhard A. Holzapfel. Mechanics of the human femoral adventitia including the high-pressure response. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282:2427–2440, 2002.
- 66 Hans V. Weizsacker, Helen Lambert and K. Ariu. Analysis of the passive mechanical properties of rat carotid arteries. *J. Biomechanics* 16:703-715, 1983.
- 67 Eleni A. Stavropoulou, Yannis F. Dafalias , Dimitrios P. Sokolis. Biomechanical and histological characteristics of passive esophagus: Experimental investigation and comparative constitutive modeling. *Journal of Biomechanics* 42:2654–2663, 2009.
- 68 Raymond P. Vito. The Mechanical Properties Of Soft Tissues-I: A Mechanical System For Biaxial Testing. *J. Biomechanics*. 13:947-950, 1980.
- 69 Hilmi Demiray, Hans W. Weizsacker, Karin Pascale and A. Erbay. A Stress-Strain Relation For a Rat Abdominal Aorta. *J. Biomechanics* 21:369-374, 1988.
- 70 J. D. Humphrey, D. L. Vawterand and R. P. Vito. Quantification of strains in biaxially tested soft tissues. *J. Biomechanics*, 20:59-65, 1987.
- 71 P.C. Block. Mechanism of transluminal angioplasty. *The American Journal of Cardiology*. 53:69-71, 1984.
- 72 Y. C. Fung. Elasticity of soft tissues in simple elongation. *Am. J. Physiol*. 213:1532-1544, 1967.
- 73 P. F. Guo. Strain Energy function of biological tissues. *J. Biomech.* 3:547-550, 1970.

- 74 J. Ferruzzi, D. A. Vorp and J. D. Humphrey. On constitutive descriptors of the biaxial mechanical behaviour of human abdominal aorta and aneurysms. *J. R. Soc. Interface* 8, 435–450, 2011.
- 75 Demiray. A note on elasticity of soft biological tissues. *J. Biomech.* 5:309-311, 1972.
- 76 <http://es.wikipedia.org/wiki/Microtomo>, acessado no 26 de julio de 2013.
- 77 Francisco J. Esteban Ruiz, Luis Montuenga Badía, Alfonso Calvo González. *Técnicas en histología y biología celular*. Elsevier España, 2009.
- 78 Monsur Kazi, Johan Thyberg, Piotr Religa, Joy Roy, Per Eriksson, Ulf Hedin, and Jesper Swedenborg. Influence of intraluminal thrombus on structural and cellular composition of abdominal aortic aneurysm wall. *J Vasc Surg.* 38:1283-1292, 2003.
- 79 Yanhua Fan, Jingbo Zhao, Donghua Liao and Hans Grengersen. The Effect of Digestion of Collagen and Elastin on Histomorphometry and the Zero-Stress State in Rat Esophagus. *Digestive Diseases and Sciences.* 50:1497-1505, 2005.
- 80 Caitlin Martin, Thuy Pham, Wei Sun. Significant differences in the material properties between aged human and porcine aortic tissues. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery.* 40:28-34, 2011.
- 81 Sun W, Sacks MS. Finite element implementation of a generalized Fung-elastic constitutive model for planar soft tissues. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology.* 4:190-199, 2005.
- 82 J.H. Storkholm, O. Frobert and H. Gregersen. Static Elastic Wall Properties of the Abdominal Porcine Aorta in-vitro and in-vivo. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 13:31-36, 1997.
- 83 J.D. Humphrey, G.A. Holzapfel. Mechanics, mechanobiology, and modeling of human abdominal aorta and aneurysms. *Journal of Biomechanics.* 45:805-814, 2012.
- 84 Ming-Jay Chow and Yanhang Zhang. Changes in the Mechanical and Biochemical Properties of Aortic Tissue due to Cold Storage. *Journal of Surgical Research.* 171:434-442, 2011.
- 85 Brian D. Stemper, Narayan Yoganandan, Michael R. Stineman, Thomas A. Gennarelli, Jamie L. Baisden and Frank A. Pintar. Mechanics of Fresh, Refrigerated, and Frozen Arterial Tissue. *Journal of Surgical Research.* 139:236-242, 2007.
- 86 Mustapha Adham, Jean-Paul Gournier, Jean-Pierre Favre, Eric de la Roche, Christian Ducerf, Jacques Baulieux, Xavier Barral and Michel Pouyet. Mechanical Characteristics of Fresh and Frozen Human Descending Thoracic Aorta. *Journal of Surgical Research.* 64:32–34, 1996.
- 87 Ramji T. Venkatasubramanian, Erin D. Grassl, Victor H. Barocas, Daniel Lafontaine and John C. Bischof. Effects of Freezing and Cryopreservation on the Mechanical Properties of Arteries. *Annals of Biomedical Engineering.* 34(5):823-832, 2006.
- 88 Salvatore Pasta, Julie A. Phillippi, Thomas G. Gleason and David A. Vorp. Effect of aneurysm on the mechanical dissection properties of the human ascending thoracic aorta. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 143:460-467, 2012.
- 89 J.D. Humphrey, G.A. Holzapfel. Review: Mechanics, mechanobiology, and modeling of human abdominal aorta and aneurysms. *Journal of Biomechanics.* 45:805–814, 2012.
- 90 E. Pena, V. Alastrue, A. Laborda, M.A. Martínez, M. Doblaré. A constitutive formulation of vascular tissue mechanics including viscoelasticity and softening behaviour. *Journal of Biomechanics.* 43:984–989, 2010.