Rogelio Iván Ortiz Velázquez

**Efeitos da sobrecarga hemodinâmica na bifurcação
aórtica: desenvolvimento de um modelo murino de
fadiga estrutural aneurismática**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de: Radiologia

Orientador: Prof. Dr. José Guilherme
Mendes Pereira Caldas

São Paulo
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ortiz Velázquez, Rogelio Iván

Efeitos da sobrecarga hemodinâmica na bifurcação aórtica : desenvolvimento de um modelo murino de fadiga estrutural aneurismática / Rogelio Iván Ortiz Velázquez. -- São Paulo, 2010.

Tese (doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Radiologia.

Orientador: José Guilherme Mendes Pereira Caldas.

Descritores: 1.Modelos animais 2.Aneurisma 3.Hemodinâmica 4.Estresse mecânico

USP/FM/DBD-494/10

DEDICATÓRIA

**A Ivanna, por ser todo motivo e
meu único fim.**

AGRADECIMENTOS

Ao Professor José Guilherme Mendes Pereira Caldas por acreditar, fazer possível e administrar com elegância minha confusão.

Ao Professor Luiz Francisco Poli de Figueiredo e à equipe da técnica cirúrgica e experimental da FMUSP sem cujo suporte e colaboração teria sido impossível a realização deste trabalho.

À Professora Maria de Lourdes Higuchi e à equipe do laboratório de imuno-histoquímica, hibridização *in situ* e biologia molecular do laboratório de anatomia patológica do InCor-HCFMUSP.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

- Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.
- Referências: adaptado de *International Committee of medical Journals Editors (Vancouver)*.
- Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com o *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de símbolos

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Teoria congênita da origem do aneurisma sacular.....	3
2.2 Teoria hemodinâmica da origem do aneurisma sacular.....	4
2.3 Modelos experimentais animais.....	6
2.4 Marco teórico para o desenvolvimento de um novo modelo experimental de aneurismas arteriais.....	10
3 OBJETIVOS.....	16
4 MÉTODOS.....	17
5 RESULTADOS.....	32
6 DISCUSSÃO.....	51
7 CONCLUSÕES.....	88
8 ANEXOS.....	86
9 REFÊRENCIAS.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS

AGN-II	Angiotensina II
<i>ApoE</i> -/-	Cepa transgênica nocaute para o gene de apoliproteína E
CFD	Computacional Fluid Dynamics
et al.	e outros
IL-6	Interleucina tipo 6

LISTA DE SÍMBOLOS

η	viscosidade
μm	micrometro
l	longitude
$\cos$	cosseno de
dyn/cm^2	dinas sobre centímetro quadrado
Hz	hertz
ml	mililitro
mm	milímetro
ml/s	mililitro sobre segundo
mmHg	milímetro de mercúrio
mg/kg	miligrama sobre kilo
$\sim$	aproximadamente
$<$	menor que
$<<$	muito menor que
$>>$	muito maior que
$=$	igual a

RESUMO

Ortiz-velázquez RI. Efeitos da sobrecarga hemodinâmica na bifurcação aórtica: desenvolvimento de um modelo murino de fadiga estrutural aneurismática [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010.117p.

INTRODUÇÃO: Evidência experimental sugere que padrões alterados de fluxo vascular, associados às bifurcações, estão envolvidos no desenvolvimento de lesões aneurismáticas. Pesquisamos os efeitos que a sobrecarga hemodinâmica condiciona sobre a parede arterial do ápice da bifurcação aórtica de modelos murinos. **MÉTODOS:** Sessenta ratos Wistar, selecionados e designados mediante amostragem probabilística simples foram agrupados equitativamente em um grupo controle e três grupos experimentais. Os espécimes foram anestesiados e sob magnificação microscópica, foi realizada uma incisão abdominal média e a aorta e os vasos ilíacos abordados e isolados desde a porção infra-renal até a porção distal da bifurcação. Modificação da geometria da bifurcação aórtica foi realizada mediante tunelamento da porção distal da artéria ilíaca no músculo ílio-lombar, no nível da raiz do membro inferior nos grupos II e IV. Nefrectomia esquerda e ligação da artéria renal inferior direita foram completadas para reforçar o estresse hemodinâmico nos grupos III e IV. Os modelos mantiveram-se em condições de laboratório convencionais com dieta *standard* para a espécie e água *ad libitum* para os grupos I e II e solução de NaCl 0,9% para os grupos III e IV. Após seis meses de seguimento, a bifurcação aórtica e as artérias ilíacas foram inspecionadas e subsequentelemente removidas para sua análise histopatológica. Um espécime por cada grupo foi submetido à angiografia digital com reconstrução tridimensional da bifurcação aórtica. **RESULTADOS:** 1) A pressão arterial, a frequência cardíaca e a pressão de pulso entre os grupos, com e sem nefrectomia, mostraram diferenças com significância estatística ($p < 0,05$). Os espécimes reunidos nos grupos III e IV que receberam sobrecarga de sódio desenvolveram um padrão hemodinâmico caracterizado por incremento da frequência cardíaca e da pressão de pulso. 2) Seis espécimes (60%) do grupo IV desenvolveram aneurismas do ápice da bifurcação aórtica. 3) A avaliação angiográfica demonstrou que a morfologia da bifurcação do grupo controle se mantém sem modificações aparentes durante o período de seguimento. Entretanto, o grupo II apresenta dados de remodelamento longitudinal com tortuosidade e alongamento do tronco e ramos que conformam a bifurcação. Já o grupo III apresenta estenose proximal e dilatação incipiente da região do ápice da bifurcação em um padrão descrito como *blister-like*. Finalmente, o grupo IV demonstra aneurismas e estenoses múltiplas da porção proximal e distal ao divisor de fluxo. **CONCLUSÕES:** Em modelos murinos, deformações da geometria arterial, introduzidas por mudanças do ângulo de bifurcação, induzem a formação de aneurismas e a associação com hipertensão arterial, pressão de pulso aumentada, frequência cardíaca elevada e sobrecarga de sódio potencializam a dilatação sacular desses segmentos.

Descritores: Modelos animais, Aneurisma, Hemodinâmica, Estresse mecânico.

SUMMARY

Ortiz-Velázquez RI. Effect of the hemodynamic overload on the arterial wall of the aortic bifurcation: development of a murine model of aneurysmatic structural fatigue [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. 117p.

BACKGROUND: Experimental evidence indicates that altered patterns of vascular flow associated with bifurcations are involved in the development of aneurysmatic lesions. The effects of the hemodynamic overload on the arterial wall of the aortic bifurcation in murine models were studied. **METHODS:** Sixty Wistar rats were selected and assigned by simple random sampling into a control group and three experimental groups. The specimens were anesthetized. Under microscopic magnification an abdominal incision was performed and the aortic and iliac vessels were isolated from the infra-renal portion until the distal bifurcation. The modification of the geometry of the aortic bifurcation was accomplished by tunneling of the distal iliac artery into ilio-lumbar muscle in groups II and IV. Left nephrectomy and ligation of inferior right renal artery were completed to enhance the hemodynamic stress in groups III and IV. The models were maintained in conventional laboratory conditions with standard diet for the species and water *ad libitum* for groups I and II, and NaCl 0.9% for groups III and IV. After six months of follow up, the aortic bifurcation and iliac arteries were inspected and subsequently removed to its histopathological evaluation. One specimen from each group underwent angiography with digital three-dimensional reconstruction of the aortic bifurcation prior to sacrifice. **RESULTS:** 1) Blood pressure, heart rate and pulse pressure between the groups with and without nephrectomy showed statistically significant differences ($p < 0.05$). The specimens collected in groups III and IV who received sodium overload developed a hemodynamic pattern characterized by increased heart rate and pulse pressure. 2) Six specimens (60%) in group IV developed aneurysmatic dilatation of the apex of the aortic bifurcation. 3) The angiographic evaluation showed that the morphology of the bifurcation of the control group remains unchanged during the study period. However, group II presents data from longitudinal remodeling with tortuosity and lengthening of the trunk and branches that make up the fork. The Group III presents stenosis and proximal dilatation of the apex of the bifurcation in a pattern described as blister-like. Finally, Group IV shows multiple stenosis proximal and distal to the flow divider. **CONCLUSIONS:** In murine models, the geometry deformation introduced by changes in the angle of bifurcation, induce inflammation of the flow divider, whereas, high blood pressure, pulse pressure, heart rate and high sodium overload catalyze the aneurysmatic dilatation of these segments.

Descriptors: Animal model, Aneurysm, Hemodynamic, Mechanical stress.

1 INTRODUÇÃO

O sistema circulatório é um sistema de distribuição e de intercâmbio que exemplifica a eficiência do desenho biomecânico (Thompson, 1992; Rossitti, 1995). Descrita de maneira simples, a circulação consiste em uma bomba que força o sangue, periódica e ritmicamente, dentro de um sistema de tubos elásticos que se bifurcam. Os pulsos de pressão e fluxo viajam centrifugamente e são parcialmente refletidos nos pontos de mudança da impedância, dando origem a pulsos retrógrados, enquanto pulsos anterógrados são amortecidos ao alcançar os vasos de resistência. O sangue, então, retorna num fluxo quase contínuo com pulsações secundárias impostas às veias pela contração muscular e pelo próprio coração. Por sua vez, uma árvore vascular típica está constituída por milhares de segmentos conectados em série e em paralelo, de diferente diâmetro e comprimento, e submetidos a diversas pressões e taxas de fluxo (Zamir, 2000; Nichols, 2005).

O sistema cardiovascular é muito mais complexo que essa descrição sucinta, já que apresenta geometria variável e visco-elasticidade não uniforme (Fung, 1997, 2004; Humphrey, 2002; Li, 2004; Han, 2006). Não obstante essa heterogeneidade morfológica e hemodinâmica prevalece a hipótese de que seu desenho obedece a princípios físicos simples que otimizam a operação do sistema como um todo (Murray, 1926a,b,c;

Thompson, 1992; Rosen, 1967; Zamir, 1976a,b; Rossitti, 1995; Painter, 2006; Liu, 2007).

A doença aneurismática divide com a doença aterosclerótica, exemplo primário da doença vascular, não somente um elevado índice de morbimortalidade, mas também sua localização preferencial - curvas e bifurcações arteriais. Isso sugere que fatores etiológicos semelhantes participem do seu desenvolvimento (Zarins, 1983; Jankowski, 2007) e, em última instância, determinem sua localização, taxa de crescimento e ruptura (Shojima, 2004; Jou, 2005). Stehbens (1990) cita que a característica essencial do aneurisma arterial está representada pela perda abrupta da camada muscular e da lâmina elástica ao nível do colo. Assim, a parede aneurismática é formada preferencialmente por tecido fibroso recoberto por endotélio na superfície luminal. Entretanto, há dificuldade na compreensão dos mecanismos que causam a transição da parede normal à parede aneurismática.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Teoria congênita da origem do aneurisma sacular

Segundo Forbus (1930) e Miskolczi (1998), defeitos morfológicos das capas elásticas e musculares nas artérias cerebrais são responsáveis pelo desenvolvimento das lesões aneurismáticas. Esses autores observaram fenestrações presentes na camada média das bifurcações e projeções da íntima no ápice das mesmas, postulando a teoria congênita da origem dos aneurismas saculares cerebrais. Conforme essa teoria, tais fenestrações e projeções representam pontos de debilidade da parede arterial que condicionam a fragmentação da lâmina elástica na bifurcação e nas suas porções proximais, induzindo a perda local da elasticidade responsável pelo desenvolvimento das lesões aneurismáticas (Stehbens, 1990).

Especula-se que tais defeitos da média são resultado de uma falha embriológica na fusão das camadas que constituem a parede arterial (Steiger, 1990). Não obstante, os aneurismas apresentam-se preferentemente no ápice das bifurcações, enquanto que esses defeitos ocorrem mais comumente nos ângulos laterais, portanto, a distribuição dos aneurismas não corresponde à dos defeitos (Sekhar, 1981). Esses defeitos ocorrem com alta frequência em artérias extracranianas e aneurismas saculares nas referidas artérias são incomuns (Ferguson, 1982). Finalmente, em indivíduos maiores de 80 anos, fenestrações da camada média das bifurcações apresentam-se em até 60% dos casos e essa proporção

aumenta com a idade (Sheffield, 1980) sem que exista um aumento associado da prevalência aneurismática.

A existência de comprovada influência familiar (FIA Study Investigators, 2008) e uma prevalência maior, que a média populacional, de hemorragia aneurismática em pacientes portadores de doenças que alteram o metabolismo do tecido conjuntivo (Ostergaard, 1989a,b) têm sido utilizadas como argumentos favoráveis à teoria congênita. Assim, o aumento da prevalência familiar em algumas populações sugere que defeitos genéticos podem alterar a síntese normal do colágeno nas artérias cerebrais, o que favoreceria sua fragilidade e o desenvolvimento de lesões aneurismáticas (Hegedus, 1984; Ostergaard, 1987; 1989b). A melhor associação genética apresenta-se em relação à doença renal policística familiar autossômica dominante. Nesse caso, até 9% dos portadores da mutação desenvolvem aneurismas cerebrais (Schievink, 1994). Essa pequena proporção permite a alguns autores afirmar que essas associações são inconsistentes (Chapman, 1992; Ter Berg, 1992).

2.2 Teoria hemodinâmica da origem do aneurisma sacular

Um polígono de Willis em desequilíbrio funcional, por quaisquer de suas variantes anatômicas, é o único fator invariável no desenvolvimento do aneurisma cerebral, já que atresia, hipoplasia, fenestrações, duplicações e anastomoses embrionárias, entre outras, encontram-se associadas ao seu desenvolvimento (Kassell, 1983; Kayembe, 1984; Yasargil, 1984; De la

Monte, 1985; Stehbens, 1990). Uma configuração atípica do polígono de Willis é reportada em até 95% dos pacientes portadores de aneurismas cerebrais (Wilson, 1954), sugerindo que tais variações participem da gênese dos aneurismas. Kayembe (1984) enfatiza que essa relação deverá ser interpretada em termos do estresse hemodinâmico que tais variações anatômicas condicionam, visto que é possível comprovar a formação de aneurismas cerebrais em pacientes tratados mediante oclusão carotídea (Dyste, 1989; Hassler, 1990; Fujiwara, 1993; Timperman, 1993). Nesse sentido, estudos de dinâmica de fluidos computacionais (CFD) corroboram, na presença das referidas variantes, o incremento da carga hemodinâmica nas regiões específicas nas quais se desenvolvem as lesões aneurismáticas (Hassan, 2005; Cebal, 2005a).

Além disso, e contrariamente ao exposto pela tese da origem congênita dos aneurismas cerebrais, a hemorragia aneurismática comporta-se clínica, histopatológica e epidemiologicamente como uma enfermidade degenerativa (McCormick, 1977). A idade média de apresentação incide durante a sexta década da vida e, em não mais do que 5% dos casos, atinge sujeitos com idade inferior a 20 anos (Weller, 1995; Bonita, 1985; Linn, 1996; Locksley, 1996; McCormick, 1970; Ostergaard, 1989b). De tal modo, Ferguson (1972a) afirma que as lesões aneurismáticas representam a degeneração focal e adquirida da capa elástica dos ápices das bifurcações. Em concordância, múltiplos estudos sugerem que fatores hemodinâmicos, tais como estresse axial, pressão de pulso, pressão de estagnação, pressão transmural, zonas de separação de fluxo, fluxos secundários, vórtices, dentre outros,

encontram-se associados ao desenvolvimento de lesões aneurismáticas (Ferguson, 1982; Skalak, 1989; Cheng, 2006; Kondo, 1997; Wootton, 1999; Foutrakis, 1999; Matheus, 2003; Tateshima, 2003; Grotberg, 2004; Taylor, 2004; Cebal, 2005b; Peattie, 2006; Torii, 2006; Sforza, 2009).

Segundo essa teoria, o primeiro passo na formação de um aneurisma é a degeneração adquirida da lâmina elástica no ápice da bifurcação. Processo esse que se inicia pela fragmentação e conclui com a destruição completa das diferentes camadas da parede arterial secundariamente à concentração do estresse hemodinâmico no nível do ápice da bifurcação (Ferguson, 1970, 1972b, 1982; Roach, 1977; Wang, 2009). Assim, a teoria da degeneração mecanicamente induzida da membrana elástica explica o lócus particular do processo aneurismático. No entanto, o fato de os aneurismas serem específicos, no que diz respeito à sua localização, é apenas uma evidência circunstancial do papel das forças hemodinâmicas no seu desenvolvimento. Pois, são desconhecidos os mecanismos precisos mediante os quais estas lesões principiam, crescem ou rompem, permanecendo como um enigma seu curso temporal. A melhor evidência que associa as forças hemodinâmicas à degeneração aneurismática da parede arterial decorre de estudos experimentais em animais (Patel, 1974).

2.3 Modelos experimentais animais

A doença aneurismática pode ser considerada como uma doença espécie-específica, pois aneurismas são raros em animais (Hashimoto,

1978,1987; Kim, 1989; Stehbens, 1990; Morimoto, 2002). Entretanto, é possível induzi-los experimentalmente. Hunter foi o primeiro a tentar, sem sucesso, produzir aneurismas na aorta de cães mediante lesão arterial. Luigi Porta conseguiu pela primeira vez demonstrar uma lesão aneurismática distal a uma aorta parcialmente ligada e Halsted ocluiu de maneira parcial a aorta abdominal de cães usando uma banda metálica e, de forma inconstante, demonstrou lesões aneurismáticas distais à banda (Stehbens, 1958).

Na atualidade muitos modelos animais de lesões aneurismáticas têm sido propostos, entre os principais: Ammirati (1988) induziu aneurismas da bifurcação da artéria carótida mediante lesão da parede vascular e enxerto de adventícia. Quigley (1987) provocou aneurismas da bifurcação da aorta abdominal mediante arteriotomia com laser. Van Alphen (1990) logrou a formação de aneurismas da bifurcação da carótida comum mediante lesão intraluminal da parede do vaso, Miskolczi (1998) reportou um modelo *in vitro* de aneurismas fusiformes mediante infusão intravascular de elastase e fluxo pulsátil artificial e Kallmes (2002) descreveu a obtenção de lesões aneurismáticas em coelhos mediante a incubação com elastase. Por sua vez, Hashimoto (1978) estimulou o desenvolvimento de aneurismas saculares dentro do polígono de Willis, através de dieta suplementada com B-aminopropionitrilo que deteriora o colágeno e a camada elástica da parede vascular, porém a aparição das lesões aneurismáticas dependeu do estresse hemodinâmico induzido mediante hipertensão e oclusão unilateral da carótida comum.

Desses relatos pode-se concluir que duas etapas são necessárias para a formação de aneurismas experimentais. A primeira implica manobras farmacológicas ou técnicas cirúrgicas que promovam a fragilidade vascular ou condicionem lesão direta; a segunda requer a formação e o crescimento das lesões aneurismáticas mediante o incremento do estresse hemodinâmico que atua sobre paredes estruturalmente debilitadas. Todavia, essas lesões não mimetizam as lesões humanas e suas propriedades (Shah, 1999) e, mais importante ainda, para esclarecer a fisiopatologia da doença aneurismática, os mecanismos de iniciação, crescimento e ruptura deverão ser estudados de maneira seqüencial, motivo pelo qual modelos que condicionam lesão direta da parede arterial impossibilitam a obtenção de informação etiológica.

Hashimoto (1978, 1979a,b,c, 1980, 2002) desenvolveu o primeiro modelo de aneurismas cerebrais saculares experimentais condicionados por alterações hemodinâmicas.

Na circulação cerebral dos modelos murinos não existem variações maiores do polígono de Willis e esse se comporta como um eficiente canal anastomótico entre a circulação das artérias carótidas e entre essas e a circulação posterior. Por isso, no modelo de Hashimoto (1978), a presença de lesões aneurismáticas exclusivamente no lado contralateral ao sítio de oclusão carotídea e a ausência das mesmas no grupo de permeabilidade completa, apesar de dieta suplementada com B-aminopropionitrilo, indica que as modificações do padrão hemodinâmico provocadas pela oclusão carotídea são essenciais ao desenvolvimento das lesões aneurismáticas.

Nos espécimes submetidos à ligadura unilateral, os aneurismas se desenvolveram no equivalente humano do complexo comunicante anterior, mas esses nunca se apresentaram no grupo de ligadura bilateral, o que confirma que a origem dos mesmos se associa exclusivamente ao estresse hemodinâmico presente no canal anastomótico. No mesmo sentido, nos animais com ligadura bilateral da artéria carótida, os segmentos proximais das artérias cerebrais posteriores e a artéria basilar aumentaram seu diâmetro, tornaram-se tortuosas e desenvolveram aneurismas nos segmentos posteriores do polígono, confirmando que o remodelamento arterial é secundário ao aumento do fluxo (Hashimoto, 1980).

Apesar de o modelo anterior produzir lesões intracranianas que lembram os aneurismas humanos, suas desvantagens incluem o custo elevado do modelo, quando reproduzido em primatas, (Hashimoto, 1987, 1989), o tempo requerido para o desenvolvimento das lesões, maior do que doze meses, e a natureza microscópica das lesões cerebrais do modelo murino, cujo padrão histopatológico difere do reportado para as lesões humanas (Suzuki, 1980; Hazama, 1986).

Por tudo isso, não existe na atualidade um modelo animal ideal no qual seja possível realizar a combinação de estudos biomecânicos e histológicos necessários para mapear a história natural das lesões aneurismáticas e, apesar de ser pouco provável que qualquer modelo experimental animal possa mimetizar de modo exato um aneurisma cerebral humano, existe a necessidade real de refiná-los.

2.4 Marco teórico para o desenvolvimento de um novo modelo experimental de aneurismas arteriais

Os tecidos biológicos estão sujeitos às leis universais da conservação de massa, momento e energia (Fung, 2004; Humphrey e Delange, 2004). Desse modo, o que distingue os tecidos vivos dos materiais inanimados é, simplesmente, a forma de suas relações constitutivas.

Mecanicamente, a formação de uma lesão aneurismática é semelhante a um problema comum da engenharia de estruturas denominado deformação plástica (Fung, 1997; Humphrey, 2002), no qual um tubo desenvolve uma protrusão e subsequente ruptura sob os efeitos de uma pressão interna oscilatória, processo que leva a falha por fadiga do material. Nesse problema, o raio de curvatura, que pode traduzir-se biologicamente no ângulo de bifurcação, desempenha um papel essencial. No entanto, na artéria a análise do problema complica-se, pois a parede representa uma estrutura dinâmica, constituída por células em camadas multiaxiais e uma rede de proteínas fibrilares, capaz de modificar suas propriedades em resposta às mudanças nos estímulos mecânicos derivados do fluxo sanguíneo (Gibbons e Dzau, 1994). Portanto, a parede encontra-se em permanente remodelamento oriundo de processos inflamatórios, degenerativos, envelhecimento, cicatrização etc.

Numerosos estudos têm sido desenvolvidos com a intenção de caracterizar as equações constitutivas que permitam identificar as relações, não lineares, que existem entre o estresse da parede arterial e sua resposta

biomecânica (Zamir, 1976a,b; Arner e Uvelius, 1982; Canham e Ferguson, 1985; Van de Vosse, 2003; Cebal et al., 2005a; Boussel et al., 2008). Contudo, ainda não é possível caracterizar plenamente as propriedades dos vasos sanguíneos submetidos ao remodelamento e isso impede, por exemplo, a predição confiável da origem, da taxa expansão ou do risco de ruptura de uma lesão aneurismática (Humphrey e Delange, 2004).

Apesar disso, os estudos sobre crescimento e remodelamento dos vasos sanguíneos em resposta às mudanças no estresse e na deformação têm estabelecido as seguintes hipóteses:

- Hipótese do estresse circunferencial uniforme: essa teoria sustenta-se nos princípios que regem a resposta vascular à hipertensão. Assim, o incremento da pressão leva a um aumento do estresse circunferencial, que, por sua vez, conduz a adaptação estrutural do vaso. O vaso responde incrementando sua espessura, devolvendo os níveis de estresse a valores homeostáticos. Desse modo, o remodelamento vascular que restaura os níveis de estresse e de deformação para os níveis normais adverte que existem valores homeostáticos desses parâmetros (Fung, 2004).
- Hipótese do estresse axial uniforme: essa teoria justifica-se nas observações do remodelamento da parede arterial em resposta ao excesso de fluxo. Assim, o cubo de raio aumenta quando incrementada a taxa de fluxo de tal forma que os vasos podem acomodar o excesso de volume mediante mecanismos vasoativos

(constricção ou dilatação fluxo-dependente) ou, de maneira crônica, mediante o remodelamento do calibre vascular. Desse modo, o nível de estresse axial participa da regulação do crescimento e remodelamento da parede arterial (Zamir, 2000).

- Hipótese da tensão média uniforme. A pressão do fluxo sanguíneo é balanceada pelas forças parietais da elastina, colágeno e células musculares lisas. Essas se orientam de tal modo que formam camadas bem definidas e pode corroborar-se que o número dessas camadas é proporcional ao diâmetro do vaso. Assim, apesar das grandes variações do diâmetro vascular, a tensão média por unidade é constante. É possível notar que a hipótese de tensão uniforme foi generalizada na hipótese de estresse circunferencial uniforme, como princípio regulador do crescimento e do remodelamento arterial. Ambas as hipóteses, por sua vez, pressupõem um nível homeostático de estresse (Humphrey, 2002; Fung, 2004).
- Hipótese da deformação circunferencial uniforme: como visto, o remodelamento é consistente com a normalização do estresse circunferencial da parede (Fung, 2004). Contudo, tem sido descrito que a deformação alcança seu ápice mais prontamente e se normaliza mais rapidamente que o estresse, o que indica que os vasos são mais sensíveis à deformação (Westerhof et al., 2005a; Taylor e Humphrey, 2009). Por sua vez, Kassab (2006) observou que

a deformação é uniforme em todo o sistema vascular. Seu estudo verificou que o estresse circunferencial e a deformação desde a aorta até arteríolas de 10 μ m são de similar magnitude, apesar de haver uma diferença muito grande no diâmetro vascular. Conseqüentemente, a uniformidade da deformação circunferencial sugere que o sistema vascular regule o grau de deformação.

- Hipótese da deformação transmural uniforme: uma das conseqüências da existência do estresse residual é a distribuição uniforme da deformação dentro da parede. Essa uniformidade de distribuição na deformação tem importantes implicações fisiológicas. Assim, com pressão zero, valor correspondente à deformação residual, a deformação residual externa é tensil, no entanto a deformação residual interna é compressiva. Quando o vaso é pressurizado a valores maiores que 150 mmHg, a deformação interna excede a deformação externa, estabelecendo um gradiente de deformação. Acredita-se que tal gradiente possa ser o estímulo que conduza ao crescimento e ao remodelamento (Lee e Haut, 1992; Westerhof et al., 2005a; Taylor e Humphrey, 2009).

Desse modo, é esperado que as forças hemodinâmicas, manifestas nos diferentes tipos de estresse que afetam a parede, desempenhem um papel importante na determinação da localização, da taxa de crescimento e, em

última instância, da ruptura das lesões aneurismáticas (Todorovich-Hunter et al., 1988; Wang et al., 2009).

Por sua vez, a geometria participa na origem e no desenvolvimento das doenças vasculares (Piccinelli, 2009), pois determina a forma como as forças são exercidas na parede vascular. Exemplo típico dessa relação é o desenvolvimento preferencial de placas de ateroma e a formação de aneurismas nas bifurcações e nas curvas agudas. Todavia, a análise da relação entre a geometria vascular e a fisiopatologia arterial é complicada devido à enorme variabilidade da anatomia normal e às dificuldades para obter dados quantitativos das imagens obtidas dessas geometrias. Apesar disso, é possível verificar que pequenas diferenças na geometria do aneurisma durante seu crescimento alteram profundamente a estrutura do fluxo intra-aneurismático (Tateshima, 2007). Diversos fatores são responsáveis por tais alterações, podendo-se mencionar, a título de exemplo, que pequenas diferenças na geometria têm significativos efeitos no padrão do fluxo devido ao caráter não linear das equações governantes de Navier-Stokes (Cebal, 2009) que regem o fluxo sanguíneo tridimensional. Portanto, dado que a mecânica do fluxo é governada pela geometria, além das propriedades materiais e das cargas aplicadas (Humphrey, 2002), é biologicamente plausível pensar que mudanças geométricas locais possam alterar a carga hemodinâmica de segmentos específicos do sistema arterial e, conseqüentemente, o remodelamento arterial.

Teoricamente, o estresse hemodinâmico é mínimo quando a relação geométrica entre os raios da artéria principal e os ramos, bem como seus

ângulos de bifurcação, segue o princípio do trabalho mínimo. Isto é, os ângulos de bifurcação encontram-se desenhados para reduzir ao mínimo o trabalho requerido para que o sangue circule através dos leitos vasculares. A base teórica desse princípio foi primeiramente descrita por Murray (1926). Conseqüentemente, e do ponto de vista teórico, toda modificação do ângulo ótimo incrementaria o estresse hemodinâmico da bifurcação. No mesmo sentido, diversos relatos indicam a existência de modificações do ângulo de bifurcação dos segmentos arteriais portadores de lesões aneurismáticas, no entanto, a importância desses achados no desenvolvimento da doença aneurismática tem sido ignorada (Huber, 1982; Yasargil, 1984).

Pelo previamente estabelecido, é possível que o desenvolvimento de uma lesão aneurismática represente a degeneração local e adquirida das propriedades elásticas da parede arterial (remodelamento patológico) como resultado da interação das forças hemodinâmicas com a geometria vascular. Assim, resulta mandatório analisar experimentalmente a referida interação e seus efeitos sobre o ápice das bifurcações. Desse modo, postulamos a hipótese de que é factível avaliar a participação do estresse hemodinâmico e da geometria vascular na degeneração aneurismática das bifurcações arteriais, na ausência de qualquer tipo de lesão prévia da parede arterial, incrementando a carga pressórica e modificando o ângulo de bifurcação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Geração de um modelo experimental murino de sobrecarga hemodinâmica.

3.3 Objetivos específicos

- Determinar os efeitos que a sobrecarga hemodinâmica condiciona sobre a parede arterial do ápice da bifurcação aórtica.
- Determinar a relação entre hipertensão arterial, frequência cardíaca, pressão de pulso e modificação do ângulo de bifurcação na degeneração aneurismática do ápice da bifurcação aórtica.

4 MÉTODOS

4.1 Desenho

Estudo experimental, aleatório e controlado.

4.2 Seleção da amostra

Sessenta ratos Wistar, do centro de bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, selecionados e designados mediante amostragem probabilística simples. Agrupados equitativamente em um grupo controle e três grupos experimentais (15 espécimes por grupo).

4.3 Critérios de Seleção

a) Inclusão

- Macho
- Maior que 200 gramas e menor que 250 gramas de peso no momento da inclusão (três meses de vida).
- Criados sob técnica de laboratório convencional
- Sem dano orgânico ou funcional evidente

b) Exclusão

- Desenvolvimento de complicações pós-cirúrgicas precoces ou tardias

c) Eliminação

- Desenvolvimento de doença diferente à hipertensão arterial sistêmica

4.4 Grupos:

1. Pressão arterial normal / ângulo de bifurcação natural (*sham group*)
2. Ângulo de bifurcação aórtica modificado
3. Nefrectomia esquerda mais oclusão da artéria renal inferior direita
4. Nefrectomia esquerda, oclusão da artéria renal inferior direita e ângulo de bifurcação modificado.

4.5 Variáveis

4.5.1 Variáveis independentes

- Hipertensão arterial: pressão vascular média maior do que 110 mmHg. Variável numérica discreta. Método de medição: canulação arterial direta ou pletismografia de cauda.
- Pressão de pulso: pressão sistólica menos pressão diastólica. Variável numérica discreta. Método de medição: pletismografia de cauda.

- Frequência cardíaca: número de ciclos cardíacos por minuto. Variável numérica discreta. Método de medição: pletismografia de cauda.
- Ângulo de bifurcação: amplitude de dissociação dos ramos da bifurcação aórtica. Variável qualitativa categórica. Categorias: 1. Sem modificação do ângulo; 2. Com modificação do ângulo.

4.5.2 Variável dependente

Remodelamento aneurismático da bifurcação aórtica. Definição: Dilatação vascular com dados de remodelamento patológico. Critério operacional macroscópico: dilatação do ápice da bifurcação aórtica observável à exploração cirúrgica ou mediante angiografia. Critério operacional histopatológico: degeneração e substituição dos elementos estruturais da parede aórtica por tecido fibroso ou inflamatório observáveis às técnicas de Hematoxilina e Eosina, Tricrômico de Masson e Verhoeff.

4.6 Técnica

Grupo I: Grupo controle/*sham group*. (pressão arterial normal - ângulo de bifurcação natural).

Os espécimes foram anestesiados pela injeção peritoneal da associação de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) e colocados sobre uma mesa cirúrgica termo-regulável. A temperatura foi mantida em 37°C. Doses suplementares de anestésico foram utilizadas tantas quanto foram necessárias para manter um nível uniforme de anestesia que

permitisse a respiração espontânea. Os modelos respiraram ar ambiente e foram monitorados mediante oxímetro de pulso. Depois de colocados em posição supina, sob magnificação microscópica, foi realizada uma incisão abdominal média e a aorta e os vasos ilíacos abordados e isolados desde a porção infra-renal até a porção distal da bifurcação, dando-se por concluído o procedimento (Figura 1).

Figura 1- Dissecção da bifurcação aórtica

Bifurcação aórtica liberada da aponeurose aorto-cava.

A incisão foi suturada em duas camadas utilizando nylon 4-0's com a técnica de pontos contínuos. Os modelos mantiveram-se em condições de laboratório convencionais com dieta *standard* para a espécie e água *ad libitum*. Todos os animais foram submetidos ao método proposto. Após completar seis meses de seguimento, os espécimes foram anestesiados e a bifurcação aórtica e as artérias ilíacas foram inspecionadas e subsequentemente removidas para sua análise histopatológica. Os modelos foram sacrificados mediante infusão intraperitoneal massiva de pentobarbital

sódico (200 mg/kg). As amostras arteriais foram fotografadas mediante microscópio estereoscópico (Zeiss, Stemi-SV6) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) e posteriormente fixadas em formaldeído tamponado a 10% durante 48 horas para finalmente serem incluídas em blocos de parafina, respeitando seu formato anatômico em Y invertido. Cortes seriais de 5µm foram obtidos perpendicularmente e em paralelo ao eixo axial da bifurcação e tingidos com as técnicas de Hematoxilina e Eosina, Masson e Verhoeff. As amostras foram observadas sob microscópio (Leica, modelo-DMLB) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) para registro de dados de remodelamento da parede arterial. As referidas imagens histológicas foram adquiridas mediante o código de processamento de imagem BioQuant TrueColor Windows, Version 2.0 (R&M Biometrics, Nashville, TN).

Grupo II: Ângulo de bifurcação modificado.

Os espécimes foram anestesiados pela injeção peritoneal da associação de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) e colocados sobre uma mesa cirúrgica termo-regulável. A temperatura foi mantida em 37°C. Doses suplementares de anestésico foram utilizadas tantas quanto foram necessárias para manter um nível uniforme de anestesia que permitisse a respiração espontânea. Os modelos respiraram ar ambiente e foram monitorados mediante oxímetro de pulso. Depois de colocados em posição supina, sob magnificação microscópica, foi realizada uma incisão abdominal média e a aorta e os vasos ilíacos abordados e isolados desde a

porção infra-renal até a porção distal da bifurcação. Modificação da geometria da bifurcação aórtica foi realizada mediante tunelamento da porção distal da artéria ilíaca no músculo ílio-lombar, no nível da raiz do membro inferior, com a finalidade de reforçar o estresse hemodinâmico (Figura 2), dando-se por terminado o procedimento.

Figura 2- Modificação do ângulo da bifurcação

Tunelamento, no músculo ílio-lumbar, do terço distal da artéria ilíaca além da região do divisor de fluxo.

A incisão foi suturada em duas camadas utilizando nylon 4-0's com técnica de pontos contínuos. Os modelos mantiveram-se em condições de laboratório convencionais com dieta *standard* para a espécie e água *ad libitum*. Todos os animais foram submetidos ao método proposto. Após completar seis meses de seguimento, os espécimes foram anestesiados e a bifurcação aórtica e as artérias ilíacas foram inspecionadas e subsequentemente removidas para sua análise histopatológica. Os modelos foram sacrificados mediante infusão intraperitoneal massiva de pentobarbital sódico (200 mg/kg). As amostras arteriais foram fotografadas mediante

microscópio estereoscópico (Zeiss, Stemi-SV6) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) e, posteriormente, fixadas em formaldeído tamponado a 10% durante 48 horas para finalmente serem incluídas em blocos de parafina, respeitando seu formato anatômico em Y invertido. Cortes seriais de 5µm foram obtidos perpendicularmente e em paralelo ao eixo axial da bifurcação e tingidos com as técnicas de Hematoxilina e Eosina, Masson e Verhoeff. As amostras foram observadas sob microscópio (Leica, modelo-DMLB) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) para registro de dados de remodelamento da parede arterial. As referidas imagens histológicas foram adquiridas mediante o código de processamento de imagem BioQuant TrueColor Windows, Version 2.0 (R&M Biometrics, Nashville, TN).

Grupo III: Nefrectomia esquerda mais oclusão da artéria renal inferior direita.

Os espécimes foram anestesiados pela injeção peritoneal da associação de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) e colocados sobre uma mesa cirúrgica termo-regulável. A temperatura foi mantida em 37°C. Doses suplementares de anestésico foram utilizadas tantas quanto foram necessárias para manter um nível uniforme de anestesia que permitisse a respiração espontânea. Os modelos respiraram ar ambiente e foram monitorados mediante oxímetro de pulso. Depois de colocados em posição supina, sob magnificação microscópica, foi realizada uma incisão abdominal média e a aorta e os vasos ilíacos abordados e isolados desde a porção infra-renal até a porção distal da bifurcação. Nefrectomia esquerda e

ligação da artéria renal inferior direita foram completadas para reforçar o estresse hemodinâmico (Figura 3 e 4), dando-se por terminado o procedimento.

Figura 3 - Nefrectomia esquerda

Verifica-se o esvaziamento da fossa renal.

Figura 4 - Heminefrectomia direita

Verifica-se isquemia da metade inferior do rim

A incisão foi suturada em duas camadas utilizando nylon 4-0's com técnica de pontos contínuos. Os modelos mantiveram-se em condições de laboratório convencionais com dieta *standard* para a espécie e solução de NaCl 0,9% como água *ad libitum*. Todos os animais foram submetidos ao

método proposto. Após completar seis meses de seguimento, os espécimes foram anestesiados e a bifurcação aórtica e as artérias ilíacas foram inspecionadas e subsequentemente removidas para sua análise histopatológica. Os modelos foram sacrificados mediante infusão intraperitoneal massiva de pentobarbital sódico (200 mg/kg). As amostras arteriais foram fotografadas mediante microscópio estereoscópico (Zeiss, Stemi-SV6) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) e, posteriormente, fixadas em formaldeído tamponado a 10% durante 48 horas para finalmente serem incluídas em blocos de parafina, respeitando seu formato anatômico em Y invertido. Cortes seriais de 5µm foram obtidos perpendicularmente e em paralelo ao eixo axial da bifurcação e tingidos com as técnicas de Hematoxilina e Eosina, Masson e Verhoeff. As amostras foram observadas sob microscópio (Leica, modelo-DMLB) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) para registro de dados de remodelamento da parede arterial. As referidas imagens histológicas foram adquiridas mediante o código de processamento de imagem BioQuant TrueColor Windows, Version 2.0 (R&M Biometrics, Nashville, TN).

Grupo IV: Nefrectomia esquerda/oclusão da artéria renal inferior direita/ângulo de bifurcação modificado.

Os espécimes foram anestesiados pela injeção peritoneal da associação de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) e colocados sobre uma mesa cirúrgica termo-regulável. A temperatura foi mantida em 37°C. Doses suplementares de anestésico foram utilizadas tantas quanto

foram necessárias para manter um nível uniforme de anestesia que permitisse a respiração espontânea. Os modelos respiraram ar ambiente e foram monitorados mediante oxímetro de pulso. Depois de colocados em posição supina, sob magnificação microscópica, foi realizada uma incisão abdominal média e a aorta e os vasos ilíacos abordados e isolados desde a porção infra-renal até a porção distal da bifurcação (Figura 1). A modificação da geometria da bifurcação aórtica foi realizada mediante tunelamento da porção distal da artéria ilíaca no músculo ílio-lombar, no nível da raiz do membro inferior (Figura 2). Nefrectomia esquerda (Figura 3) mais ligadura da artéria renal inferior direita (Figura 4) foram realizadas para reforçar o estresse hemodinâmico, dando-se por terminado o procedimento. A incisão foi suturada em duas camadas utilizando nylon 4-0's com técnica de pontos contínuos. Os modelos mantiveram-se em condições de laboratório convencionais com dieta *standard* para a espécie e solução de NaCl 0,9% como água *ad libitum*. Todos os animais foram submetidos ao método proposto. Após completar seis meses de seguimento, os espécimes foram anestesiados e a bifurcação aórtica e as artérias ilíacas foram inspecionadas e subsequentemente removidas para sua análise histopatológica. Os modelos foram sacrificados mediante infusão intraperitoneal massiva de pentobarbital sódico (200 mg/kg). As amostras arteriais foram fotografadas mediante microscópio estereoscópico (Zeiss, Stemi-SV6) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) e, posteriormente, fixadas em formaldeído tamponado a 10% durante 48 horas para finalmente serem incluídas em blocos de parafina, respeitando seu formato anatômico em Y

invertido. Cortes seriais de 5µm foram obtidos perpendicularmente e em paralelo ao eixo axial da bifurcação e tingidos com as técnicas de Hematoxilina e Eosina, Masson e Verhoeff. As amostras foram observadas sob microscópio (Leica, modelo-DMLB) acoplado a uma câmera 3CCD (Color Vision 2/3' Sony-Bayonet) para registro de dados de remodelamento da parede arterial. As referidas imagens histológicas foram adquiridas mediante o código de processamento de imagem BioQuant TrueColor Windows, Version 2.0 (R&M Biometrics, Nashville, TN).

4.6 Registro indireto da pressão arterial, da frequência cardíaca e da pressão de pulso.

As medidas da pressão arterial por pletismografia de cauda (KENT Corporation Inc.) foram realizadas ao início e ao final do período de estudo com o animal anestesiado mediante injeção peritoneal da associação de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg). Os animais foram previamente submetidos ao aquecimento moderado, para promover vasodilatação da artéria caudal, e mantidos sob restrição de movimentos em caixa de acrílico. O registro da pressão arterial de cauda foi realizado através da colocação de manguito de borracha na região proximal da cauda e ligado ao esfigmomanômetro para insuflar e desinsuflar gradualmente o manguito de zero a 250/400 mmHg. Na porção mais distal da cauda foi acoplado um transdutor pneumático para detecção dos sinais de passagem da onda de pulso de pressão arterial na artéria caudal e registrado no sistema

AT/CODAS (DataQ Instruments, Inc., Ohio, USA) com frequência de amostragem de 1000 Hz. Neste procedimento, a pressão arterial de cauda equivale à pressão do manguito, em que o pulso de pressão desaparece ou reaparece quando a pressão exercida sobre a cauda torna-se ligeiramente menor que o valor da pressão intra-arterial, desobstruindo o fluxo sanguíneo na artéria caudal e permitindo a detecção do pulso de pressão. A frequência cardíaca foi calculada a partir do intervalo de tempo de cada pulso de pressão arterial detectado pelo transdutor, sem a oclusão da passagem do fluxo sanguíneo na cauda. Para cada animal foram realizadas seis medidas de pressão arterial de cauda e frequência cardíaca em repouso, sendo desprezadas a primeira e a última medida e calculada a média aritmética entre os valores restantes. A pressão de pulso foi calculada como a diferença entre as médias aritméticas das pressões máxima e mínima obtidas.

4.7 Angiografia rotacional com reconstrução tridimensional da bifurcação aórtica e registro direto da pressão arterial.

Um espécime por cada grupo foi submetido à angiografia digital com reconstrução tridimensional da bifurcação aórtica previamente à realização do procedimento cirúrgico de controle a seis meses de seguimento. A técnica de realização do exame foi a mesma descrita por Ortiz-Velázquez (2009). Os espécimes foram anestesiados mediante aplicação intraperitoneal de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) e colocados

sobre uma mesa cirúrgica termo-regulável. A temperatura foi mantida em 37°C. Doses suplementares de anestésico foram utilizadas tantas quanto foram necessárias para manter um nível uniforme de anestesia que permitisse a respiração espontânea. Os modelos respiraram ar ambiente e foram monitorados mediante oxímetro de pulso. Depois de colocados em posição supina, foi realizada uma incisão cervical média e a carótida comum direita exposta. Uma arteriotomia média permitiu a cateterização através de um tubo PE-10 (Becton-Dickinson) que foi fixado com nylon 4-0's. O cateter foi conectado ao transdutor de pressão do tipo Strain Gauge (Statham P23 Db). O sinal foi amplificado (GPA-4 model 2, Stemtech, Inc.), convertido de analógico para digital (10 bytes) e o registro da pressão foi realizado com o animal anestesiado, com frequência de amostragem de 2000 Hz, através do sistema AT/CODAS (DataQ Instruments, Inc., Ohio, USA). O tubo foi gentilmente introduzido no coração até obter ondas características de pressão ventricular e, então, novamente retirado até que ondas de pressão sistêmica indicassem que a ponta se localizava no arco aórtico (Figura 5).

Figura 5 - Onda de pressão de pulso do arco aórtico

O procedimento angiográfico rotacional foi realizado mediante injeção automática com uma bomba Injektron 82 HP (Medtron, AG) e unidade angiográfica Integris Allura (Philips Medical Systems), utilizando 14 ml de contraste (Henetix 300, Guerbet) a uma taxa de 2 ml/s, 650 PSI e 1 segundo de retardamento. Imagens tridimensionais foram reconstruídas dos dados coletados usando um arco de rotação de 210°. Cento e vinte imagens foram obtidas nesse arco e as reconstruções foram realizadas automaticamente em uma estação de trabalho computacional especialmente dedicada (Philips Medical Systems).

4.8 Ética

Foram seguidos os princípios institucionais para pesquisa envolvendo animais e o protocolo experimental foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética (aprovação no. 382/06).

4.9 Análise estatística

Ao final do período do seguimento, e após suas perdas, os resultados das variáveis de 10 espécimes por grupo foram analisados. Para as variáveis categóricas calcularam-se as proporções e a prova de independência X^2 , para variáveis numéricas foram calculadas a prova de Mann-Whitney U e Kruskal-Wallis para comparações múltiplas, se os dados não apresentaram distribuição normal, e ANOVA se sua distribuição foi

normal, considerando-se valores de $P < 0.05$ estatisticamente significativos, além das taxas de incidência e a proporção de taxas entre os grupos.

5 RESULTADOS

Cinco espécimes de cada grupo foram excluídos ou eliminados da análise. As principais causas de perda ao seguimento foram o desenvolvimento de peritonite generalizada, pneumonia e insuficiência renal grave.

5.1 Resultados hemodinâmicos

As características hemodinâmicas do grupo controle (pressão arterial, frequência cardíaca e pressão de pulso) foram contrastadas contra cada um dos grupos experimentais e avaliadas mediante análise de variância. Os espécimes reunidos nos grupos III e IV, que receberam sobrecarga de sódio, desenvolveram um padrão hemodinâmico caracterizado por hipertensão arterial e pelo incremento da frequência cardíaca e da pressão de pulso (Tabela 1).

Tabela 1- Características hemodinâmicas por grupo

GRUPO	PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA*	PRESSÃO ARTERIAL DIASTÓLICA*	FREQUÊNCIA CARDÍACA*	PRESSAO DE PULSO*
I	119±5	63±4	257±16	52±7
II	109±6	59±7	269±15	49±6
III	171±12‡	87±10‡	339±25‡	84±12‡
IV	169±9‡	91±7‡	344±14‡	78±7‡

*Med/Des Pad mmHg

‡ P<0,05

As diferenças entre os grupos, com e sem nefrectomia, alcançaram significância estatística ($p < 0,05$). O conjunto de parâmetros hemodinâmicos desses grupos caracterizou um estado de estresse hemodinâmico incrementado (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Variáveis hemodinâmicas por grupos associados

* Med/Des Pad mmHg ($P < 0,05$)

Serie 1: Grupos sem nefrectomia ou sobrecarga de Na^+

Serie 2: Grupos com nefrectomia e sobrecarga de Na^+

5.2 Resultados histopatológicos

O tipo de remodelamento do ápice da bifurcação aórtica foi comparado entre os grupos e analisado mediante tabela de contingência e prova de χ^2 . As diferenças entre os grupos, com e sem modificação do ângulo de bifurcação, alcançaram significância estatística ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2- Tipo de remodelamento por grupo

GRUPO	REMODELAMENTO HIPERTRÓFICO	REMODELAMENTO INFLAMATÓRIO	REMODELAMENTO ANEURISMÁTICO
I	-	-	-
II [†]	+	+	-
III	+	±	-
IV [†]	+	+	+

(-): Característica ausente

(+): Característica universal

(±): Característica encontrada em <50% dos casos

†: P<0,05

Tabela 3- Características experimentais por grupo

GRUPO	ESTRESSE HEMODINÂMICO INCREMENTADO	ÂNGULO DE BIFURCAÇÃO MODIFICADO	DILATAÇÃO ANEURISMÁTICA
I	-	-	-
II	-	+	-
III	+	-	-
IV	+	+	+

(-): Característica ausente

(+): Característica presente

Tabela 4- Aneurismas por grupo

GRUPO	ÁREAS DE ENFRAQUECIMENTO	EVAGINAÇÕES MICROSCÓPICAS	DILATAÇÃO ANEURISMÁTICA
I	-	-	-
II	80%	60%	-
III	-	-	-
IV	100%	100%	60%

(-): Característica ausente

Em concordância com os critérios operacionais, macroscópico e histopatológico, seis espécimes (60%) do grupo IV (nefrectomia mais modificação do ângulo de bifurcação) desenvolveram dilatações aneurismáticas do ápice da bifurcação aórtica (Tabela 4/Figura 6).

Figura 6– Aneurisma do ápice da bifurcação aórtica

Grupo I (Sham Group): no grupo controle a estrutura da bifurcação aórtica, longe do ápice ou divisor de fluxo, apresenta uma estrutura similar e contínua com as três camadas que formam a parede arterial dos segmentos longitudinais (Figura 7).

Figura 7- Parede arterial normal

Três camadas formam a parede arterial (H&E, Masson e Verhoeff x 20). As fibras elásticas são refringentes à técnica de Masson e as fibras colágenas vermelhas à técnica de Verhoeff.

Assim, a parede arterial caracteriza-se por uma camada íntima composta por uma linha contínua e regular de endotélio que cobre uma bem desenvolvida camada de fibras elásticas. A camada média encontra-se constituída de células musculares lisas, de fibras elásticas e de fibras de colágeno esparsas. A camada adventícia, por sua vez, compõe-se de fibras de colágeno, de células adiposas e de *vasa vasorum* (Figura 8).

Figura 8– Camada adventícia normal

Na camada adventícia da bifurcação aórtica são prominentes as fibras de colágeno, as células adiposas e os *vasa vasorum* (Verhoeff x 10).

Caracteristicamente, a camada média é contínua com a adventícia, encontrando-se ausente a lâmina elástica externa. Na região do ápice, por sua vez, existe uma área de transição proximal ao divisor de fluxo que demonstra camadas de músculo liso de orientação aleatória e multiaxial (Figura 9).

Figura 9–Corte transversal do ápice da bifurcação aórtica

Camadas de músculo liso de orientação aleatória e multiaxial no ápice da bifurcação (H&E x 5).

Finalmente, a região do divisor de fluxo é estruturalmente homogênea com o resto da parede arterial (Figura 10).

Figura 10– Corte axial do ápice da bifurcação aórtica

No divisor de fluxo encontra-se ausente a lâmina elástica externa. A região é estruturalmente homogênea com o resto da parede arterial da bifurcação (H&E x 10).

Grupo II (ângulo de bifurcação modificado): neste grupo é possível reconhecer o aplanamento do ápice da bifurcação (Figura 11), a fratura do divisor de fluxo com trombose organizada da face luminal (Figura 12), a desorganização da camada endotelial com soluções de continuidade, protrusões e hiperplasia da íntima (Figura 13), perda da camada de fibras elásticas, neo-vascularização da camada íntima e média com hemorragia intra-parietal (Figura 14), inclusões de colesterol e calcificação em placas (Figura 15), desorganização da camada média, infiltrado inflamatório (Figura

16), perda de células musculares, áreas de afilamento da parede arterial (Figura 17) e hialinização por depósito de colágeno.

Figura 11– Aplanamento do ápice da bifurcação

É possível reconhecer o aplanamento do ápice da bifurcação e desorganização da camada média com perda da camada de fibras elásticas (Verhoeff x 20).

Figura 12–Fratura do ápice com trombo organizado

Verifica-se desorganização da camada endotelial e solução de continuidade da camada média além hiperplasia da íntima e fibrose da adventícia (H&E x20).

Figura 13– Hiperplasia da íntima

É possível reconhecer a fratura do divisor de fluxo, desorganização da histo-arquitetura da parede arterial associada à intensa resposta inflamatória, hiperplasia da íntima e neovascularização (H&E x 10).

Figura 14 - Neovascularização com hemorragia

Corrobora-se a desorganização da superfície luminal, intensa hiperplasia da íntima, neoformação vascular e infiltrado inflamatório difuso (H&E x 20).

Figura 15— Placa de colesterol e calcificação

Placa de inclusão (similar à placa de ateroma) da camada média composta por fibrose e infiltrado inflamatório associada à calcificação da íntima (H&E x 40).

Figura 16 - Infiltrado inflamatório

Manguito perivascular inflamatório da adventícia. Intenso infiltrado mononuclear (H&E x 40).

Figura 17– Afilamento da parede

Desorganização da histo-arquitetura da parede arterial. Perda total da camada média e substituição fibrosa mediada por intensa reação inflamatória (Verhoeff x 20).

Neste grupo a fragmentação da lâmina elástica interna, a hiperplasia da íntima e a degeneração da média foram características universais. A proliferação da íntima caracteriza-se pelo desaparecimento da camada média entre o endotélio, ou remanescentes da lâmina elástica interna, e a adventícia. Nessa desaparece a estrutura normal da parede arterial acompanhando-se de neo-vascularização e proeminente infiltrado inflamatório. A neo-vascularização se apresentou de forma exclusiva nos locais com extensa hiperplasia da íntima e de maneira incidental se acompanhou de hemorragia intramural.

As alterações da camada de fibras elásticas e média se apresentaram com maior frequência na região adjacente ao ápice da bifurcação, respeitando o divisor de fluxo. Contudo, em um espécime, a fratura do próprio divisor de fluxo é facilmente reconhecível e se caracteriza morfológicamente como uma fenda com perda abrupta das células musculares e fibrose da adventícia.

As áreas de afilamento se caracterizam pela perda grosseira de todos os elementos da parede arterial. As protuberâncias da íntima, por seu turno, caracterizam-se por evaginações da parede onde todos os componentes da parede se encontram reduzidos, porém apresentam lâmina elástica fragmentada e desorganização da camada média. Ambas apresentam-se distais ao divisor de fluxo.

As maiores alterações do endotélio acontecem distais ao divisor de fluxo, porém próximas à hiperplasia da íntima do ápice e se associam a regiões de inflamação, da face luminal da parede arterial. Portanto, a inflamação se associa à destruição dos componentes da parede.

Placas de cristais de colesterol e calcificação apresentam-se como espessamentos focais assimétricos da íntima e da média e encontram-se rodeados de células inflamatórias e de restos celulares. Essas placas se encontram associadas à proliferação da íntima e sua localização preferencial foi a parede arterial oposta ao divisor de fluxo.

As características histológicas deste grupo podem ser catalogadas como remodelamento destrutivo da região da bifurcação que condiciona degradação progressiva de todas as estruturas que conformam a parede. Tal padrão se acompanha de dados de inflamação crônica e notório aumento do conteúdo de colágeno com diminuição associada da elastina, o que determina fibrose substitutiva da matriz extracelular, além da perda de células musculares lisas e neo-vascularização. O conjunto das alterações estruturais da parede do ápice da bifurcação deste grupo caracteriza-se por remodelamento inflamatório destrutivo.

Grupo III (grupo de nefrectomia esquerda mais oclusão da artéria renal inferior direita): encontrou-se significativa expansão da espessura da camada média secundária à hipertrofia das células musculares lisas e do depósito de colágeno (Figura 18), além de dados de proliferação da íntima, hialinose sub-endotelial, infiltração inflamatória, deformação e erosão da camada endotelial.

Figura 18– Hialinose do ápice (Masson x 20)

Hialinização por depósito de colágeno da camada média. Verifica-se intensa substituição de células musculares lisas (Masson x 20).

O conjunto das alterações estruturais da parede do ápice da bifurcação deste grupo caracteriza-se por remodelamento hipertrófico compensatório.

Grupo IV (grupo de nefrectomia esquerda, oclusão da artéria renal inferior direita e ângulo de bifurcação modificado): este grupo se caracteriza por intenso remodelamento inflamatório, com lesões aneurismáticas (Figura 19), do ápice da bifurcação.

Figura 19– Aneurisma do ápice da bifurcação

Corte transversal da bifurcação aórtica. Verifica-se lesão aneurismática constituída por tecido fibroso acelular, trombose intramural e regiões alternas de engrossamento e afinamento parietal (H&E x 5).

Alterações morfológicas do endotélio se encontram universalmente presentes, assim como infiltrado inflamatório. No caso das lesões aneurismáticas, a lâmina elástica interna e a camada média se encontram ausentes. Entretanto, existem algumas depressões do ápice nas quais a lâmina elástica encontra-se adelgada, fragmentada ou parcialmente ausente. Esses resultados indicam que o sítio de desenvolvimento das lesões coincide com o sítio de degeneração da elástica interna.

Como ocorrido com o grupo II (modificação do ângulo), este grupo apresenta fragmentação da lâmina elástica interna e hiperplasia da íntima, neo-vascularização da íntima hiperplásica, hemorragia intramural e trombose da luz, porém, a fragmentação da lâmina elástica e a hiperplasia da íntima foram maiores nos espécimes com aneurismas macroscópicos. Assim, as características universais incluem fragmentação e perda da lâmina elástica

interna, substituição inflamatória da camada média e hiperplasia da íntima. Contudo, o desenvolvimento aneurismático difere de um espécime para outro. Dessa forma, as paredes das lesões aneurismáticas apresentam diversidade morfológica incluindo paredes engrossadas com perda e desorganização de toda a estrutura normal da parede arterial (Figura 20) ou paredes adelgadas, quase acelulares, porém com hiperplasia da íntima e trombose organizada (Figura 21). Nelas, a infiltração inflamatória da parede, a perda de músculo liso, a fibrose e a denudação endotelial são constantes.

Figura 20– Desorganização estrutural da parede arterial

Desarranjo histo-arquitetônico da parede arterial. Fragmentação e perda da lâmina elástica, substituição fibro-inflamatória da camada média e hiperplasia da íntima (Masson x 5).

Figura 21– Aneurisma do ápice da bifurcação

Corte axial da bifurcação aórtica que demonstra lesão aneurismática do divisor de fluxo, hiperplasia da íntima, dissecção com trombose da camada média e fibrose parietal (Verhoeff x5).

Assim, a estrutura da parede aneurismática varia de uma membrana fibrosa simples até paredes engrossadas com alterações severas que lembram o processo fibroproliferativo da aterosclerose (Figura 22). O conjunto das alterações estruturais da parede do ápice da bifurcação deste grupo caracteriza-se por remodelamento aneurismático.

Figura 22– Remodelamento inflamatório fibroproliferativo

Verifica-se hiperplasia da íntima, infiltrado inflamatório e neovascularização com hemorragia parietal (Massonx20).

5.3 Angiografia rotacional e reconstrução tridimensional da bifurcação aórtica.

Os resultados da avaliação angiográfica demonstram que a morfologia da bifurcação do espécime do grupo controle se mantém sem modificações aparentes durante o período de seguimento (Figura 23).

Figura 23– Reconstrução 3D da bifurcação aórtica

A bifurcação aórtica do grupo controle demonstra ausência de dados de remodelamento arterial com preservação da morfologia do divisor de fluxo.

Entretanto, o espécime do grupo de nefrectomia esquerda mais oclusão da artéria renal inferior direita apresenta dados de remodelamento longitudinal com tortuosidade e alongamento do tronco e ramos que conformam a bifurcação (Figura 24). Já o espécime do grupo com modificação do ângulo de bifurcação apresenta estenose proximal e dilatação incipiente da região do ápice da bifurcação em um padrão descrito como *blister-like* (Figura 25). Finalmente, o espécime do grupo de nefrectomia esquerda, oclusão da artéria renal inferior direita e modificação do ângulo de bifurcação, demonstra estenoses múltiplas e irregulares da

porção proximal e distal ao divisor de fluxo, assim como dilatação aneurismática do ápice do mesmo (Figura 26).

Figura 24 - Remodelamento longitudinal dos ramos da bifurcação

Reconstrução 3D que demonstra alongamento das artérias ilíacas primitivas. Contudo, preservação da morfologia da região do divisor de fluxo.

Figura 25 - Aneurisma *blister like*

Reconstrução 3D que demonstra estenose aórtica proximal ao divisor de fluxo e remodelamento longitudinal das artérias ilíacas primitivas. Assim como remodelamento aneurismático do divisor de fluxo.

Figura 26 - Estenoses múltiplas da bifurcação aórtica

Reconstrução 3D que demonstra perda da morfologia normal do divisor de fluxo com estenose da origem das artérias ilíacas primitivas além de remodelamento aneurismático do ápice da bifurcação.

6 DISCUSSÃO

6.1 Estresse hemodinâmico

A pressão arterial, a frequência cardíaca e a pressão de pulso entre os grupos, com e sem nefrectomia, mostraram diferenças com significância estatística. Comparando os valores médios da pressão sistólica, diastólica e média, da frequência cardíaca e da pressão de pulso desses grupos, os resultados demonstram que é possível incrementar permanentemente a carga hemodinâmica. Contudo, a homogeneidade das variáveis entre os grupos com nefrectomia impede estabelecer sua significância particular no desenvolvimento da lesão aneurismática. Por um lado, isso significa que o modelo renogênico de hipertensão arterial com sobrecarga de sódio é altamente reproduzível, o que concorda com o reportado pela literatura (Perloff, 1961; Lowe e Singelyn, 1965; Hashimoto et al, 1978; Fazan et al., 2001). Por outro lado, permite agrupar as alterações hemodinâmicas em uma variável categórica que, quando comparada com o ângulo de bifurcação, torna evidente o caráter multifatorial da progressão da lesão aneurismática (Tabela 3).

Selecionamos a bifurcação aórtica, visto que representa a maior das bifurcações e, do ponto de vista cirúrgico, a mais acessível do modelo murino. Para incrementar os efeitos do estresse hemodinâmico, optamos pelo modelo de hipertensão arterial renogênica e sobrecarga de sódio, pois, como demonstram os resultados deste estudo, esse modelo se caracteriza pelo desenvolvimento de grandes pressões parietais e a indução de um estado hiperdinâmico, onde os incrementos da frequência e do débito cardíaco equivalem a um aumento da taxa de fluxo sobre todo o sistema vascular e, portanto, da frequência de choque da coluna de fluxo sobre o ápice das bifurcações. Da mesma forma, ao incrementar a pressão de pulso, a parede vascular é submetida à maior distensão entre as etapas diastólica e sistólica do ciclo de fluxo pulsátil (estresse pulsátil).

Aneurismas e hipertensão coexistem em uma alta porcentagem de casos e dados de múltiplos de estudos (De la Monte et al., 1985; Erbengi e Inci, 1997; Inci e Spetzler, 2000) indicam que a hipertensão é um fator de risco no desenvolvimento da doença aneurismática. Desse modo, doenças hipertensivas como coarctação de aorta, displasia fibromuscular de artérias renais e feocromocitoma encontram-se associadas com um risco aumentado de hemorragia aneurismática (Matson, 1965; Sarner, 1965; Palubinskas, 1966; Belber, 1968; Patel, 1971; Bliznak, 1974; Fukuda, 1985; DeSouza, 1986; Ouchi, 1989; Erbengi, 1997).

Tem sido demonstrado que o incremento da pressão arterial altera as funções celulares básicas, incluindo a síntese e a degradação da matriz extracelular, assim como proliferação, migração e apoptose. Portanto, a

hipertensão induz e exacerba mudanças na estrutura dos vasos condutores e de resistência. Hu (2007) reportou mudanças na rigidez estrutural e material da artéria basilar durante a hipertensão. Seu estudo histológico, em concordância com os resultados deste estudo, revelou o incremento do colágeno na camada média e adventícia, assim como do músculo liso, que se traduz como diminuição da distensibilidade para todo nível de pressão¹.

As propriedades mecânicas da parede arterial estão determinadas por seu conteúdo de elastina, colágeno, razão elastina/colágeno e células musculares lisas (Susic, 1997). Consequentemente, toda mudança na composição estrutural da parede altera sua resposta mecânica. A síntese de elastina por parte das células musculares lisas é estimulada por oscilações da parede arterial (Dobrin, 1989) e a hipertensão atenua essas oscilações secundariamente ao desenvolvimento de rigidez estrutural e material. Desse modo, a rigidez material, que se caracteriza pelo aumento do conteúdo de colágeno e pela diminuição da elastina, alterando a razão elastina/colágeno, provoca o enfraquecimento da parede. Isso pode ser observado no ápice das bifurcações do grupo de nefrectomia. Nesse grupo, as bifurcações demonstram perda da lâmina elástica com hialinização por depósito de colágeno.

Em concordância com nossos resultados, o engrossamento da parede arterial aórtica em modelos murinos de hipertensão se acompanha de marcada proliferação da íntima, contudo essa resposta não está presente na

¹ A rigidez estrutural pode ser definida pela relação pressão/deformação e a rigidez material como a relação estresse/estiramento. A rigidez estrutural se relaciona com as alterações da espessura da parede e é a rigidez que resiste à pressão de distensão in vivo. Por sua vez, a rigidez material representa o comportamento dos materiais que constituem a parede.

artéria basilar do modelo de Hu (2007), no qual o engrossamento da parede depende exclusivamente do depósito de colágeno e da proliferação de músculo. Nesse estudo, os gráficos de estresse circunferencial/estiramento, que indicam o grau de rigidez material, mostraram um aumento significativo durante a hipertensão. Contudo, o estresse médio da parede é similar entre os modelos hipertensos e os controles normotensos. Isso se deve em parte ao incremento da espessura da parede arterial nos espécimes com hipertensão, o que resulta em um menor raio interno e, portanto, em uma menor relação raio/espessura. Desse modo, a lei de Laplace prediz a diminuição da tensão da parede e, portanto, as adaptações da parede (remodelamento) tendem a restaurar o estresse circunferencial aos seus níveis normais. Resultados similares, entretanto, não se aplicam ao estiramento circunferencial, já que os vasos são sensivelmente menos distensíveis que os vasos normais. Portanto, o remodelamento induzido pela hipertensão não consegue fazer voltar à normalidade os valores da rigidez estrutural. Paralelamente, a rigidez estrutural rege os padrões hemodinâmicos e, apesar da normalização do estresse da parede, espera-se que os padrões de fluxo se mantenham alterados.

Hajdu (1994) observou que a hipertensão se caracteriza por deteriorar a resposta vasodilatadora (aumento da rigidez), além de promover proliferação da íntima e apoptose de células musculares lisas perante aumentos na taxa do fluxo, como pode ser comprovado pelos resultados do grupo de nefrectomia. No mesmo sentido, a proliferação da íntima e a perda

celular representam os processos mais evidentes no desenvolvimento das lesões aneurismáticas do grupo experimental IV.

Se a hipertensão desempenha algum papel na patogênese da doença aneurismática, deve-se esperar que a gravidade da doença se associe aos níveis de pressão. De fato, em humanos, aneurismas múltiplos e hipertensão apresentam correlação (Andrews, 1979; Ostergaard, 1985; Rinne, 1994; Erbenji, 1997; Qureshi et al., 1998; Inci, 2000) e os estudos experimentais de Hashimoto (1987) confirmam a associação encontrada nos estudos clínicos. Similarmente, nossos resultados demonstram que o desenvolvimento de hipertensão foi condição necessária para a gênese das lesões aneurismáticas. Isso esclarece o papel catalisador que a hipertensão desempenha no processo de fadiga aneurismática do ápice da bifurcação. Contudo, apesar de sua alta prevalência, a maioria dos pacientes portadores de aneurismas não apresenta hipertensão sistêmica e, em nossos modelos, assim como no estudo de Hashimoto, a presença de hipertensão é insuficiente para a gênese das lesões aneurismáticas. Logo, os dados sugerem fortemente que a hipertensão participa da progressão da lesão aneurismática, porém possivelmente não esteja relacionada com seu início. No entanto, os mecanismos fisiopatológicos mediante os quais a hipertensão reforça a progressão das lesões aneurismáticas são desconhecidos. A esse respeito, Inci (2000) propõe três prováveis mecanismos, a saber: lesão endotelial, oclusão de *vasa vasorum* e desequilíbrio da síntese de elastina/colágeno.

A lesão endotelial pode ser considerada o fator-chave do início, do crescimento e da ruptura das lesões vasculares e a hipertensão representa uma das principais causas de lesão endotelial (Clowes, 1980; Hashimoto, 1993). Desse modo, a hipertensão promove a infiltração inflamatória, gera edema das células endoteliais (Susic, 1997), incrementa a taxa de replicação e a permeabilidade (Gabbiani, 1979). Fry (1967) demonstrou que o incremento agudo do estresse axial, secundário ao aumento da velocidade de fluxo, durante a hipertensão provoca deterioração significativa da superfície endotelial com edema citoplasmático, deformação celular e erosão da camada endotelial.

A hiperplasia da íntima constitui o principal mecanismo de reparo à lesão endotelial (Clowes, 1980). Apesar disso, tal engrossamento, teoricamente, pode deteriorar a difusão de nutrientes da luz para a camada média e contribuir com a falha estrutural da parede ou limitar a resposta adaptativa à lesão. Nesse sentido, alterações da camada elástica interna e lesão isquêmica da média podem ser observadas em modelos experimentais de hipertensão (Kim, 1992).

Por seu turno, Connolly (1996) comprovou de maneira definitiva a existência de *vasa vasorum* na parede das artérias cerebrais. Portanto, acredita-se que a adventícia e a porção externa da camada média recebem nutrientes da *vasa vasorum*. Entretanto, a íntima e a porção interna da camada média dependem da difusão a partir do lúmen arterial. Dessa forma, a porção intermediária da camada média é uma região sensível à isquemia por oclusão de *vasa vasorum*. O estudo de Ohhira (1992), que avaliou os

efeitos da pressão aórtica na *vasa vasorum*, encontrou que incrementos na pressão arterial maiores do que 150 mmHg comprimem a *vasa vasorum*, aumentando sua resistência e Marcus (1985) evidenciou que a capacidade da *vasa vasorum* para dilatar-se e aumentar o fluxo sanguíneo à parede encontra-se notavelmente diminuída em modelos de hipertensão. Finalmente, Nakata (1966) demonstrou que a interrupção desses vasos causa diminuição da perfusão local da parede arterial com consequente isquemia e necrose da média e Scanarini (1978) observou que as mudanças isquêmicas presentes na parede dos aneurismas cerebrais se caracterizam por desarranjo da lâmina elástica interna, pela perda de células musculares lisas e pela fibrose substitutiva. Todas essas características foram observadas no grupo experimental que desenvolveu lesões aneurismáticas deste estudo. Quer dizer, disfunção endotelial, hiperplasia da íntima e oclusão da *vasa vasorum* secundárias à hipertensão participam do enfraquecimento da parede arterial e a torna suscetível a dilatação. Em conjunto, tais eventos justificariam a promoção do crescimento das lesões aneurismáticas do grupo experimental IV e sua contenção no grupo de modificação do ângulo.

Sabe-se que Angiotensina II (ANG-II) afeta os padrões hemodinâmicos, estimula o recrutamento de células inflamatórias, a ativação de macrófagos e o estresse oxidativo (Dzau et al., 1994). Ainda mais, no modelo experimental de aterogênese de Daugherty (2000), a infusão de ANG-II em um modelo murino *apoE* ^{-/-} provocou a formação não esperada de aneurismas abdominais em 33% de seus espécimes. Torii (2006), por

sua vez, estudou os efeitos da hipertensão sobre a parede aneurismática mediante modelos computacionais (CFD) e encontrou que o comportamento da interação fluxo-estrutura sob hipertensão é sensivelmente diferente da interação com pressões normais. Descobriu, ainda, que a velocidade de fluxo e o estresse axial que atuam sobre a parede aneurismática são significativamente afetados pela hipertensão, corroborando que essa influencia o crescimento aneurismático e promove o dano crônico dos tecidos da parede. Isso sugere que as mudanças hemodinâmicas e bioquímicas decorrentes da hipertensão renogênica resultam essenciais na progressão das lesões aneurismáticas deste modelo experimental. Resumindo, a hipertensão participa do desenvolvimento da lesão aneurismática, reforçando os mecanismos de lesão endotelial, a degeneração da elástica e da camada média, promovendo a inflamação, isquemia e a aterosclerose da parede arterial.

Estudos epidemiológicos demonstram que a sobrecarga de sódio incrementa as cifras da pressão arterial e a morte por doença vascular cerebral, incluindo a secundária à hemorragia aneurismática (Walker AE, 1981; Ostergaard, 1989b; Bonithon-Kopp, 1991; Simpson, 1991; Linn FH II, 1996). No estudo de Zhang (2008), a sobrecarga de sódio em modelos murinos hipertensos provocou inesperadamente a formação de aneurismas cerebrais. Sua análise estatística demonstra, de modo igual aos nossos resultados, que a sobrecarga hemodinâmica secundária à ingestão reforçada de sódio contribui para o aumento da pressão arterial, da pressão de pulso e da frequência cardíaca. Contudo, também promove as

concentrações das moléculas pró-inflamatórias, especialmente IL-6 e ANG-II. Esse incremento se relacionou significativamente com o desenvolvimento das lesões aneurismáticas. Nos locais de desenvolvimento das lesões aneurismáticas apresentou-se infiltrado inflamatório leucocitário e estudos experimentais indicam que a hipertensão e a ingestão de sódio promovem o aumento da atividade de elastase leucocitária na parede arterial (Todorovich-Hunter et al., 1988; Zhang et al., 2008; Wang et al., 2009).

Durante o envelhecimento, os modelos murinos apresentam aumento da rigidez aórtica (incremento do módulo elástico) e ampliação da pressão de pulso, sem qualquer aumento da pressão arterial diastólica, caracterizando um quadro de hipertensão sistólica pura (Wolinsky, 1972; Safar e Laurent, 2003). Isso confirma que as propriedades elásticas da aorta se modificam com a idade. Essas alterações são secundárias à modificação das proporções relativas do músculo liso, elastina e colágeno. Nesse sentido, ANG-II e a sobrecarga de sódio estimulam a produção de colágeno independentemente dos níveis de pressão arterial (Labat, 2001). Tobian (1991) comprovou em modelos murinos que a dieta com alto conteúdo de sódio está associada ao desenvolvimento de fibrose da matriz extracelular e pronunciadas modificações da estrutura das artérias cerebrais, quando comparadas com a dieta normal. Portanto, é possível supor que a dieta suplementada com sódio participe na degeneração aneurismática da bifurcação aórtica deste modelo, pois, apesar de encontrar lesões precursoras de dilatação aneurismática no grupo com modificação do ângulo de bifurcação, lesões aneurismáticas macroscópicas se desenvolveram

exclusivamente no grupo experimental com hipertensão renogênica, sobrecarga de sódio e modificação do ângulo de bifurcação.

Sabe-se que o remodelamento das grandes artérias está relacionado à fadiga das fibras elásticas submetidas a estresse cíclico (Ferguson, 1972a; Humphrey, 2002; Fung, 2004; Chatziprodromou et al., 2007). O estresse pulsátil, por sua vez, depende do coeficiente de reflexão das ondas de pressão e do estado de rigidez da parede vascular (Li, 1986; Westerhof et al., 2005a,b). Portanto, a desorganização da camada de fibras elásticas, que apresenta fragmentação e fibrose, tal como visto nos resultados deste estudo, é um sinal de falha mecânica e fadiga material associado à pressão de pulso aumentada e à rigidez que a hipertensão determina.

Duncan (1990) estudou os efeitos da complacência aórtica no estresse axial, mostrando que a pulsatilidade da parede diminui as taxas de estresse. Desse modo, o estresse se concentra no ápice do divisor de fluxo, pois a distensão da parede é menor e o aumento do diâmetro e da velocidade de onda de pulso encontram-se em fase. Nesse estudo, o movimento do ápice da bifurcação foi menor do que 1,5% da dimensão da luz, ao passo que nas paredes laterais alcança 10,8%.

Ao analisar a curva de pressão arterial adverte-se que essa pode dividir-se em dois componentes: um componente contínuo de pressão arterial média e um componente pulsátil de pressão de pulso (Safar e Laurent, 2003). Assim, devido à propagação da onda de pressão e à soma de ondas propagadas e refletidas, a pressão de pulso é maior em artérias periféricas quando comparadas com artérias centrais (Westerhof et al.,

2005a,b). Contudo, em modelos murinos tem-se demonstrado que existe significativo aumento da pressão de pulso em artérias centrais (Tsoucaris-Kupfer, 1993; Tsoucaris, 1995). Conseqüentemente, em modelos murinos a pressão de pulso central incrementa com a idade e, ainda mais rapidamente, em ratos hipertensos (Li J., 1996). Logo, se os efeitos do estresse cíclico dependem do número de ciclos e da amplitude do estresse, então, o aumento da idade, da frequência cardíaca e da pressão de pulso, observados no grupo experimental (que correspondem respectivamente ao aumento do número de ciclos e da amplitude do estresse pulsátil), contribuem para a fadiga material e mecânica das artérias. Desse modo, o desenvolvimento da lesão aneurismática representa do ponto de vista biomecânico, a falha mecânica da parede arterial secundária à fadiga material.

Como posteriormente discutido, a bifurcação aórtica do modelo murino pode ser extrapolada a alguns segmentos da circulação cerebral humana. Contudo, nos modelos murinos, ainda considerando fatores de correção, tamanho, frequência cardíaca e fração de ejeção não se aplicam ao sistema circulatório humano e, portanto, espera-se que os níveis de estresse axial sejam diferentes (Tsoucaris et al., 1993, 1995). De fato, as taxas de estresse axial no modelo murino são maiores, pois sua taxa metabólica relativa também é maior e isso demanda taxas de fluxo relativamente mais altas (Li, 1996). Desse modo, o estresse axial da aorta do modelo murino é aproximadamente 10 vezes maior ($>100 \text{ dys/cm}^2$), se comparado ao estresse axial da aorta humana (10 dys/cm^2). Apesar disso, essa diferença

na magnitude de estresse axial faz do modelo murino um modelo útil na avaliação da participação das forças hemodinâmicas na degeneração aneurismática das bifurcações, pois essas condições hemodinâmicas resultam similares àsquelas presentes no complexo comunicante anterior humano (Cieslicki 2005; Li, 1996; Suo, 2007).

Não obstante a isso, nem a hipertensão, nem o estresse axial, individualmente ou em conjunto, podem explicar as condições hemodinâmicas que dão origem ao desenvolvimento da lesão aneurismática (Stehbens, 2000; Gleason e Humphrey, 2005). Hipertensão e estresse axial disparam o remodelamento da parede (Gibbons e Dzau, 1994), mas o remodelamento é uma resposta adaptativa que ao longo do tempo tende a restaurar os níveis de estresse ao seu valor homeostático, minimizando as alterações dentro da parede arterial (Girerd et al., 1996). De maneira contrária, a morfologia da parede aneurismática é completamente diferente da parede normal. Os resultados deste estudo demonstram que o remodelamento inflamatório que dá origem às lesões aneurismáticas se caracteriza por soluções de continuidade da camada endotelial, por perda completa da elástica, por hiperplasia da íntima e por destruição notável da camada média. Portanto, o desenvolvimento da lesão aneurismática parece estar relacionada a um ambiente hemodinâmico mais complexo que o simplesmente estabelecido pelo aumento do fluxo ou do estresse axial.

Assim sendo, os padrões de fluxo alterado presentes na aterosclerose, trombose e inflamação podem estar implicados na gênese aneurismática (Becker et al., 2001; Honda et al., 2001; Hansson et al., 2006).

Especificamente, por padrões de fluxo alterado entende-se a presença de fluxos re-circulantes com zonas de separação e turbilhões, quer dizer, fluxos secundários não axiais (Zamir, 2000). Esses padrões de fluxo têm como característica um elevado gradiente espaço-temporal do estresse axial e tem sido comprovado que tal gradiente é o estímulo hemodinâmico primário que dispara as modificações da expressão genética que caracterizam a aterosclerose e a inflamação vascular (Hashimoto, 2006). Desse modo, a associação do estresse axial elevado, alta pressão hidrostática e gradientes espaço-temporais alterados do estresse axial induzem a formação aneurismática. O papel crítico que essa associação desempenha na formação aneurismática tem sido demonstrado em modelos animais por Hashimoto (78,79a,80,87,93) e pelos resultados deste trabalho, nos quais é possível comprovar que a resposta inflamatória crônica é uma característica central no remodelamento patológico da parede arterial. Deste modo, apesar de o remodelamento representar um processo adaptativo para normalizar os níveis de estresse, o desenvolvimento da lesão aneurismática representa o fracasso no restabelecimento das condições homeostáticas da parede arterial diante do insulto hemodinâmico e nossos resultados demonstram que a inflamação desempenha um papel central nesse fracasso.

6.2 Ângulo de bifurcação

Para perfundir os leitos vasculares orgânicos e satisfazer as demandas metabólicas dos mesmos, o sistema vascular se constrói como uma rede de

vasos que se ramificam. Isso permite uma distribuição espacial e temporal de nutrientes e a remoção dos produtos do metabolismo de maneira eficiente (LaBarbera, 1990). Por isso, a principal característica estrutural da árvore vascular é a bifurcação (Zamir, 1979, 1982a,b, 1984, 2000; Mayrovitz 1983). As bifurcações variam em forma e tamanho e essas diferenças geométricas influenciam decisivamente nos padrões de fluxo (Ford et al., 2008). Por sua vez, as ramificações das grandes artérias encontram-se desproporcionalmente envolvidas na patologia vascular, se comparadas com o resto da árvore vascular (Van de Vosse, 2003). Assim sendo, a localização específica do desenvolvimento da doença aneurismática tem sido relacionada com as alterações do estresse axial que caracterizam esses pontos (Fukuda et al., 2000; Sadamasa, 2003; Meng et al., 2007). Os resultados deste estudo indicam que a mudança geométrica da bifurcação constitui uma forma simples de alterar o estresse da parede arterial e, portanto, seu remodelamento. Os aneurismas obtidos não se desenvolveram como resultado da força física ou mecânica do jato de sangue, pois se encontram ausentes no grupo de nefrectomia esquerda mais oclusão da artéria renal inferior direita. O desenvolvimento dos aneurismas decorreu da interação das forças hemodinâmicas locais com a geometria da parede, o que condiz com os resultados de Fukuda (2000) e Meng (2007).

Simulações computacionais tridimensionais têm mostrado que o raio de curvatura, o ângulo de bifurcação e a razão de área dos ramos da bifurcação estão diretamente relacionados com o estresse da parede arterial (Wootton

e Ku, 1999; Ford et al., 2008; Taylor e Humphrey, 2009). Entretanto, o ângulo de bifurcação tem recebido pouca atenção.

Richter (2004) demonstrou que existem interações entre as diferentes regiões que formam a bifurcação vascular. Desse modo, toda alteração da geometria de ramificação introduz, no padrão de fluxo arterial, distúrbios que afetam diferentemente as distintas áreas que formam a bifurcação. A mais importante e melhor estudada dessas alterações é a formação de uma área de separação de fluxo que começa no ponto de estagnação do divisor de fluxo e termina onde o fluxo volta a se reunir com a parede arterial. Entre esses pontos, o fluxo tem uma direção retrógrada, criando padrões de recirculação em redemoinho e tem sido comprovado que a região da parede vascular em relação com a região de separação do fluxo, onde os gradientes espaço-temporais de estresse axial são elevados, sofre de remodelamento patológico (Arner e Uvelius, 1982; Bonert et al., 2003; Brooks, Lelkes, e Rubanyi, 2004). Nessas áreas, a infiltração leucocitária da parede é proeminente, dado que o baixo estresse axial outorga condições ideais para a adesão (Becker et al., 2001; Fung, 2004). Portanto, pode-se esperar que no ponto de estagnação a infiltração leucocitária seja maior. Um dos efeitos da modificação do ângulo de bifurcação neste modelo é que para todo aumento do ângulo pode se esperar um incremento da área de estagnação, o que provavelmente participa da intensa resposta inflamatória observada nos grupos com modificação do ângulo.

Ingebrigtsen (2004) reportou que variações consideráveis do ângulo ótimo de bifurcação, ou geometria vascular teoricamente desfavorável,

poderiam participar da gênese das lesões aneurismáticas. Nesse relato, encontraram-se diferenças estatisticamente significativas entre os ângulos ótimos calculados e os ângulos observados nas bifurcações de pacientes portadores de aneurismas, e, a análise estatística multivariada demonstrou que somente os ângulos de bifurcação foram preditores independentes da presença de lesões aneurismáticas. No mesmo sentido, Kasuya (1999) e Gonzalez-Darder (2002), utilizando angiotomografia com reconstrução tridimensional, encontraram que os aneurismas da união A1-A2 da artéria cerebral anterior e do complexo comunicante anterior se associam a ângulos significativamente maiores, quando comparados a ângulos contralaterais, sugerindo que na presença de um ângulo maior o complexo da comunicante anterior é exposto a um excesso de carga hemodinâmica, resultado da assimetria dos ângulos de bifurcação dos seus segmentos. Experimentalmente, a importância da geometria vascular no desenvolvimento de lesões vasculares pode ser verificada no estudo de lesões ateroscleróticas de Tateishi (2008). Nesse estudo, as lesões se desenvolveram exclusivamente no grupo cirúrgico, sugerindo que o remodelamento patológico resulta secundário a alterações hemodinâmicas condicionadas pelas modificações da geometria vascular. Finalmente, o estudo prospectivo de Bor (2008), que acompanhou com exames de imagem duas coortes de pacientes, uma que desenvolveu lesões aneurismáticas e outra que serviu de controle, encontrou que amplos ângulos de bifurcação, assim como bifurcações assimétricas, foram estatisticamente associados ao risco de desenvolvimento de aneurismas. Os resultados deste estudo

confirmam que o ângulo de bifurcação é um determinante primário da formação aneurismática, pois o remodelamento inflamatório destrutivo apresenta-se exclusivamente nos grupos com modificações do ângulo. Desse modo, em concordância com Cheng (2006), alterações da geometria da bifurcação representam o mecanismo mediante o qual se determina a seletividade regional da doença aneurismática e aterosclerosa.

Os segmentos vasculares de uma bifurcação usualmente se localizam no mesmo plano. No entanto, a modificação da orientação desse plano, de uma bifurcação à seguinte, produz uma estrutura tridimensional complexa. Ao mesmo tempo, variações na simetria dos ramos da bifurcação fazem das árvores vasculares estruturas não uniformes e assimétricas (Zamir, 1981, 1983). Assim, o sistema vascular é geometricamente complicado, sugerindo que não pode ser quantitativamente explicado por qualquer classe de argumento simples. Porém, segundo Thompson (1992):

A adaptação se manifesta mediante uma filosofia mecânica através da qual a natureza age pelos meios mais simples e cada coisa termina por acomodar-se ao seu meio, tendendo a se desenvolver o melhor dos mundos possíveis.

A idéia de que a natureza persegue a economia em todos os aspectos é um dos mais velhos princípios na ciência teórica e está comprovado que os processos naturais são conduzidos de forma a serem ótimos e/ou econômicos (LaBarbera, 1990; Thompson, 1992; Rosen, 1967). Observando-se o problema do desenho de uma estrutura capaz de realizar alguma tarefa, é possível prever que cada estrutura necessariamente acarreta algum custo. Assim, a solução ótima ou solução econômica é

aquela que satisfaz todas as condições da tarefa com o mínimo de custo. Na natureza, o processo de definir a solução ótima para o desempenho dos órgãos, dos sistemas, dos indivíduos ou das espécies fica a cargo da seleção natural (LaBarbera, 1990; Thompson, 1992; Rosen, 1967). Por sua importância fisiológica, é possível comprovar que o sistema vascular, sob constante pressão da seleção natural, tem mantido constante seu desenho e funcionamento (LaBarbera, 1990) e, portanto, é possível assumir a hipótese de que esse tem sido otimizado. Assim sendo, pode verificar-se (anexo A) que:

- Se uma artéria se bifurca em dois ramos iguais, esses se originam da artéria principal com ângulos iguais.
- Se um dos ramos é de diâmetro menor, o ramo de maior diâmetro que representa a continuação da artéria principal origina-se com um ângulo menor.
- Todos os ramos cujo diâmetro é muito menor que o diâmetro da artéria principal originam-se dela com um ângulo entre 70° a 90° .
- Quão maior seja a distância a cursar pelo ramo, maior será a distância a que ele se origina do tronco da artéria principal. Isto é, a artéria principal aproxima-se o máximo possível até o ponto em que a origem do ramo deverá percorrer o mínimo trajeto possível.

Destarte, pode-se enunciar o princípio de bifurcação (Figura 27): uma bifurcação arterial possibilita que o fluxo de um ponto “A” alcance os pontos “B” e “C” sem necessidade dos ramos “AB” e “AC”, conduzindo o fluxo do

ponto “A” até um ponto “J”, antes de separar-se em dois vasos “JB” e “JC”, satisfazendo a condição de que os ângulos de bifurcação maximizem a eficiência hemodinâmica.

Figura 27- Princípio de bifurcação

Portanto, para otimizar a taxa de energia dissipada, os ramos maiores deverão originar-se do vaso principal com um menor ângulo que os ramos de diâmetro menor. No limite, os ramos de diâmetro muito pequeno se originam com ângulos de 90° e os ramos de diâmetro similar à artéria principal com ângulos próximos de 0° .

Por sua vez, estudos em modelos experimentais (Ferguson, 1972a) demonstram que o número de Reynolds, o qual prediz a probabilidade de fluxo turbulento, é menor para as bifurcações quando comparadas com os segmentos arteriais lineares, é menor para o fluxo pulsátil em comparação com o fluxo contínuo e, é menor quanto maior for o ângulo de bifurcação. Dessa forma, para todo aumento do ângulo de bifurcação é possível esperar um incremento associado do estresse da parede da bifurcação arterial e,

consequentemente, do remodelamento. Os resultados deste trabalho demonstram que modificações não compensadas do ângulo de bifurcação, que traduzem alterações da geometria, são determinantes maiores do remodelamento aneurismático da parede arterial.

No mesmo sentido, resulta evidente que a geometria do ápice da bifurcação, o formato da curvatura e a estrutura da região do divisor de fluxo desempenham funções importantes na distribuição do estresse dentro da região e, portanto, participam da gênese das lesões aneurismáticas. MacFarlane (1983) encontrou que a curvatura interna no nível do ápice da bifurcação, quando pressurizada, aplanase em sua parte central e dá lugar à formação de duas regiões, em forma de ombros, nos locais onde os modelos clínicos e experimentais (Crompton, 1966; Hashimoto et al., 1987; Stehbens, 1989; Shojima et al., 2005), incluindo os resultados deste estudo, têm demonstrado o início do processo aneurismático.

No ápice da bifurcação, a análise da distribuição do estresse não é simples, pois as direções da curvatura interna e externa são de orientação oposta e o raio de curvatura externa é pequeno quando comparado ao raio de curvatura interna (Figura 28). Isso sugere a existência de uma potencial instabilidade estrutural na região da bifurcação (Finlay et al., 1998).

Figura 28

Curvaturas da bifurcação. Adaptado de Finlay et al. 1998

Por sua vez, já que a direção da curvatura interna é positiva e somente os componentes estruturais da parede nessa curvatura atuam para balancear a pressão de distensão, é possível esperar que a pressão de distensão modifique o raio da curvatura externa (MacFarlane, 1983). Assim, a modificação do ângulo nos grupos experimentais deste modelo condiciona que o raio de curvatura interna se aplane tornando-se muito grande, o que favorece a concentração anormal da tensão sobre o ápice. Finalmente, se levarmos em consideração a hipótese de incompressibilidade (o volume da parede permanece constante), a parede deverá diminuir de espessura com todo aumento do raio de curvatura, o que novamente reforça a concentração do estresse sobre o ápice. Portanto, o desequilíbrio geométrico da

bifurcação introduzido pela modificação do ângulo de bifurcação parece catalisar a falha estrutural do ápice da bifurcação².

Por outro lado, Jackson (2002) relatou que mudanças na extensão axial podem induzir crescimento e remodelamento significativos que tendem a restaurar o estresse condicionado pelo estiramento. Consistente com esses resultados, Gleason (2005) encontrou que uma artéria submetida ao estiramento aumenta discretamente o estresse circunferencial e diminui discretamente o raio. Contudo, o estresse longitudinal aumenta exponencialmente de forma secundária a resposta não linear do colágeno da adventícia, que se encontra orientada no mesmo plano axial. O autor comprovou que a taxa de troca celular incrementou notoriamente. Neste estudo, a mudança do ângulo de bifurcação condiciona um aumento do estresse longitudinal não fisiológico, pois a modificação do ponto de ancoramento arterial submete a bifurcação ao estiramento. Isso resulta evidente ao observar o diagrama de corpo livre da bifurcação (Figura 29).

² O parâmetro curvatura é um descritor da forma de uma curva, onde curvatura é definida como o recíproco do raio de curvatura. Assim, para uma curva como um semicírculo, a curvatura e o raio de curvatura são constantes em todas as posições. Entretanto, para uma linha reta, a curvatura é zero e o raio de curvatura é infinitamente grande.

Figura 29

Diagrama de corpo livre da bifurcação

Zhao (2002) demonstrou que a aorta, uma artéria elástica, demonstra ser mais rígida na direção longitudinal quando pressurizada, ao passo que a artéria femoral, uma artéria muscular, quando pressurizada, é mais rígida na direção circunferencial. Portanto, se a razão de estiramento longitudinal é definida como a modificação da longitude do vaso para todo aumento do nível de pressão, tomando-se como referência a longitude no estado de zero-estresse, a razão de estiramento longitudinal da aorta de modelos murinos é de 1,4 e pode ser comprovado que essa razão aumenta ao longo do comprimento da aorta, sendo maior perto da bifurcação aórtica (Li, 1996). A razão é próxima a 1,0 na aorta ascendente e próxima a 1,6 na bifurcação. Logo, quando o vaso é ressecado, é possível notar que diminui sua longitude, sendo a aorta abdominal o segmento que mais retrai. Desse modo, quando a pressão aumenta, a razão de estiramento longitudinal mostra um incremento significativo. Isso sugere que a aorta sofre alongamento e, possivelmente, incremento da curvatura (Zhao et al., 2002).

Esse fenômeno pode ser importante durante a hipertensão, pois o incremento da curvatura é um conhecido fator que concentra o estresse, além de um reconhecido fator aterogênico e, portanto, inflamatório (Zulliger et al., 2002). Isso concorda com a necessidade de reforço do estresse hemodinâmico, mediante hipertensão, na progressão das lesões aneurismáticas condicionadas pela mudança do ângulo de bifurcação deste estudo.

A relação entre o estresse circunferencial e longitudinal é linear dentro de limites fisiológicos de pressão arterial (Fung, 2004; Patel et al., 1974). Entretanto, além desses níveis de pressão, a relação torna-se não linear e, mais importante ainda, aparecem diferenças regionais (Westerhof et al., 2005a,b). Por exemplo, a aorta abdominal, para as mesmas pressões, apresenta um maior estresse e deformação que a aorta torácica (Zhao et al., 2002). Esse comportamento pode ser secundário ao fato da aorta abdominal ter menos restrições por bifurcações, pois está menos ancorada nos tecidos vizinhos. Segundo DeBakey, (1964) isso justificaria a relação entre níveis elevados de estresse e a predisposição da aorta abdominal a desenvolver aterosclerose e aneurismas em pacientes com hipertensão.

O módulo elástico para uma relação estresse-deformação linear e uniaxial é definido pelo coeficiente angular da curva que descreve (módulo de Young) (Nichols e O'Rourke, 2005; Westerhof et al., 2005a,b). O módulo elástico nas direções circunferencial e longitudinal tem sido computado para aorta de modelos murinos (Zhao et al., 2002). O módulo circunferencial é constante em todos os segmentos aórticos. Contudo, o módulo longitudinal

apresenta um valor muitas vezes superior, quando comparado com o módulo circunferencial, nos lugares onde a aorta apresenta restrições por bifurcação, isto é, nos locais onde está ancorada pelas bifurcações (Matsumoto e Hayashi, 1994). Por sua vez, a complacência da aorta abdominal é dez vezes menor do que a complacência torácica (Dichout e Lee, 2000). Isso significa que sua capacidade elástica é muito menor. Portanto, é de se esperar que a aorta abdominal do modelo murino expresse mínima tolerância à tração condicionada pela modificação do ângulo. Isso se traduz, segundo os resultados deste trabalho, na perda do equilíbrio mecânico do vaso e no desenvolvimento do remodelamento inflamatório e aneurismático do ápice da bifurcação.

Todos os vasos recebem algum tipo de suporte dos tecidos vizinhos (Humphrey, 2002). A restrição, ou suporte dos tecidos vizinhos, participa da distribuição do estresse e da deformação toda vez que o raio externo é comprimido por diversos graus de força (Zulliger et al., 2002). Desse modo, estudos com CFD demonstram que o estresse da parede, especialmente o estresse circunferencial, é consideravelmente reduzido por restrições externas que efetivamente reduzem a pressão transmural (Boussel, et al., 2008). Pelo exposto, é possível esperar que a dissecação da bifurcação incremente o estresse. Contudo, neste estudo a dissecação da bifurcação e a consequente perda de pontos de restrição, não parecem participar da formação aneurismática, dado que a perda de restrição foi comum para os quatro grupos, enquanto que somente o grupo experimental IV desenvolveu lesões aneurismáticas macroscópicas.

Concluindo, pode-se inferir que alguns ou todos esses processos desencadeados pela modificação do ângulo de bifurcação condicionem o fracasso da resposta compensatória à sobrecarga de estresse hemodinâmico, permitindo o desenvolvimento aneurismático. Em outras palavras, modificações não fisiológicas da geometria da bifurcação alteram o *estado mecânico homeostático* do vaso, dando lugar ao remodelamento patológico. No entanto, esses argumentos são especulativos. Sua validação precisa de determinações concisas do ângulo de bifurcação e de seu grau de modificação através de estudos angiográficos e morfohistométricos, do cálculo dos campos de pressão e velocidade mediante simulações computacionais, e de estudos imunohistoquímicos e ultraestruturais (microscopia eletrônica e de força atômica) que permitam definir as propriedades materiais da bifurcação arterial e comparar campos de estresse contra mapas de inflamação da parede arterial. Apesar disso, e dos limitados resultados histológicos que este estudo apresenta, é possível concluir que a degeneração aneurismática do ápice da bifurcação aórtica representa um processo adquirido secundário à sobrecarga do estresse hemodinâmico dependente do ângulo de bifurcação.

6.3 Análise histológica.

A organização geral das artérias do modelo murino mostra extensas similaridades com as dos seres humanos, incluindo sua origem embrionária e anomalias em muitos de seus constituintes (Lee, 1995). Em ambas as

espécies, a parede das artérias consiste em três regiões. Em humanos, entretanto, as artérias cerebrais mostram pequenas diferenças com respeito às artérias sistêmicas. Essas são caracterizadas por uma bem desenvolvida lâmina elástica interna, pela pobreza de fibras elásticas na média, pelo escasso tecido na adventícia e pela inexistência de lâmina elástica externa.

A literatura relata que diferentemente das artérias musculares sistêmicas, cujas camadas média e adventícia contêm abundantes fibras elásticas, o conteúdo do material elástico das artérias cerebrais concentra-se na camada elástica interna (Hassler, 1961; Busby e Burton, 1965; Campbell e Roach, 1981; Ferguson, 1982; Abruzzo et al., 1998). Essa diferença estrutural tem sido o principal argumento utilizado para explicar a suscetibilidade das artérias intracranianas para o desenvolvimento de lesões aneurismáticas (Dobrin, 1989). No entanto, a perda de lâmina elástica externa é dependente da idade, pois camadas de elastina se encontram presentes na borda externa da camada média das artérias cerebrais de crianças (Hassler, 1962a,b,c). A hipótese da especificidade estrutural das artérias cerebrais está baseada em estudos histológicos *pós-mortem* com amostras fixadas. Entretanto, Mérei (1980) em um estudo que comparou amostras não fixadas, porém corroídas, e técnicas convencionais encontrou que a média e adventícia das artérias cerebrais do polígono de Willis contêm quantidades significativas de fibras elásticas, afirmando que as artérias cerebrais são idênticas, na sua estrutura histológica, a qualquer outra artéria muscular sistêmica.

Neste estudo, os resultados do grupo controle confirmam a ausência de camada elástica externa na região do divisor de fluxo da aorta em modelos murinos. Por sua vez, o diâmetro da bifurcação aórtica é de similar calibre àquela da artéria cerebral anterior humana (~1,5-2 mm), apresentando comparável número de Reynolds (~200-300), semelhante taxa de fluxo (~0,5-1,5 ml/s), igual pressão média (~80-90 mmHg), análogo padrão de fluxo (Cieslicki 2005; Li, 1996; Suo, 2007) e, como demonstra o grupo controle, composição material semelhante. Isso permite justificar, do ponto de vista hemodinâmico, estrutural e histológico, a escolha da bifurcação aórtica como modelo experimental de desenvolvimento aneurismático.

A região da bifurcação arterial é estruturalmente complexa. Uma das características melhor estudadas das bifurcações cerebrais é a região do ápice, na qual a média se encontra ausente. Essa região é conhecida como defeito ou fenda da média, e segundo Finlay (1998), Canham (2004) e Katsukuni (1996) ela é uma característica da bifurcação. Portanto, a fenda da média não pode ser considerada como um defeito adquirido. No modelo murino, tal região encontra-se ausente na bifurcação aórtica, entretanto pode ser induzida através de estresse hemodinâmico, como demonstram os grupos experimentais deste estudo.

A perda abrupta das células musculares na fenda da média não tem ainda explicação satisfatória, porém especula-se que poderia estar relacionada com a resposta endotelial ao estresse axial dessa região ou às próprias características geométricas da bifurcação, pois as células musculares otimizam sua função quando encontram-se dispostas

circunferencialmente, e esse arranjo geométrico é difícil de suportar em ângulos agudos (Walmsley, 1983 a,b). A perda de células musculares e sua substituição fibrosa nos grupos com estresse hemodinâmico deste estudo indicam que a fenda da média é uma manifestação do remodelamento adaptativo do ápice da bifurcação.

Na fenda da média, o colágeno se organiza tridimensionalmente, formando uma estrutura semelhante a um tendão submetido à carga (Rowe, 2003). A existência de tal disposição do colágeno no ápice das bifurcações indica, ao contrário do comumente aceito, que a região do divisor de fluxo é uma região estruturalmente reforçada. Isso se coaduna com o encontrado por MacFarlane (1983) que demonstrou que a morfologia do ápice mantém-se ainda sob pressões negativas, exemplificando sua alta resistência estrutural. Portanto, o início da formação aneurismática tende a acontecer na borda da banda de colágeno, onde a distensão é mais provável de ocorrer, respeitando o vértice do divisor de fluxo. Assim, Stehbens (1963) notou que o sítio de formação de aneurismas é distal à fenda da média e Hazama (1986) e Hashimoto (1979a,b,c) mostraram em seu modelo experimental que descontinuidades da média que dão origem às lesões aneurismáticas se formaram adjacentes ao ápice da bifurcação, respeitando o divisor de fluxo. Os resultados deste estudo demonstram que a fadiga estrutural da região da bifurcação concentra-se adjacente ao divisor de fluxo, mas é possível a fratura do próprio vértice do ápice da bifurcação.

Stehbens (1990) identificou três alterações iniciais relacionadas ao desenvolvimento de lesões aneurismáticas humanas, a saber: áreas de

enfraquecimento, dilatações histológicas em forma de funil e evaginações microscópicas. As regiões de enfraquecimento se caracterizam pela perda grosseira de todos os elementos da parede arterial. As dilatações histológicas em forma de funil, por seu turno, caracterizam-se por dilatações da parede onde todos os seus componentes se encontram reduzidos e, finalmente, as evaginações microscópicas são pequenas protuberâncias da superfície luminal, que apresentam lâmina elástica fragmentada, e camada média desorganizada. Essas características podem ser facilmente reconhecidas no grupo de modificação do ângulo de bifurcação. Os modelos desse grupo demonstram que modificações da geometria induzem ao remodelamento inflamatório que dá origem a lesões precursoras da dilatação aneurismática ou aneurismas microscópicos. Contudo, os critérios operacionais limitam a prevalência de lesões aneurismáticas deste estudo (Tabela 4), pois essas se encontram definidas por características macroscópicas, além das histológicas.

Desse modo, apesar de não serem computadas no resultado final, áreas de enfraquecimento e evaginações microscópicas evidenciam a fadiga estrutural da parede arterial que, como demonstram os resultados do grupo IV, pode evoluir para o remodelamento aneurismático macroscópico.

No modelo murino de Hashimoto, os autores concluíram que o adelgaçamento e a fragmentação da lâmina elástica, distal ao ápice, na presença de sobrecarga hemodinâmica, favorecem a degeneração da média e a formação de aneurismas. Nossos resultados confirmam que a degeneração da íntima, com perda da camada elástica interna, na região do

ápice da bifurcação, é o processo responsável pelo início da lesão aneurismática.

Baseando-se no modelo experimental murino de aneurismas cerebrais de Hashimoto, Jamous (2007) propõe que a história natural da doença aneurismática pode ser dividida nas seguintes etapas: alterações endoteliais do ápice da bifurcação com perda parcial de células endoteliais; protrusão do ápice da bifurcação com infiltração inflamatória focal que provoca migração de células musculares lisas e, finalmente, formação da lesão aneurismática.

Nesse estudo, de maneira similar aos nossos resultados, pôde-se comprovar que no ápice das bifurcações dos animais controles o endotélio é regular e orientado na direção do fluxo. Já as células musculares lisas da média formam uma camada contínua que não tem soluções de continuidade no nível do ápice. No modelo antes referido, assim como neste estudo, não existem defeitos da média nas bifurcações que finalmente desenvolveram lesões aneurismáticas, o que nos leva a deduzir que no modelo murino defeitos estruturais do ápice da bifurcação nem se encontram presentes, nem são pré-requisitos necessários ao desenvolvimento de lesões aneurismáticas.

No modelo de Jamous (2007), as alterações mais precoces do endotélio se caracterizam pela perda da atividade da sintetasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) sem qualquer alteração da camada média subjacente. Posteriormente, é reconhecida uma região de inflamação que é positiva a CD68, um antígeno específico de macrófagos ativados. Conforme

a inflamação progride, acontece destruição dos componentes da parede, o que provoca a aparição de uma discreta fenda ou rachadura associada à protrusão do ápice da bifurcação, secundária à migração de células musculares lisas da média. Resultados análogos foram encontrados no grupo de modificação do ângulo deste estudo. Finalmente, a progressão da região de inflamação resulta na formação da lesão aneurismática. Dos vinte ratos do estudo de Jamous (2007), todos apresentaram alterações morfológicas do endotélio, 60% apresentaram lesões inflamatórias do ápice da bifurcação e somente 20% apresentaram dilatações aneurismáticas. Esses achados demonstram que a lesão endotelial, secundária ao estresse hemodinâmico, dispara a infiltração inflamatória. Desse modo, a inflamação local da região do ápice eventualmente progride até a destruição proteolítica da parede arterial, criando um defeito estrutural que dá lugar ao desenvolvimento da lesão aneurismática.

O modelo proposto apresenta melhor reprodutibilidade (60% de aneurismas macroscópicos e 100% microscópicos) do que o modelo de Hashimoto, além de ser mais acessível, e as lesões reproduzem melhor a morfologia observada em aneurismas humanos.

Teoricamente, a doença aneurismática envolve ao menos quatro fases: a fase de incubação, na qual a estrutura da parede é normal; a fase de formação aneurismática, em que as propriedades normais da parede arterial são alteradas de tal forma que se encontra suscetível à formação de lesões aneurismáticas; a fase de crescimento, na qual o estresse multiaxial favorece o desenvolvimento da lesão e, finalmente, a fase de ruptura. A

patologia clínica fornece somente imagens instantâneas desse processo, portanto modelos animais representam o melhor método para esclarecer sua história natural.

Neste estudo, pode-se notar que a tendência para o desenvolvimento aneurismático difere de um espécime para outro. Desse modo, em alguns modelos as alterações são desenvolvidas mais precocemente que em outros. Devido a essas variações é possível propor que as alterações aneurismáticas encontradas, apesar de serem observadas no mesmo ponto do tempo, representam alterações sequenciais que permitem mapear a história natural do desenvolvimento aneurismático.

6.4 Considerações finais

Aneurismas cerebrais são mais frequentemente saculares, contudo aneurismas fusiformes são possíveis na circulação cerebral (Nakatomi et al., 2003). Entretanto, aneurismas aórticos humanos são preferentemente fusiformes, porém dilatações saculares não são incomuns e ambos dividem os fatores de risco, tais como: tabagismo, idade, hipertensão e estresse hemodinâmico alterado (Jou et al., 2005). Desse modo, no estudo de aneurismas abdominais por Speelman (2007), demonstrou-se que a degeneração inflamatória da parede arterial é responsável pela sua formação. O remodelamento inflamatório da parede dos grupos com modificação do ângulo deste estudo sustenta essa conclusão.

A doença aneurismática abdominal é considerada uma doença degenerativa, associada ao envelhecimento e à aterosclerose, caracterizada pelo remodelamento destrutivo das camadas que conformam a parede arterial secundária à inflamação crônica que condiciona a degradação progressiva da matriz extracelular (Kalyanasundaram, et al., 2006). As características histopatológicas mais importantes incluem a destruição da capa de fibras elásticas, a inflamação crônica da adventícia e a neo-vascularização da média (Nakashima, et al., 2004). Todas essas características foram encontradas no grupo experimental que desenvolveu lesões aneurismáticas macroscópicas (grupo IV). Contudo, nesse grupo as lesões apresentam-se como aneurismas saculares. Assim, é possível que aneurismas abdominais e saculares cerebrais representem diferentes morfologias do mesmo espectro fisiopatológico.

A destruição da elástica interna é considerada o principal mecanismo fisiopatológico no desenvolvimento de qualquer lesão aneurismática, abdominal ou cerebral, dado que a elastina é responsável pela manutenção da estrutura da parede vascular submetida ao estresse hemodinâmico (Hashimoto et al., 1978; Ferguson, 1982; Fung, 2004; Humphrey e Delange, 2004). Assim, Kim (1992) estabelece que a degeneração da elástica resulta secundária ao desenvolvimento de uma placa de ateroma. Por seu turno, Stehbens (1990) afirma que a perda de lâmina elástica interna e a média subjacente, observáveis no sítio de desenvolvimento aneurismático, constituem uma lesão aterosclerótica atrófica, produzida por excesso de estresse hemodinâmico.

De forma incidental, os grupos com modificação do ângulo de bifurcação deste estudo apresentaram o desenvolvimento de placas morfológicamente similares às placas de ateroma, o que conduz à suposição de que as condições hemodinâmicas que predispõem seu desenvolvimento são de natureza similar àquelas responsáveis pela formação aneurismática e, portanto, existe relação etiológica entre a lesão aneurismática e a formação da placa de ateroma.

Aneurismas e placas de ateroma apresentam-se em regiões vasculares de estresse axial alterado, como em curvas e bifurcações, e costumam coincidir na mesma lesão (Zarins et al., 1983; Bonert et al., 2003; Suo et al., 2007; Pober et al., 2009). Desse modo, frequentemente os sacos aneurismáticos apresentam profundas alterações ateroscleróticas e mudanças ateroscleróticas dão origem a lesões aneurismáticas fusiformes cerebrais e abdominais (Nakatomi et al., 2003). Em ambas as doenças, a etapa primordial de formação consiste na ativação de células endoteliais por alterações do estresse hemodinâmico que condiciona o aumento da expressão de moléculas de adesão e de genes promotores da resposta inflamatória (Becker et al., 2001; Steinmetz et al., 2005; Hansson et al., 2006; Aoki et al., 2008). Finalmente, ambas são exemplos de doenças degenerativas e têm os mesmos fatores de risco, tais como: idade de apresentação, hipertensão, tabagismo (Bonita R, 1985; Dobrin, 1989). Os resultados deste estudo confirmam que a reação inflamatória que segue à lesão endotelial representa o processo básico na patogênese da lesão aneurismática e da placa de ateroma (Ortiz-Velázquez et al., 2009a).

A hipótese de que placas de ateroma e aneurismas compartilham o mesmo processo fisiopatológico inicial está suportada pela participação dos mediadores inflamatórios que regulam os processos de remodelamento da parede arterial (Becker et al., 2001; Jamous et al., 2007). A título de exemplo, em ambas as doenças a vulnerabilidade para ruptura se relaciona com o grau de atividade inflamatória dentro da lesão (Petrinec et al., 1996, Dobrin, 1989; Gaetani et al., 1998; Aoki et al., 2008). Dessa forma, alguns mediadores derivados de células inflamatórias ou do endotélio lesado podem degradar a matriz extracelular. Entretanto, outros estimulam mecanismos reparadores, tais como proliferação de células musculares lisas e a produção acelerada dos componentes da matriz extracelular. Assim, apesar de o processo inflamatório favorecer a degradação tissular, existe evidência de que a inflamação coordena a resposta de reparo à lesão, promovendo a proliferação e a atividade sintética das células musculares e fibroblastos, o que finalmente deriva em hiperplasia da íntima, comum à placa de ateroma e à parede aneurismática (Becker, 2001). Portanto, as diferenças morfológicas entre o aneurisma e a placa poderiam depender exclusivamente das diferentes condições hemodinâmicas no sítio inicial da lesão endotelial (o ápice para os aneurismas e a parede lateral da bifurcação para as placas de ateroma) e do êxito ou do fracasso no reparo e contenção da lesão inicial.

Finalmente, o modelo proposto pode ser naturalmente reproduzido em outras espécies animais. Isso facilitaria a obtenção de material necessário para a realização de estudos morfo-histométricos e mecânicos necessários para mapear a história natural da formação aneurismática ou provar

hipóteses biomecânicas de crescimento e de ruptura, assim como permitir o treinamento microcirúrgico e a realização de testes para novas abordagens terapêuticas.

7 CONCLUSÕES

- Foi possível modificar a carga hemodinâmica de modelos murinos através da nefrectomia esquerda, oclusão da artéria renal inferior direita, sobrecarga de sódio e a modificação do ângulo da bifurcação aórtica.
- A sobrecarga hemodinâmica condicionou o remodelamento da parede arterial da bifurcação aórtica, dando origem a lesões aneurismáticas e placas similares às placas de ateroma sem necessidade prévia de lesão arterial.
- Deformações da geometria arterial, introduzidas por mudanças do ângulo de bifurcação, induziram inflamação do divisor de fluxo da bifurcação aórtica, ao passo que, hipertensão arterial, pressão de pulso aumentada, frequência cardíaca elevada e sobrecarga de sódio catalisaram a dilatação aneurismática desses segmentos.

8 ANEXOS

Anexo A

Princípio do trabalho mínimo.

Segundo Thompson (1992), o princípio do trabalho mínimo é fundamental na fisiologia e serve como critério de organização. Assim, os problemas da função e da estrutura dos sistemas podem ser reduzidos a problemas de máximos e de mínimos³. De acordo com esse princípio, o trabalho é feito com o máximo de eficiência e ao menor custo. Assume-se, portanto, que o custo da operação de um sistema, como o circulatório, seja o mínimo. Assim, por princípio geral, a forma e o arranjo dos vasos sanguíneos será tal que a circulação proceda com um mínimo de esforço e com um mínimo de superfície, essa última condição levando a um mínimo de atrito. Neste sentido, Murray (1926a) indagou qual seria o ângulo de ramificação ou bifurcação que permitiria a menor perda de energia.

Para resolver o problema anterior é preciso conhecer como ocorre a perda de energia no sistema circulatório. Pela lei de Hagen–Poiseuille,

$$Q = \frac{\pi r^4 (P_1 - P_2)}{8 \mu L}$$

a perda de energia é maior em um tubo estreito que em um tubo largo, e maior durante um trajeto extenso que em um breve, pois o volume do fluxo

³ Em termos matemáticos, diz-se que no conjunto de soluções para um problema existe uma função (chamada funcional de custo) que associa a cada possível solução seu custo. Assim, o problema de achar a solução ótima se reduz ao problema de encontrar o mínimo da função.

está diretamente relacionado à quarta potência do raio, isto é, o fluxo incrementa-se exponencialmente com o aumento do raio.

Assim sendo, se uma artéria 'AB' (Figura 30) dá origem a um ramo menor dirigido a um ponto 'P', tal como 'CP' ou 'DP', pode verificar-se, por meio de um simples teorema da trigonometria (a soma dos catetos é sempre maior que a hipotenusa), que o trajeto 'ACP' é mais curto que o 'ADP'. Por outra parte, o sangue que segue o trajeto 'ADP' percorre um maior trajeto na artéria 'AB' e tem um curso menor em um vaso de raio estreito (DP). Portanto, a vantagem relativa das duas vias dependerá da perda de energia que ocorre na porção 'CP', comparada com a alternativa 'DP', uma delas sendo curta e estreita e a outra sendo longa e ampla.

Figura 30

Formas possíveis de bifurcação. Adaptado de Thompson, On Growth and Form.1992

Por outra parte, baseando-se na lei de Hees⁴ e, assumindo que a perda de pressão entre qualquer ponto "A" de uma artéria principal e um ponto "D"

⁴ Em termodinâmica, a lei de Hees estabelece que as mudanças de energia de qualquer processo físico são independentes do caminho, via ou número de passos requeridos para completar o processo. Em outras palavras, as alterações da energia são independentes do caminho pelo qual o processo se conduz e somente os passos iniciais e finais têm importância.

em qualquer de seus ramos é secundária ao atrito da corrente sanguínea contra a parede arterial, é possível demonstrar que a modificação na energia, ou perda de pressão por atrito, é proporcional à localização espacial dos pontos inicial e final. Em outras palavras, a perda de energia depende da morfologia vascular, pois se, em concordância com a lei de Hees, a perda por atrito é:

$$\frac{AB}{R} + \frac{BD}{r}$$

onde R e r são os respectivos raios da artéria principal e de seu ramo, então o caminho mediante o qual o sangue pode chegar do ponto A ao ponto D pode ser qualquer um dos seguintes (Figura 31):

- ✚ Por um ramo de A dirigido a D que se origina da artéria principal com um ângulo Θ_1 .
- ✚ Por um ramo do ponto C dirigido a D que se origina da artéria principal com um ângulo reto.
- ✚ Por um ramo de qualquer ponto B, localizado entre A e C, dirigido a D que se origina da artéria principal com um ângulo agudo Θ_2 .
- ✚ Por um ramo de qualquer ponto E, além de C, dirigido a D que se origina da artéria principal com um ângulo obtuso Θ_3 .

Figura 31

Formas possíveis de bifurcação. Adaptado de Feldman, The principles of mathematics for students of biological science.1935

Se definirmos “D” como um ponto fixo localizado, a qualquer distância, em um ramo originado da artéria principal “A”, então, sendo a distância DC perpendicular à artéria principal, denominamo-la como h e a distância BC como x . Quer dizer, x representa o ponto desconhecido no qual um ramo se origina da artéria principal e encontra-se a x unidades de longitude de C. Finalmente, denominamos a distância AC como d . Desse modo:

$$AB = d - x$$

$$BD = \sqrt{h^2 + x^2}$$

$$\therefore \text{se } \frac{AB}{R} + \frac{BD}{r}$$

$$\rightarrow \frac{d - x}{R} + \frac{\sqrt{h^2 + x^2}}{r}$$

Assumindo que o caminho deverá minimizar a perda de energia, esse deverá ser tal que:

$$y = \frac{d-x}{R} + \frac{\sqrt{h^2 + x^2}}{r}$$

$$\frac{dy}{dx} = \frac{-1}{R} + \frac{2x}{2r\sqrt{h^2 + x^2}} = 0$$

$$\frac{1}{R} = \frac{x}{r\sqrt{h^2 + x^2}}$$

$$\frac{r}{R} = \frac{x}{\sqrt{h^2 + x^2}} = \frac{x}{BD} = \cos \theta$$

Logo, o ângulo mediante o qual o ramo deverá originar-se da artéria principal, para minimizar a perda de energia, é tal que seu coseno é r/R . Assim sendo, isso implica que :

- Todos os ramos que se originam da artéria principal e têm o mesmo raio se originam com o mesmo ângulo. Esse é o caso das bifurcações simétricas.
- Se r/R é próximo de zero, então o $\cos \theta$ é próximo de 90° . Quer dizer, os ramos de diâmetro muito pequeno, tais como as artérias lenticuloestriadas, originam-se em um ângulo reto da artéria principal.
- Se r/R é próximo da unidade, então o $\cos \theta$ é próximo de zero. Quer dizer, os ramos de grande calibre ou de diâmetro similar à artéria principal, tais como a carótida interna, serão praticamente paralelos ao tronco principal.

Finalmente, para encontrar a distância “x” a qual minimiza a perda da energia teremos que:

$$\frac{r}{R} = \frac{x}{\sqrt{h^2 + x^2}}$$

$$\left(\frac{r}{R} = \frac{x}{\sqrt{h^2 + x^2}}\right)^2$$

$$\frac{x^2}{x^2 + h^2} = \frac{r^2}{R^2}$$

$$x^2 = \frac{r^2 (x^2 + h^2)}{R^2}$$

$$x^2 R^2 = r^2 (x^2 + h^2)$$

$$x^2 R^2 = r^2 x^2 + r^2 h^2$$

$$x^2 R^2 - r^2 x^2 = r^2 h^2$$

$$x^2 (R^2 - r^2) = r^2 h^2$$

$$x^2 = \frac{r^2 h^2}{R^2 - r^2}$$

$$\sqrt{x^2} = \sqrt{\left(\frac{r^2 h^2}{R^2 - r^2}\right)}$$

$$x = \frac{hr}{\sqrt{R^2 - r^2}}$$

Assim, quão maior seja a distância a cursar pelo ramo (distância h), maior será a distância a que ela se origina do tronco da artéria principal.

Por sua vez, segundo a lei de Poiseuille, para superar a resistência ao fluxo sanguíneo, o poder requerido é inversamente proporcional à quarta potência do raio, portanto, um maior raio vascular é vantajoso, pois o fluxo encontra uma menor resistência. Contudo, um maior volume de sangue é requerido para perfundir o sistema, o que incrementa a demanda metabólica (Zamir, 2000). Portanto, o raio ótimo que minimiza a resistência ao fluxo, ao passo que minimiza a demanda metabólica, pode ser formulado como

$$P_o = K_1 \left(\frac{1}{r^4} \right) + K_2 (r^2)$$

Onde K_1 e K_2 são constantes metabólicas. Diferenciando com respeito ao raio e igualando a zero, para obter o mínimo, tem-se

$$\frac{dP_o}{dr} = \frac{-4K_1}{r^5} + 2K_2 r = 0$$

Porém, sabendo que o poder, a resistência, o volume e o fluxo são respectivamente

$$P = RQ^2$$

$$R = \frac{8\eta l}{\pi r^4}$$

$$V = \pi r^2 l$$

$$Q = \pi r^2 V$$

Deriva-se a expressão:

$$Q^2 = \frac{K_2 \pi}{16 \eta l} r^6$$

Que relaciona a taxa de fluxo com o raio ótimo do vaso. Logo, o fluxo é proporcional ao cubo do raio do vaso

$$Q \propto r^3$$

Considerando-se a equação de continuidade

$$Q_p = Q_{r1} + Q_{r2}$$

Por semelhança, a lei de Murray pode ser reescrita como

$$r_p^3 = r_{r1}^3 + r_{r2}^3$$

Sabendo-se que a razão de área é a razão da soma das áreas dos ramos sobre a área do ramo principal

$$A = \frac{r_{r1}^2 + r_{r2}^2}{r_p^2}$$

No caso de uma bifurcação simétrica no mesmo plano, tal como a bifurcação aórtica, então $r_{r1}^3 = r_{r2}^3$, portanto, substituindo

$$r_p^{3/2} = (2r_{r1}^3)^{1/2}$$

Se, por outra parte, consideram-se os ângulos de bifurcação, segue-se que

$$r_p^2 = r_{r1}^2 \cos \theta + r_{r2}^2 \cos \varphi$$

Equação idêntica à obtida por Feldman (1935) e que estabelece que o ângulo mediante o qual o ramo deverá originar-se da artéria principal, para minimizar a perda de energia, isto é, minimizar a reflexão das ondas de pressão e fluxo, é tal que seu cosseno é r/R .

9 REFERÊNCIAS

Abruzzo T, Shengelaia G, Dawson R, Owens D, Cawley C, Gravanis, M. Histologic and Morphologic Comparison of Experimental Aneurysms with Human Intracranial Aneurysms. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1998; 19: 1309-14.

Ammirati M, Ciric I, Rabin E. Induction of experimental aneurysms on the rat common carotid artery using a microsurgical CO2 Laser. *Microsurgery*. 1988; 9: 78-81.

Andrews R, Spiegel P. Intracranial aneurysms. Age, sex, blood pressure, and multiplicity in an unselected series of patients. *J Neurosurg*. 1979; 51: 27-32.

Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Hashimoto N. Simvastatin Suppresses the Progression of Experimentally Induced Cerebral Aneurysms in Rats. *Stroke*. 2008; 39: 1276-85.

Arner A, Uvelius B. Force-velocity: characteristics and active tension in relation to content and orientation of smooth muscle cells in aortas from normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*. 1982; 50: 812-21.

Becker A, Boer O, Van DerWal A. The role of inflammation and infection in coronary artery disease. *Annu Rev Med*. 2001; 52: 289-97.

Belber C, Hoffman R. The syndrome of intracranial aneurysm associated with fibromuscular hyperplasia of the renal arteries. *J Neurosurg*. 1968; 28: 556-59.

Bliznak J, Bargainer J. Coarctation of the abdominal aorta with aneurysm of middle cerebral artery. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med*. 1974; 122: 29-32.

Bonert M, Leask R, Butany J, Ethier C, Myers J, Johnston K et al. The relationship between wall shear stress distributions and intimal thickening in the human abdominal aorta. *BioMedical Engineering OnLine*. 2003; 2: 1-14.

Bonita R. Subarachnoid hemorrhage: epidemiology, diagnosis, management, and outcome. *Stroke*. 1985; 16:591-94.

Bonithon-Kopp C, Scarabin P, Taquet A, Touboul P, Malmejac A, Guize L. Risk factors for early carotid atherosclerosis in middle-aged French women. *Arterioscler Thromb*. 1991; 11: 966-72.

Bor A, Velthuis B, Majoie C, Rinkel G. Configuration of intracranial arteries and development of aneurysms: A follow-up study. *Neurology*. 2008; 70: 700-05.

Boussel L, Rayz V, Martin A, Acevedo-Bolton G, Lawton M, Higashida R et al. Phase-Contrast Magnetic Resonance Imaging Measurements in Intracranial Aneurysms In Vivo of Flow Patterns, Velocity Fields, and Wall Shear Stress: Comparison with Computational Fluid Dynamics. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2009; 61: 409-17.

Boussel L, Rayz V, McCulloch C, Martin A, Acevedo-Bolton G, Lawton M et al. Aneurysm Growth Occurs at Region of Low Wall Shear Stress: Patient-Specific Correlation of Hemodynamics and Growth in a Longitudinal Study. *Stroke*. 2008; 39: 2997-3002.

Brooks A, Lelkes P, Rubanyi G. Gene expression profiling of vascular endothelial cells exposed to fluid mechanical forces: relevance for focal susceptibility to atherosclerosis. *Endothelium*. 2004; 11: 45-1157.

Busby D, Burton A. The effect of age on the elasticity of the major brain arteries. *Can J Physiol Pharmacol*. 1965; 13: 185-202.

Campbell G, Roach M. Fenestrations in the Internal Elastic Lamina at Bifurcations of Human Cerebral Arteries. *Stroke*. 1981; 12: 489-96.

Campbell G, Roach M. A Physical Model for the Formation of Evaginations: A Prospective Precursor to the Creation of Saccular Aneurysms. *Stroke*. 1984; 15: 642-52.

Canham P, Ferguson G. A mathematical model for the mechanics of saccular aneurysms. *Neurosurgery*. 1985; 17: 291-95.

Canham P, Finlay H, Kiernan J, Ferguson G. Layered structure of saccular aneurysms assessed by collagen birefringence. *Neurol Res*. 1999; 21: 618-26.

Canham P, Finlay H. Morphometry of Medial Gaps of Human Brain Artery Branches. *Stroke*. 2004; 35: 1153-57.

Cebral J, Castro M, Löhne R. Recent developments in patient-specific image-based modeling of hemodynamics. In: Buscaglia G, Dari E, Zamonski O, Editors. *Mecanica Computacional vol XXIII*; Bariloche, Argentina: 2004.

Cebral J, Castro M, Burgess J. Characterization of Cerebral Aneurysms for Assessing Risk of Rupture By Using Patient-Specific Computational Hemodynamics Models. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2005a; 26: 2550-59.

Cebral J, Castro M, Appanabo S, Putman C, Millan D. Efficient Pipeline for Image-Based Patient-Specific Analysis of Cerebral Aneurysm Hemodynamics: Technique and Sensitivity. *IEEE Trans Med Imaging*. 2005b; 24: 457-67.

Cebral J, Castro M, Putman C, Alperi N. Flow–area relationship in internal carotid and. *Physiol Meas*. 2008; 29: 585–94.

Cebral J, Hendrickson S, Putman C. Hemodynamics in a Lethal Basilar Artery Aneurysm Just before Its Rupture. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2009; 30: 95-98.

Chapman AB. Intracranial aneurysms in autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med*. 1992; 327: 916-20.

Chatziprodromou I, Poulikakos D, Ventikos Y. On the influence of variation in haemodynamic conditions on the generation and growth of cerebral aneurysms and atherogenesis: A computational model. *J Biomech*. 2007; 40: 3626-40.

Cheng C, Tempel D, Van Haperen R. Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. *Circulation*. 2006; 113: 2744–53.

Cieslicki K, Ciesla, D. Investigations of flow and pressure distributions in physical model of the circle of Willis. *J Biomech*. 2005; 38: 2302-10.

Clowes A, Clowes M. The influence of hypertension on injury-induced myointimal thickening. *Surgery*. 1980; 88: 254-59.

Connolly E, Fiore A, Winfree C, Prestigiacomo C, Goldman J, Solomon R. Elastin degradation in the superficial temporal arteries of patients with intracranial aneurysms reflects changes in plasma elastase. *Neurosurgery*. 1997; 40: 903-09.

Connolly E, Huang J, Goldman J, Holtzman R. Immunohistochemical detection of intracranial vasa vasorum: A human autopsy study. *Neurosurgery*. 1996; 38: 789-93.

Crompton M. Mechanism of growth and rupture in cerebral berry aneurysms. *Br Med J*. 1966; 1: 1138-42.

Daugherty A, Manning M, Cassis L. Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysms in apolipoprotein E-deficient mice. *J Clin Invest*. 2000; 105: 1605-12.

DeBakey ME, Crawford ES, Cooley DA, Morris GC Junior, Royster TS, Abbott WP. Aneurism of abdominal aorta: Analysis of results of graft replacement therapy one to eleven years after operation. *Ann Surg*. 1964; 160: 622-39.

De la Monte S, Moore G, Monk M, Hutchins G. Risk factors for development and rupture of intracranial berry aneurysms. *Am J Med.* 1985; 78: 957-64.

DeSouza T, Berlad L, Shapiro K, Walsh C, Sanegor P, Shinnar S. Pheochromocytoma and multiple intracranial aneurysms. *J Pediatr.* 1986; 108: 947-49.

Dickhout J, Lee M. Increased medial smooth muscle cell length is responsible for vascular hypertrophy in young hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000; 279: 2085-94.

Dobrin P. Pathophysiology and pathogenesis of aortic aneurysms: Current concepts. *Surg Clin North Am.* 1989; 69: 687-703.

Dobrin P, Baker W, Gley W. Elastolytic and collagenolytic studies of arteries. *Arch Surg.* 1994; 119: 405-08.

Duncan D, Barger C, Borchardt S, Deters O, Gearhart S, Mark F. The Effect of Compliance on Wall Shear in Casts of a Human Aortic Bifurcation. *J Biomech Eng.* 1990; 112: 183-8.

Dyste GW. De Novo aneurysm formation following carotid ligation: case report and review of the literature. *Neurosurg.* 1989; 24: 88-92.

Dzau V, Gibbons G, Morishita R, Pratt R. New perspective in hypertension research. Potentials of vascular biology. *Hypertension.* 1994; 23: 1132-40.

Erbengi A, Inci S. Pheochromocytoma and multiple intracranial aneurysms. Is it a coincidence? Case report. *J Neurosurg.* 1997; 87: 764-7.

Fazan RJ, Dias da Silva V, Salgado H. Modelos de hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens.* 2001; 8: 19-29.

Feldman, W. Maxima and Minima. In: Feldman W. *The principles of mathematics for students of biological science.* London: Charles Griffin & Co., LTD.; 1935. 207-9.

Ferguson G. Turbulence in human intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg.* 1970; 33: 485.

Ferguson G. Physical factors in the initiation, growth, and rupture of human intracranial saccular. *J neurosurg.* 1972a; 37: 666-77.

Ferguson G. Direct measurement of mean and pulsatile blood pressure at operation in human intracranial saccular aneurysms. *J neurosurg.* 1972b; 36: 560-3.

Ferguson G. The Pathogenesis on Intracranial Saccular Aneurysms. *Anesthesiol Clin*. 1982; 20: 19-24.

FIA Study Investigators.. Genome Screen to Detect Linkage to Intracranial Aneurysm Susceptibility Genes The Familial Intracranial Aneurysm (FIA) Study. *Stroke*. 2008; 39: 1434-40.

Finlay H, Whittaker P, Canham P. Collagen Organization in the Branching Region of the human brain Arteries. *Stroke*. 1998; 29: 1595-1601.

Forbus W. On the origin of miliary aneurysms of the superficial cerebral arteries. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*. 1930; 47: 239-84.

Ford M, Lee S, Lownie S, Holdsworth D, Steinman D. On the effect of parent-aneurysm angle on flow patterns in basilar tip aneurysms: Towards a surrogate geometric marker of intra-aneurismal hemodynamics. *J Biomech*. 2008; 41: 241-48.

Foutrakis GN. Saccular aneurysm formation in curved and bifurcating arteries. *AJNR*. 1999; 29: 1309-17.

Fry D. Acute vascular endothelial changes associated with increased blood velocity gradients. *Circ Res*. 1967; 22: 165-197.

Fujiwara S. De novo aneurysm formation and aneurysm growth following therapeutic carotid occlusion for intracranial internal carotid artery (ICA) aneurysms. *Acta Neurochir*. 1993; 120: 21–25.

Fukuda H, Sako K, Yonemasu Y. Coarctation of the descending aorta with aneurysm of the anterior communicating artery. *Surg Neurol*. 1985; 23: 380-82.

Fukuda S, Hashimoto N, Naritomi H, Nagata I, Nozaki K, Kondo S et al.. Prevention of rat cerebral aneurysm formation by inhibition of nitric oxide synthase. *Circulation*. 2000; 101: 2532–8.

Fung Y, Liu S. Change of residual strains in arteries due to hypertrophy caused by aortic constriction. *Circ Res*. 1980; 65: 1340-49.

Fung Y. Blood flow in arteries. In: Fung Y. *Biomechanics: Circulation*. New York: Springer Science +Business Media Inc.; 1997. 108-200.

Fung Y. Physical principles of circulation. In: Fung Y. *Biomechanics: circulation*. New York: Springer Science + Business Media Inc.; 1997. 1-22.

Fung Y. Interactions of wall shear with endothelium. In: Fung Y. *Biomechanics: mechanical properties of living tissues*. New York: SpringerScience + Business Media LLC.; 2004. 165-217.

Fung Y. Mechanical properties and active remodeling of blood vessels. In: Fung Y. *Biomechanics: mechanical properties of living tissues*. New York: Springer Science + Business Media LLC.; 2004. 321-84.

Gabbiani G, Elemer G, Guelpa C, Vollotton M, Bodonel M, Huttner I. Morphologic and functional changes of the aortic intima during experimental hypertension. *Am J Pathol*. 1979; 96: 399–422.

Gaetani P, Tartara F, Tancioni F. Deficiency of total collagen content and deoxypyridinoline in intracranial aneurysms walls. *FEBS Lett*. 1997;404: 303-6.

Gaetani P, Tartara F, Grazioli V, Tancioni F, Infuso L, Rodriguez y Baena R. Collagen cross-linkage, elastolytic and collagenolytic activities in cerebral aneurysms: a preliminary investigation. *Life Sciences*. 1998; 63: 285-292.

Gibbons G, Dzau V. The emerging concept of vascular remodeling. *N Engl J Med*. 1994; 330: 1431-38.

Girerd X, London G, Boutouyrie P, Mourad J, Safar M, Laurent S. Remodeling of the Radial Artery in Response to a Chronic Increase in Shear Stress. *Hypertension*. 1996; 27: 799-803.

Gleason R, Humphrey J. Effects of a sustained extension on arterial growth and remodeling: a theoretical study. *J Biomech*. 2005; 38: 1255-61.

Gonzalez-Darder J, Feliu R, Pesudo J, Gomes R, Lazaro S, Garcia-Vila J. Tratamiento quirurgico de los aneurismas de la arteria comunicante anterior basado en el estudio de angio-TAC eon reconstruccion tridimensional y sin angiografia preoperatoria. *Neurocirugia (Astur)*. 2002; 13: 446-54.

Grotberg J, Jensen O. Biofluid mechanics in flexible tubes. *Annu Rev Fluid Mech*. 2004; 36: 121-47.

Hadju M, Baumbach G. Mechanics of large and small cerebral arteries in chronic hypertension. *Am J Physiol*. 1994; 266: H1027-H1033.

Han H, Marita S, Ku D. Changes of opening angle in hypertensive and hypotensive arteries in 3-day organ culture. *J Biomech*. 2006; 39: 2410-8.

Hansson G, Robertson A, Soderberg-Nauclér C. Inflammation and Atherosclerosis. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2006; 1: 297-329.

Hashimoto N, Handa H, Hazama F. Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. *Surg Neurol*. 1978; 10: 3-8.

Hashimoto N, Handa H, Hazama F. Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part II. *Surg Neurol.* 1979a; 11: 243-247.

Hashimoto N, Handa H, Hazama F. Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part III. *Surg Neurol.* 1979b; 11: 299-304.

Hashimoto N, Handa H, Hazama F. Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part IV Cerebral Angiography. *Surg Neurol.* 1979c; 12: 419-22.

Hashimoto N, Handa H, Hazama F. Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part V relation of hemodynamics in the circle of Willis to formation of aneurysms. *Surg Neurol.* 1980; 13: 41-5.

Hashimoto N, Kim C, Kikuchi H, Kojima M, Kang Y. Experimental induction of cerebral aneurysms in monkeys. *J Neurosurg.* 1987; 67: 903-5.

Hashimoto T. Flow velocity studies in vein pouch model aneurysms. *Neurol Res.* 1993; 15: 185-91.

Hashimoto T, Meng H, Young W. Intracranial aneurysms: links among inflammation, hemodynamics and vascular remodeling. *Neurol Res.* 2006; 28: 372-80.

Hassan T, Timofeev E, Saito T. A proposed parent vessel geometry-based categorization of saccular intracranial aneurysms: computational flow dynamics analysis of the risk factors for lesion rupture. *J Neurosurg.* 2005; 103: 662-80.

Hassler O. Morphological studies on the large cerebral arteries, with reference to the aetiology of subarachnoid haemorrhage. *Acta Psych Neurol Scand.* 1961; 36 (Suppl. 154): I-145.

Hassler O, Larsson S. The external elastic layer of the cerebral arteries in different age-groups. *Acta anat.* 1962a; 48: I-6.

Hassler O. The windows of the internal elastic lamella of the cerebral arteries. *Virchows Arch path Anat.* 1962b; 335(2): 127-32.

Hassler O. Elastic tissue contents of the medial layer of the cerebral arteries. *Virchow's Arch Path Anat.* 1962c; 335: 39-42.

Hassler O. Experimental carotid ligation followed by aneurysmal formation and other morphological changes in the circle of Willis. *J Neurosurg.* 1990; 72: 35-41.

Hazama F, Kataoka H, Yamada E, Kayembe K, Hashimoto N. Early changes of experimentally induced cerebral aneurysms in rats: light-microscopic study. *Am J Pathol.* 1986; 124: 399-404.

Hegedus K. Some observations on reticular fibers in the media of the major cerebral arteries. *Surg Neurol.* 1984; 22: 301-7.

Honda H, Hsiai T, Wortham C. A complex flow pattern of low shear stress and flow reversal promotes monocyte binding to endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2001; 158: 385-90.

Hu J, Fossum T, Miller M, Xu H, Liu J, Humphrey J. Biomechanics of the Porcine Basilar Artery in Hypertension. *Ann Biomed Eng.* 2007; 35: 19-29.

Huber P. Arterial Aneurysms. In: Huber P. *Cerebral Angiography*. New York: Thieme Medical Publishers Inc.; 1982. 312-66.

Humphrey J. Cardiovascular solid mechanics: cells, tissues and organs . In: Humphrey J. *Cardiovascular solid mechanics: cells, tissues and organs*. New York: Springer-Verlag New York Inc.; 2002. 1-749.

Humphrey J, Delange S. In: Humphrey J, Delange S. *An introduction to biomechanics: solid and fluids, analysis and design*. New York: Springer Science + business Media Inc.; 2004. 3-42.

Humphrey,J, Delange S. An introduction to biomechanics: solids and fluids, analysis and design. In: Humphrey J, Delange S. *An introduction to biomechanics: solids and fluids, analysis and design*. New York: Springer Science + Business Media Inc.; 2004.1-618.

Inci S, Spetzler F. Intracranial aneurysms and arterial hypertension: a review and hypothesis. *Surg Neurol.* 2000; 53: 530-42.

Ingebrigtsen T, Morgan M, Faulder K, Ingebrigtsen L, Sparr T, Schirmer H. Bifurcation geometry and the presence of cerebral aneurysms. *J Neurosurg.* 2004; 101: 108-13.

Jackson Z, Gotlieb A, Langille B. Wall tissue remodeling regulates longitudinal tension in arteries. *Circ Res.* 2002; 90: 918-25.

Jamous M, Nagahiro S, Kitazato K, Satomi J, Satoh K. Vascular corrosion casts mirror early morphological changes that lead to the formation of saccular cerebral aneurysm: an experimental study in rats. *J Neurosurg.* 2005; 102: 532-5.

Jamous M, Nagahiro S, Kitazato K, Tamura T, Aziz H, Shono M et al. Endothelial injury and inflammatory response induced by hemodynamic

changes preceding intracranial aneurysm formation: experimental study in rats. *J Neurosurg.* 2007; 107: 405-11.

Jankowski P, Bilo G, Kawecka-Jaszcz K. The pulsatile component of blood pressure: its role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Blood Press.* 2007; 16: 238-245.

Jou L, Wong G, Dispensa B, Lawton M, Higashida R, Young W, et al. Correlation between Luminal Geometry Changes and Hemodynamics in Fusiform Intracranial Aneurysms. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2005; 26: 2357-63.

Jou L, Lee D, Morsi H, Mawad M. Wall Shear Stress on Ruptured and Unruptured Intracranial Aneurysms at the Internal Carotid Artery. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008; 29: 1761-7.

Kallmes D, Fujiwara N, Berr S, Helm G, Cloft H. Elastase-induced saccular aneurysms in rabbits: a dose-escalation study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2002; 23: 295-8.

Kalyanasundaram A, Elmore J, Manazer J, Golden A, Franklin D, Galt S, et al. Simvastatin suppresses experimental aortic aneurysm expansion. *J Vasc Surg.* 2006; 43: 117-24.

Kassab G. Biomechanics of the cardiovascular system: the aorta as an illustratory example. *J R Soc Interface.* 2006; 3: 719-40.

Kassell NF. Size of intracranial aneurysms. *Neurosurg.* 1983; 12: 291-7.

Kasuya H, Shimizu T, Nakaya K, Sasahara A, Hori T. Angeles between A1 and A2 segments of the anterior cerebral artery visualized by three-dimensional computed tomographic angiography and association of anterior communicating artery aneurysms. *Neurosurgery.* 1999; 45: 89-93.

Katsukuni F. Medial Defects in the Prenatal Human Cerebral Arteries: An Electron Microscopic Study. *Stroke.* 1996; 27: 706-8.

Kayembe KN. Cerebral Aneurysms and Variations in the Circle of Willis. *Stroke.* 1984;15: 846-50.

Kim C, Kikuchi H, Hashimoto N, Kojima M, Kang Y, Hazama F. Involvement of internal elastic lamina in development of induced cerebral aneurysms in rats. *Stroke.* 1988; 19: 507-11.

Kim C, Kikuchi H, Hashimoto N, Hazama F. Histopathological study of induced cerebral aneurysms in primates. *Surg Neurol.* 1989; 32: 45-50.

- Kim C, Cervos-Navarro J, Kikuchi H, Hashimoto N, Hazama F. Alterations in cerebral vessels in experimental animals and their relationship to the development of aneurysms. *Surg Neurol.* 1992; 38: 331–7.
- Kondo S. Cerebral aneurysms arising at nonbranching sites. *Stroke.* 1997; 28: 398-404.
- LaBarbera M. Principles of design of fluid transport systems in zoology. *Science.* 1990; 249: 992-1000.
- Labat C, Lacolley P, Lajemi M, De Gasparo M, Safar M, Benetos A. Effects of valsartan on mechanical properties of the carotid artery in spontaneously hypertensive rats under high-salt diet. *Hypertension.* 2001; 38: 439-43.
- Lee M, Haut R. Strain rate effects on tensile failure properties of the common carotid artery and jugular veins of ferrets. *J Biomech.* 1992; 25(8): 925-7.
- Lee R. Morphology of cerebral arteries. *Pharmacol Ther.* 1995; 66: 143-73.
- Lee R, Libby P. The unstable atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1859-67.
- Li, JK, Melvin J, Noordergraaf A. Directional disparity of pulse wave reflections in dog arteries. *Am J Physiol (Heart & Circ Physiol).* 1984; 247: H95-H99.
- Li J. Time domain resolution of forward and reflected waves in the aorta. *IEEE Trans Biomed Eng BME.* 1986; 33: 783-5.
- Li J. *Comparative Cardiovascular Dynamics of Mammals*. Florida: CRC Press Inc., 1996.
- Li J. Vascular branching. In: Li J. *Dynamics of the vascular system*. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2004. 142-171.
- Li Y, Haga J, Chien S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells. *J Biomech.* 2005; 38: 1949-71.
- Linn FH. Incidence of subarachnoid hemorrhage. Role of region, year, and rate of computed tomography: a metaanalysis. *Stroke.* 1996; 27: 625-9.
- Linn FH. Prospective study of sentinel headache in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Lancet.* 1994; 344: 590-3.
- Liu S. Regression of hypoxic hypertension-induced changes in the elastic laminae of rat pulmonary arteries. *J appl Physiol.* 1997; 82: 1677-84.

Liu Y, Kassab G. Vascular metabolic dissipation in Murray's law. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 292: H1336–H1339.

Locksley HB. Report of the cooperative study of intracranial aneurysms and subarachnoid haemorrhage. *J Neurosurg*. 1996; 25: 219-49.

Lowe H, Singelyn M. Salt Loading in Hypertension due to Renal Artery Stenosis. *Circulation*. 1965; 32: 888-96.

MacFarlane T, Canham P, Roach M. Shape changes at the apex of isolated human cerebral bifurcations with changes in transmural pressure. *Stroke*. 1983;14: 70-6.

Marcus M, Heistad D, Armstrong M, Abboud F. Effects of chronic hypertension on vasa vasorum in the thoracic aorta. *Cardiovasc Res*. 1985; 19: 777-81.

Matheus MG. Development of De Novo Intracranial Aneurysm in Three Months: Case Report and Literature Review. *AJNR*. 2003; 24: 709-10.

Matson D. Intracranial arterial aneurysms in childhood. *J Neurosurg*. 1965; 23: 578-83.

Matsumoto T, Hayashi, K. Mechanical and dimensional adaptation of rat aorta to hypertension. *ASME J Biomech Eng*. 1994; 116: 278-83.

Matsumoto T, Hayashi K., Ide K. Residual strain and local strain distributions in the rabbit atherosclerotic aorta. *J Biomech*. 1995; 28: 1207-17.

Matsumoto T, Hayashi K. Stress and strain distribution in hypertensive and normotensive rat aorta considering residual strain. *J Biomech Eng*. 1996; 118: 62-73.

Mayrovitz M, Roy J. Microvascular blood flow: evidence indicating a cubic dependence on arteriolar diameter. *Am J Physiol*. 1983; 245: H1031-H1038.

McCormick WF. The size of intracranial saccular aneurysms: an autopsy study. *J Neurosurg*. 1970; 33: 422-7.

McCormick W, Schmalstein E. The relationship of arterial hypertension to intracranial aneurysms. *Arch Neurol*. 1977; 34: 285-7.

Meng H, Wang Z, Hoi Y, Gao L, Metaxa E, Schwartz D. et al. Complex hemodynamics at the apex of an arterial bifurcation induces vascular remodeling resembling cerebral aneurysm initiation. *Stroke*. 2007; 38: 1924-31.

Merei F, Gallyas F, Horvath Z. Elastic Elements in the Media and Adventitia of Human Intracranial Extracerebral Arteries. *Stroke*. 1980. 11: 329-36.

Miskolczi L, Guterman L, Flaherty J, Hopkins L. Saccular aneurysm induction by elastase digestion of the arterial wall: a new animal model. *Neurosurgery*. 1998; 43: 595–601.

Morimoto M, Miyamoto S, Mizoguchi A, Kume N, Kita T, Hashimoto N. Mouse model of cerebral aneurysm. experimental induction by renal hypertension and local hemodynamic changes. *Stroke*. 2002; 33: 1911-5.

Murray C. The physiological principle of minimum work applied to the angle of branching of arteries. *J Gen Physiol*. 1926a; 9: 837-45.

Murray C. The Physiological Principle of Minimum Work: I. The Vascular System and the Cost of Blood Volume. *Proc Natl Acad Sci*. 1926b; 12: 207-14.

Nakashima H, Aoki M, Miyake T, Kawasaki T, Iwai M, Jo N, et al. Inhibition of Experimental Abdominal Aortic Aneurysm in the Rat by Use of Decoy Oligodeoxynucleotides Suppressing Activity of Nuclear Factor kB and ets Transcription Factors. *Circulation*. 2004; 109: 132-8.

Nakata Y, Shionoya S. Vascular lesions due to obstruction of the vasa vasorum. *Nature*. 1966; 212: 1258-9.

Nakatomi H, Segawa H, Kurata A, Shiokawa Y, Nagata K, Kamiyama H, et al. Clinicopathological study of intracranial fusiform and dolichoectatic aneurysms. Insight on the mechanism of growth. *Stroke*. 2003; 31: 896-900.

Nichols W, O'Rourke M. McDonald's blood flow in arteries. In: Nichols W, O'Rourke M. McDonald's blood flow in arteries. New York: Oxford University Press Inc.; 2005. 607.

Ohhira A, Ohhashi T. Effect of aortic pressure and vasoactive agents on the vascular resistance of the vasa vasorum in canine isolated thoracic aorta. *J Physiol (London)*. 1992; 453, 233-45.

Ortiz-Velázquez RI, Mendes Pereira Caldas J, Suegana P, Magnani M, Santos-Franco JA, Mercado-Pimentel R, Tanaka L, Salvatori M. Microscopia de força atômica no estudo da superfície endotelial de bifurcações arteriais cerebrais humanas. *Arq Bras Neurociur*. 2009a; 28: 1-8.

Ortiz-Velázquez RI, Mendes Pereira Caldas JG, Rocha Lobo BC, Santos-Franco JA, Mercado-Pimentel, Revuleta R. Three-dimensional rotational angiography in murine models: a technical note. *Clinics*. 2009b; 12(64): 1234-6.

Ostergaard J, Hog E. Incidence of multiple intracranial aneurysms. Influence of arterial hypertension and gender. *J Neurosurg.* 1985; 63: 49-55.

Ostergaard J, Reske-Nielsen E, Oxlund H. Histological and morphometric observations on the reticular fibers in the arterial beds of patients with ruptured intracranial saccular aneurysms. *Neurosurgery.* 1987; 20: 554-8.

Ostergaard JR. Deficiency of reticular fibers in cerebral arteries: on the etiology of saccular aneurysms in childhood. *Br J Neurosurg.* 1989a; 3: 113-5.

Ostergaard J. Risk factors in intracranial saccular aneurysms. *Acta Neurol Scan.* 1989b; 80: 81-98.

Ouchi H, Tagawa M, Yamakado R, Takanashi R, Tanaka S. Clinical significance of cerebral aneurysm in renovascular hypertension due to fibromuscular dysplasia: Two cases in siblings. *Angiology.* 1989; 40: 581-8.

Painter P, Edén P, Bengtsson H. Pulsatile blood flow, shear force, energy dissipation and Murray's Law. *Theor Biol Med Model.* 2006; 21: 3-31.

Palubinskas A, Perloff D, Newton D. Fibromuscular hyperplasia, an arterial dysplasia of increasing clinical importance. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med.* 1966; 98: 907-13.

Patel A, Richardson A. Ruptured intracranial aneurysms in the first two decades of life. A study of 58 patients. *J Neurosurg.* 1971; 35: 571-6.

Patel D, Vaishnav R, Gow B, Kot P. Hemodynamics. *Annu Rev Physio.* 1974; 3: 125-54.

Peattie R, Fisher R. Perfusion Effects and Hydrodynamics. *Adv Biochem Engin/Biotechnol.* 2006; 103: 75–156.

Perloff D, Sokolow M, Wylie E, Smith D, Palubinskas A. Hypertension Secondary to Renal Artery Occlusive Disease. *Circulation.* 1961; 24: 1286-1304.

Petrinec D, Liao S, Holmes D, Reilly J, Parks W, Thompson R. Doxycycline inhibition of aneurysmal degeneration in an elastase-induced rat model of abdominal aortic aneurysm: Preservation of aortic elastin associated with suppressed production of 92 kD gelatinase. *J Vasc Surg.* 1996; 23: 336-46.

Piccinelli M, Veneziani A, Steinman D, Remuzzi A, Antiga L. A Framework for Geometric Analysis of Vascular Structures: Application to Cerebral Aneurysms. *IEEE Trans Med Imaging.* 2009; 28: 1141-55.

Pober J, Min M, Bradley J. Mechanisms of Endothelial Dysfunction, Injury, and Death. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2009; 4: 71-95.

Quigley M, Heiferman K, Kwaan H, Vidovich D, Nora P, Cerullo L. Bursting pressure of experimental aneurysms. *J Neurosurg*. 1987; 67: 288-90.

Qureshi A, Suarez J, Parekh P, Sung G, Geocadin R, Bhardwaj L et al. Risk factors for multiple intracranial aneurysms. *Neurosurgery*. 1998; 43: 22-6.

Richter Y, Groothuis A, Seifert P, Edelman E. Dynamic flow alterations dictate leukocyte adhesion and response to endovascular interventions. *J Clin Invest*. 2004; 113: 1607-14.

Rinne J, Hernesniemi J, Puranen M, Saari T. Multiple intracranial aneurysms in a defined population: Prospective angiographic and clinical study. *Neurosurgery*. 1994; 35: 803-8.

Roach M. Biophysical analyses of blood vessel walls and blood flow. *Ann Rev Physiol*. 1977; 39: 51-71.

Rosen R. The vascular system. In: Rosen R. *Optimality principles in biology*. London: The Camelot Press Ltd.; 1967. 41-59.

Rossitti, S. Energetic and spatial constraints of arterial networks. *Arg Neuropsychiatr*. 1995; 53(2): 333-341.

Rowe A, Finlay H, Canham P. Collagen Biomechanics in Cerebral Arteries and Bifurcations Assessed by Polarizing Microscopy. *J Vasc Res*. 2003; 40: 406-15.

Sadamasa N, Nozaki K, Hashimoto N. Disruption of gene for inducible nitric oxide synthase reduces progression of cerebral aneurysms. *Stroke*. 2003; 34: 2980-4.

Safar M, Laurent P. Pulse pressure and arterial stiffness in rats: comparison with humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003; 285: H1363–H1369.

Safar M, Simon A. Hemodynamics in systolic hypertension. In: Zanchetti A, Tarazi R (Eds.), *Pathophysiology of Hypertension: Cardiovascular Aspects*. 7v. New York: Elsevier Science Publishing Co.; 1986. 225-41.

Safar M, Laurent S, Benetos A, London G. The common carotid circulation in patients with essential hypertension. *Stroke*. 1988; 19: 1198-202.

Sarner M, Crawford M. Ruptured intracranial aneurysm. *Clinical series. Lancet*. 1965; 2: 1251-4.

- Satcher R, Bussolari S, Gimbrone M, Dewey C. The distribution of fluid forces on model arterial endothelium using computational fluid dynamics. *J Biomech Eng.* 1992; 14: 309-16.
- Scanarini M. Histological and ultrastructural study of intracranial saccular aneurysmal wall. *Acta Neurochir (Wien).* 1978; 43: 171-82.
- Scanarini M, Mingrino S, Giordano R, Baroni A. Histological and ultrastructural study of saccular intracranial aneurysmal wall. *Acta Neurochir.* 1978; 43: 171-82.
- Schievink W, Michels V, Piegras D. Neurovascular manifestations of heritable connective tissue disorders: a review. *Stroke.* 1994; 25: 889-903.
- Sekhar L, Heros R. Origin, growth and rupture of saccular aneurysms: a review. *Neurosurgery.* 1981; 8: 248-60.
- Sforza D, Putman C, Cebal J. Hemodynamics of Cerebral Aneurysms. *Annu Rev Fluid Mech.* 2009; 41: 91-107.
- Shah A, Humphrey J. Finite strain elastodynamics of saccular aneurysms. *J Biomech.* 1999; 32: 593-9.
- Sheffield EA, W. R. Age changes at cerebral artery bifurcations and the pathogenesis of berry aneurysms. *J Neurol Sci.* 1980; 46, 341-52.
- Shojima M, Oshima M, Takagi K, Torii R, Hayakawa M, Katada K, et al. Magnitude and Role of Wall Shear Stress on Cerebral Aneurysm: Computational Fluid Dynamic Study of 20 Middle Cerebral Artery Aneurysms. *Stroke.* 2004; 35: 2500-05.
- Shojima M, Oshima M, Takagi K, Torii R, Nagata K, Shirouzu I, et al. Role of the Bloodstream Impacting Force and the Local Pressure Elevation in the Rupture of Cerebral Aneurysms. *Stroke.* 2005; 36: 1933-8.
- Simkins T, Stehbens W. Vibrational behavior of arterial aneurysms. *Lett Appl Engr Sci.* 1973; 1: 85-100.
- Simpson RK. Epidemiological characteristics of subarachnoid hemorrhage in an urban population. *J.Clin Epidemiol.* 1991; 44: 641-8.
- Skalak R, Dasgupta G, Moss M. Analytical description of growth. *J Theor Biol.* 1982; 94: 555-77.
- Skalak R, Ozkaya N. Biofluid mechanics. *Annu Rev Fluid Mech.* 1989; 21: 167-200.

Skalak R, Zargaryan S, Jain R, Netti P, Hoger A. Compatibility and the genesis of residual stress by volumetric growth. *J Math Biol.* 1996; 34: 889-914.

Speelman L, Bohra A, Bosboom E, Schurink G, Van de Vosse F, Makaorun M, et al. Effects of Wall Calcifications in Patient-Specific Wall Stress Analyses of Abdominal Aortic Aneurysms. *J Biomech Eng.* 2007; 129: 105-9.

Stehbens W. History of aneurysms. *Med Hist.* 1958; 2(4): 274-80.

Stehbens W. Aneurysms and anatomical variation of cerebral arteries. *Arch Pathol.* 1963; 75: 45-64.

Stehbens W. Ultrastructure of aneurysms. *Arch Neurol.* 1975; 32: 798-807.

Stehbens W. Etiology of the intracranial berry aneurysms. *J. Neurosurg.* 1989; 70: 823-31.

Stehbens W. Pathology and pathogenesis of intracranial berry aneurysms. *Neurol Res.* 1990; 12: 29-34.

Stehbens W. Apoptosis and Matrix Vesicles in the Genesis of Arterial Aneurysms of Cerebral Arteries. *Stroke.* 1998; 29: 1478-80.

Stehbens W. In Re: Histologic and Morphologic Comparison of Experimental Aneurysms with Human Intracranial Aneurysms. *AJNR.* 2000; 21: 1770.

Steiger H, Aaslid R, Keller S, Reulen H. Strength, elasticity and viscoelastic properties of cerebral aneurysms. *Heart Vessels.* 1986; 5: 41-6.

Steiger H, Liepsch D, Poll A, Reulen H. Hemodynamic stress in terminal saccular aneurysms: a laser doppler study. *Heart Vessels.* 1988; 4: 41-6.

Steiger W. Pathophysiology of development and rupture of cerebral aneurysm. *Acta Neurochir Suppl.* 1990; 48: 1-57.

Steinmetz E, Buckley C, Shames M, Ennis T, Vanvickle-Chavez S, Mao D, et al. Treatment with simvastatin suppresses the development of experimental abdominal aortic aneurysms in normal and hypercholesterolemic mice. *Ann Surg.* 2005; 241: 92–101.

Suo J, Ferrara D, Sorescu D, Guldberg R, Taylor W, Giddens D. Hemodynamic Shear Stresses in Mouse Aortas Implications for Atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 346-51.

Susic D. Hypertension, aging, and atherosclerosis. The endothelial interference. *Med Clin North Am.* 1997; 81: 1231-40.

Suzuki J, Ohara H. Clinicopathological study of cerebral aneurysms: origin, rupture, repair and growth. *J Neurosurg.* 1978; 48(4): 505-14.

Suzuki S, Robertson J, White R, Stadlan E, Popoff. Experimental intracranial aneurysms in rats: a gross and microscopic study. *J Neurosurg.* 1980; 52(4): 494-500.

Tateshima S, Murayama Y, Villablanca J. Intraaneurysmal flow dynamics study featuring an acrylic aneurysm model manufactured using a computerized tomography angiogram as a mold. *J Neurosurg.* 2001; 95: 1020-7.

Tateshima S. In vitro measurement of fluidinduced wall shear stress in unruptured cerebral aneurysms harboring blebs. *Stroke.* 2003; 34: 187–92.

Tateshima S, Tanishita K, Omura H, Villablanca J, Viñuela F. Intra-Aneurysmal Hemodynamics during the Growth of an Unruptured Aneurysm: In Vitro Study Using Longitudinal CT Angiogram Database. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007; 28: 622-27.

Tateshima S, Tanishita K, Viñuela F. Hemodynamics and cerebrovascular disease. *Surg neurol.* 2008; 70: 447-453.

Taylor CL. Cerebral arterial aneurysms formation and rupture in 20,767 elderly patients: hypertension and other risk factors. *J Neurosurg.* 1995; 83: 812-8.

Taylor CA. Experimental and computational methods in cardiovascular fluidmechanics. *Annu Rev Fluid Mech.* 2004; 36: 197-231.

Taylor C, Humphrey J. Open problems in computational vascular biomechanics: Hemodynamics and arterial wall mechanics. *Comput Methods Appl Mech Engrg.* 2009; 198: 3514-23.

Ter Berg HW. Familial intracranial aneurysms. *Stroke.* 1992; 23: 1024-30.

Thompson D. *On growth and form.* United Kingdom: Cambridge University Press, 1992.

Timperman PE. Aneurysm Formation after Carotid Occlusion. *AJNR.* 1993; 16: 329-31.

Tobian L. Salt and hypertension: lessons from animal models that relate to human hypertension. *Hypertension.* 1991; 17: S152–S158.

Todorovich-Hunter L, Johnson D, Ranger P, Keeley F, Rabinovitch M. Altered elastin and collagen synthesis associated with progressive pulmonary hypertension induced by monocrotaline. *Lab Invest*. 1988; 58: 184-95.

Torii R, Oshima M, Kobayashi T, Takagi K, Tezduyar T. Fluid–structure interaction modeling of aneurysmal conditions with high and normal blood pressures. *Comput Mech*. 2006; 38: 482-90.

Tsoucaris-Kupfer, D, Benetos A, Legrand M, Safar M. Pulse pressure gradient along the aortic tree in normotensive Wistar-Kioto and spontaneously hypertensive rats: effect of nicardipine. *J Hypertens*. 1993; 11: 135-9.

Tsoucaris D, Benetos A, Legrand M, London G, Safar M. Proximal and distal pulse pressure after acute antihypertensive vasodilating drugs in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 1995; 13: 243-9.

Van Alphen H, Gao Y, Kamphorst W. An acute experimental model of saccular aneurysms in the rat. *Neurol Res*. 1990; 12: 256-9.

Van de Vosse, F. Mathematical modelling of the cardiovascular system. *J Eng Math*. 2003; 47: 175-83.

Walker AE. The national survey of stroke. clinical findings. *Stroke*. 1981; 1(suppl): 13-44.

Walmsley J. Vascular smooth muscle orientation in curved branches and bifurcations of human cerebral arteries. *J Microsc*. 1983a; 131 (Pt 3): 377-89.

Walmsley J, Campling M, Chertkow H. Interrelationships Among Wall Structure, Smooth Muscle Orientation, and Contraction in Human Major Cerebral Arteries. *Stroke*. 1983b; 14: 781-90.

Wang Z, Kolega J, Hoi Y, Gao L, Swartz D, Levy E, et al. Molecular Alterations associated with aneurysmal remodeling are localized in the high hemodynamic stress region of created carotid bifurcation. *Neurosurgery*. 2009; 65: 169-78.

Weller R. Subarachnoid haemorrhage and myths about saccular aneurysms. *J Clin Pathol*. 1995; 48: 1078-81.

Westerhof N, Stergiopulos N, Noble M. Vascular remodeling. In: Westerhof N, Stergiopulos N, Noble M. *Snapshots of hemodynamics*. Boston: Springer; 2005a. 137-41.

Westerhof N, Stergiopulos N, Noble M. Blood flow and arterial disease. In Westerhof N, Stergiopulos N, Noble M. *Snapshots of hemodynamics*. Boston: Springer; 2005b. 143-6.

Wilson G. The pathological anatomy of ruptured cerebral aneurysms. *J Neurosurg.* 1954; 11: 128-34.

Wolinsky H. Response of the rat aortic media to hypertension. *Circ Res.* 1970; 26: 507-522.

Wolinsky H. Long-term effects of hypertension on the rat aortic wall and their relation to concurrent aging changes. *Circ Res.* 1972; 30: 301-9.

Wootton D, Ku D. Fluid Mechanics of Vascular Systems, Diseases, and Thrombosis. *Annu Rev Biomed Eng.* 1999; 1: 299-329.

Yasargil M. Aneurysms. In: Yasargil M. *Microneurosurgery.* 2v. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1984.

Zamir M. Optimality principles in arterial branching. *J Theor Biol.* 1976a; 62: 227-51.

Zamir M. The role of shear forces in arterial branching. *J Gen Physiol.* 1976b; 67: 213-22.

Zamir M, Medeiros J, Cunningham T. Arterial bifurcations in the human retina. *J Gen Physiol.* 1979; 74: 537-48.

Zamir M. Three-dimensional aspects of arterial branching. *J Theor Biol.* 1981; 90: 457-6.

Zamir M, Brown N. Arterial branching in various parts of the cardiovascular system. *Am J Anat.* 1982a; 163: 295-307.

Zamir M, Medeiros J. Arterial branching in man and monkey. *J Gen Physiol.* 1982b; 79: 353-60.

Zamir M, Wrigley S, Langille B. Arterial bifurcations in the cardiovascular system of a rat. *J Gen Physiol.* 1983; 81: 325-35.

Zamir M, Chee H. Branching characteristics of human coronary arteries. *Can J Physiol Pharmacol.* 1984; 64: 661-8.

Zamir M. *The physics of pulsatile flow.* New York: Springer-Verlag; 2000.

Zarins C, Giddens D, Bharadvaj B, Sottiurai V. Quantitative correlation of plaque localization with flow velocity profiles and wall shear stress. *Circ Res.* 1983; 53: 502-514.

Zhang W, Liu Y, Kassab G. Viscoelasticity reduces the dynamic stresses and strains in the vessel wall: implications for vessel fatigue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 293: H2355–H2360.

Zhang W, Liu A, Yi-Ming W, Liu J, Shen F, Su D. Pressor and non-pressor effects of sodium loading on stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008; 35: 83-8.

Zhao J, Day J, Yuan Z, Gregersen H. Regional arterial stress-strain distributions referenced to the zero-stress state in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 282: H622–H629.

Zulliger M, Kwak N, Tsapikount T, Stergiopulos N. Effects of longitudinal stretch on VSM tone and distensibility of muscular conduit arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 283: H2599-H2605.