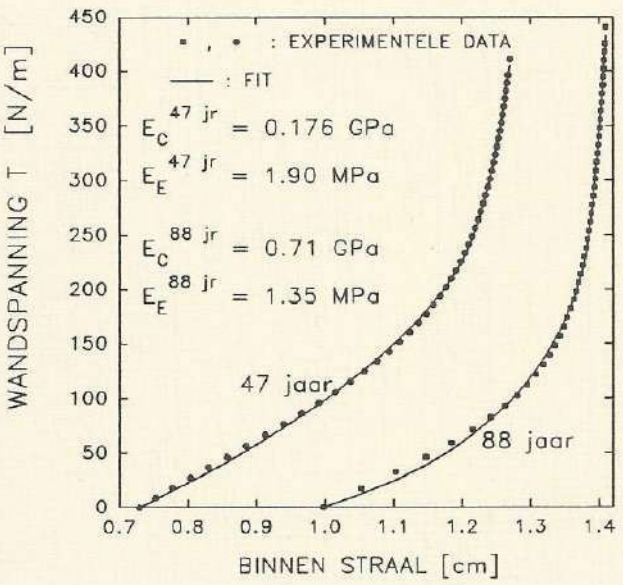
Universiteit Antwerpen
Universitaire Instelling Antwerpen
Departement Natuurkunde

STRUCTUREEL FYSISCH MODEL TER QUANTIFIERING VAN DE ELASTICITEITSEIGENSCHAPPEN VAN BLOEDVATEN.

Invloed van de leeftijd op de elasticiteitsmoduli van humane aorta's.



Proefschrift voorgelegd tot het behalen van de graad van
Doctor in de Wetenschappen, groep Natuurkunde
aan de Universitaire Instelling Antwerpen
te verdedigen door

FLORIS L.E. WUYTS

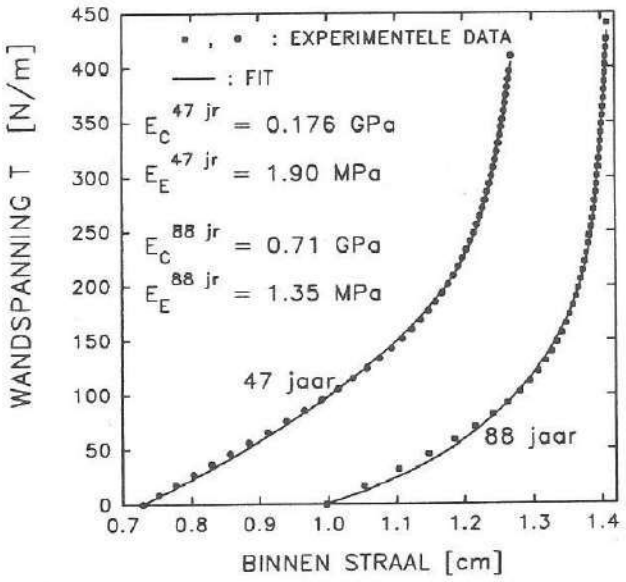
Promotor: Prof. Dr. V. Vanhuyse
Co-promotor: Dr. E. Raman

Antwerpen, 1991

Universiteit Antwerpen
Universitaire Instelling Antwerpen
Departement Natuurkunde

STRUCTUREEL FYSISCH MODEL TER QUANTIFIERING VAN DE ELASTICITEITSEIGENSCHAPPEN VAN BLOEDVATEN.

Invloed van de leeftijd op de elasticiteitsmoduli van humane aorta's.



Proefschrift voorgelegd tot het behalen van de graad van
Doctor in de Wetenschappen, groep Natuurkunde
aan de Universitaire Instelling Antwerpen
te verdedigen door

FLORIS L.E. WUYTS

Promotor: Prof. Dr. V. Vanhuyse
Co-promotor: Dr. E. Raman

Antwerpen, 1991

aan Sonja

aan mijn ouders en grootouders

Figuur op de omslag: Experimentele wandspanning-straal relaties van twee humane thoracale aorta's, aangepast door het 2-componenten model. (exp. data Langewouters et al 1984)

DANKWOORD

Dit proefschrift is het resultaat van 5 jaar onderzoek, waarbij ik de kans heb gekregen om mijn weg te zoeken doorheen het landschap van de biomedische fysica. Hierbij heb ik vele mensen uit diverse disciplines ontmoet. Menigeen onder hen heeft tijdens deze periode van onderzoek een deel van zijn kennis op mij overgedragen. Bij deze gelegenheid wil ik hen daarvoor erkentelijk zijn.

In de eerste plaats dank ik Prof. Dr. V. Vanhuyse, de promotor van dit werk:

Beste Prof: Ik heb steeds met volle teugen genoten van de uren die wij samen achter uw bureau of thuis aan tafel doorbrachten, discussiërend en sleutelend aan het model. Het is ook tijdens die momenten dat ik echt het plezier heb leren kennen van het vertalen van fysische fenomenen in wiskundige uitdrukkingen. Ik ben ook steeds erg gesteund geweest door uw vaste overtuiging dat "het nu eens gedaan moet zijn met die incrementele modulus". Ik hoop dat er in de toekomst nog dergelijke inspirerende gesprekken mogen plaatshebben. Ik ben ook zeer dankbaar voor de vrijheid die U mij heeft gelaten tijdens het tot stand komen van dit werk. Tot slot wens ik U te danken voor de kritische lezing van het manuscript.

Dr. E. Raman, Beste Erik: Dank zij U heb ik in de eerste plaats de kans gekregen om te beginnen met onderzoek in de Biomedische Fysica. Verder ben ik U veel dank verschuldigd voor de goede suggesties en het lezen van het manuscript.

Dr F. Van Meir, Beste Frans: Het deed mij een groot plezier te weten dat ik steeds op uw medewerking kon rekenen. Het meten van de histologische coupes waar U vele uren aan besteedde, was van zeer groot belang voor mijn werk, zelfs onontbeerlijk. Mijn oprechte dank hiervoor.

Dr. G. Langewouters, Beste Gerard: Allicht had dit werk er niet zo uitgezien zonder uw steun. Op het moment dat ik zelf nog geen experimentele resultaten had, hebt U uw metingen ter beschikking gesteld om het model uit te testen. Dat was op dat moment van cruciaal belang.

Dr. G. De Meyer, Beste Guido: Het experimentele deel van de thesis vindt zijn 'aderen' terug bij uw konijnen. Zonder uw hulp en bereidwilligheid om "het eens te proberen" had ik niet tot deze resultaten kunnen komen. Vandaar mijn oprechte dank.

Verder dank ik de medewerkers van het labo op het Ruca. In het bijzonder Maryse Ceulemans voor haar steeds goede humeur en haar hulp bij de administratieve problemen.

Luc Sanspoux voor de 'pico bello' uitstekend verzorgde tekeningen uit dit werk. Wouter Creten voor zijn grote hulp bij de statistische verwerking en Karel van Camp o.a. voor de logistieke steun. Jan Van Hecke voor de hulp die hij geboden heeft bij de bouw van de opstelling, en vooral bij het 'trouble-shooting' op momenten dat ik aan het meten was aan een vers bloedvat (en het dus héél dringend was). Hubert Pype en Flor Peeters voor hun bijdrage aan het mechanisch deel van de opstelling. Wim Decraemer voor zijn steeds kritische opmerkingen, en Marleen en Chantal voor de morele steun.

Daarnaast dank ik de mensen van al de verschillende disciplines en laboratoria, die hun steentje hebben bijgedragen aan dit werk: Dr W. Jacob en ing. Andre Van Daele van het labo voor Elektronen Microscopie van het UIA, Dr. Nora De Clerck en Prof Dr. P. Van Bogaert van het laboratorium voor menselijke fysiologie, voor hun hulp en goede suggesties vanuit een andere hoek. Dr. Mark Kockx van Anatome Pathologie AZ-Middelheim, Prof. Mike Robberts, Dr. Takeo Matsumoto, Peter Verdijk, Dr. Piet Boels, Veronika o.a. voor de PC, Dr. Kris Deman en Bart Bohy.

Ik wens hier tevens mijn ouders te danken voor de boeiende en rijke opvoeding die ze mij hebben gegeven, en voor de harmonieuze sfeer van geestelijke verrijking die thuis steeds aanwezig was en die daardoor zeker mee aan de grondslag heeft gelegen van mijn keuze om vorser te worden.

Tot slot dank ik Sonja, niet alleen voor haar liefde en steun, maar zeker ook voor haar brilliante geest en wetenschappelijke instelling die het mogelijk maakten dat we (vaak 's nachts) hebben kunnen discussiëren over onder meer de geneeskundige implicaties van het model uit deze thesis. Haar interessante visies zijn mij vaak ten nutte geweest.

INLEIDING

HOOFDSTUK 1.
FYSIOLOGISCHE FUNCTIE EN MORFOLOGISCHE STRUCTUUR VAN BLOEDVATEN.

1.1 INLEIDING 1
1.2 DE CARDIOVASCULAIRE CIRCULATIE 1
1.3 BOUWSTENEN VAN DE VAATWAND 4
1.3.1 Elastine 4
1.3.2 Collageen 5
1.3.2.1 Moleculaire structuur van collageen 5
1.3.2.2 Typen collageen 6
1.3.2.3 Elasticiteits-modulus van collageen 7
1.3.3 Gladde spiercellen 7
1.4 STRUCTUUR VAN DE VAATWAND 8
1.4.1 Intima 8
1.4.2 Media 9
1.4.3 Adventitia 9
1.5 KRACHT-LENGTE RELATIE VAN EEN BLOEDVAT 10

HOOFDSTUK 2.
DIVERSE METHODEN TER BESCHRIJVING VAN DE ELASTISCHE EIGENSCHAPPEN VAN BLOEDVATEN.

2.1 INLEIDING 13
2.2 PROBLEEMSTELLING 13
2.3 INCREMENTELE MODULUS METHODE 14
2.3.1 Definitie 14
2.3.2 Illustratie 16
2.4 ALTERNATIEVE FORMULERINGEN VOOR DE INCREMENTELE MODULUS 17
2.5 REK-ENERGIE-FUNCTIE FORMULERINGEN 18
2.6 FENOMENOLOGISCH MODELLEN 19
2.7 STRUCTURELE MODELLEN 21
2.8 BESLUIT 22

HOOFDSTUK 3.
HET 2-COMPONENTEN MODEL.

3.1 INLEIDING 23
3.2 BASISVERONDERSTELLINGEN 23
3.3 TOTALE WANDSPANNING T, AFGELEID UIT ALGEMENE ELASTICITEITS-THEORIE 25
3.3.1 Opmerking aangaande de nomenclatuur 25
3.3.2 Uitdrukking voor de wandspanning T 26
3.3.3 Alternatieve uitdrukkingen voor de wandspanning T 27
3.4 TOTALE WANDSPANNING T, AFGELEID AAN DE HAND VAN DE STRUCTURELE COMPONENTEN VAN DE BLOEDVATWAND 27
3.4.1 Algemene beginselen - Model beschrijving 28
3.4.1.1 Collageen 28
3.4.1.2 Verdelingsfunctie voor de beginlengten 29
3.4.1.3 Wet van Hooke 29
3.4.1.4 Elastine 30
3.4.1.5 Onsamendrukbaarheid van bloedvaten 31
3.4.2 Wiskundige afleiding van het model 31
3.4.2.1 Wandspanning ten gevolge van de collageencomponent 32
A. Lorentz verdeling 34
B. Gauss verdeling 35
Uitdrukking voor de totale kracht uitgeoefend door de collageencomponent 38
C. Wiskundig interludium 40
3.4.2.2 Wandspanning ten gevolge van de elastine-component 43
3.4.2.3 Totale wandspanning van een bloedvat - Constitutieve vergelijking van het 2-componenten model . . . 45
3.4.3 Betekenis en interpretatie van de modelparameters E_C, E_E, μ_a, γ_a 46
3.4.3.1 Voorbeeld van een aanpassing van het model aan een experiment 46
3.4.3.2 De Young moduli E_C en E_E 48
3.4.3.3 De parameters μ_a en ϵ_μ 49
3.4.3.4 De parameter γ_a 50

3.4.3.5 De werkzame druk $P(\mu_a)$ 50
3.4.3.6 Besluit 51

HOOFDSTUK 4.
TOEPASSING VAN HET MODEL OP EXPERIMENTELE GEGEVENS

4.1 INLEIDING 53
4.2 METHODE EN EXPERIMENTEN VAN LANGEWOUTERS 54
4.3 METHODE VAN OMREKENING VAN DE EXPERIMENTELE GEGEVENS VAN LANGEWOUTERS NAAR DATA BRUIKBAAR VOOR HET MODEL 56
4.4 MINIMALISATIE-PROCEDURE 58
4.5 RESULTATEN VAN DE TOEPASSING VAN HET MODEL OP DE EXPERIMENTELE GEGEVENS VAN LANGEWOUTERS 59
4.6 BESLUIT BETREFFENDE DE PARAMETER-FITTING AAN DE GEGEVENS VAN LANGEWOUTERS 65

HOOFDSTUK 5.
INVLOED VAN DE LEEFTIJD OP DE STIJFHEID VAN HUMANE THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S. STATISTISCHE BEHANDELING VAN DE MODEL-PARAMETERS

5.1 INLEIDING 67
5.2 STATISTISCHE METHODE 67
5.2.1 Lineaire regressie analyse 68
5.2.2 Covariantie analyse 68
5.3 PARAMETERS TER DISCUSSIE 70
5.4 INVLOED VAN MATE VAN ATHEROSCLEROSE OP DE EVOLUTIE VAN DE MODEL-PARAMETERS ifv DE LEEFTIJD, BIJ THORACALE AORTA'S. 71
5.4.0 Atherosclerose 71
5.4.1 Atheroclerose en E_c i.f.v de leeftijd 71
5.4.2 Atheroclerose en E_E i.f.v de leeftijd 74
5.4.3 Atheroclerose en ϵ_μ i.f.v de leeftijd 75
5.4.4 Atheroclerose en γ_s i.f.v de leeftijd 77
5.4.5 Atheroclerose en $P(\mu_a)$ ifv de leeftijd 79

5.4.6 Besluit betreffende atherosclerose en de modelparameters 80
5.5 INVLOED VAN GESLACHT OP DE EVOLUTIE VAN DE MODEL-PARAMETERS ifv VAN DE LEEFTIJD 81
5.5.1 Invloed van geslacht en de evolutie van E_C ifv de leeftijd 81
5.5.2 Invloed van geslacht en de evolutie van E_E ifv de leeftijd 82
5.5.3 Invloed van geslacht en de evolutie van ϵ_μ ifv de leeftijd 83
5.5.4 Invloed van geslacht en de evolutie van γ_s ifv de leeftijd 85
5.5.5 Invloed van geslacht en de evolutie van $P(\mu_s)$ ifv de leeftijd 86
5.5.6 Besluit aangaande de invloed van het geslacht op de modelparameters 88
5.6 MODEL-PARAMETERS ifv LEEFTIJD BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S 89
5.6.1 E_C i.f.v. leeftijd 89
5.6.2 Algemene conclusies betreffende de stijfheid van de collageencomponent bij thoracale en abdominale aorta's 90
5.6.3 E_E i.f.v. leeftijd 92
5.6.4 Algemene conclusies betreffende de stijfheid van de elastinecomponent bij thoracale en abdominale aorta's 93
5.6.5 Rek ϵ_μ i.f.v. leeftijd 94
5.6.6 Algemene conclusies betreffende de parameter ϵ_μ bij thoracale en abdominale aorta's 96
5.6.7 γ_s i.f.v. leeftijd 96
5.6.8 Algemene conclusies betreffende de parameter γ_s bij thoracale en abdominale aorta's 98
5.6.9 $P(\mu_s)$ i.f.v. leeftijd 99
5.6.10 Algemene conclusies betreffende de parameter $P(\mu_s)$ bij thoracale en abdominale aorta's 100
5.7 GEOMETRIE VERANDERINGEN IN FUNCTIE VAN DE LEEFTIJD . . . 101
5.7.1 Wanddikte H, van thoracale en abdominale aorta's 101
5.7.2 Beginstraal van thoracale en abdominale aorta's 102

5.7.3 Besluit betreffende de geometrieveranderingen bij thoracale en abdominale aorta's 104

5.8 BESLUIT 104

HOOFDSTUK 6.
MEETAPPARATUUR BESCHRIJVING.

6.1 INLEIDING 105
6.2 HOOFDDOEL VAN DE MEETOPSTELLING EN CHRONOLOGISCH VERLOOP VAN EEN EXPERIMENT 107
6.3 BASISCOMPONENTEN VAN DE MEETOPSTELLING 108
6.4 COMPUTER GESTUURDE MEETAPPARATUUR - BESCHRIJVING . . . 110
6.4.1 Computer IBM PS/2 111
A. Kenmerken 111
B. Labwindows 112
6.4.2 Functie generator 115
6.4.3 Trillings excitator 116
6.4.4 Verplaatsingsopnemer 117
6.4.5 Krachtopnemer 118
6.4.6 Differentiaalversterkers 119
6.4.7 XY schrijver 120
6.4.8 Het vloeistofbad 120
6.5 DE BEVESTIGING VAN HET BLOEDVAT 121
6.6 VERLOOP VAN EEN EXPERIMENT 122
6.7 OMREKENING VAN KRACHT-LENGTE NAAR WANDSPANNING-STRAAI125

HOOFDSTUK 7.
HISTOLOGISCHE BEPALING VAN ELASTINE EN COLLAGEEN IN DE BLOEDVATWAND.

7.1 INLEIDING 127
7.2 KLEURING VAN DE COUPES 127
7.3 MORFOMETRIE VAN ELASTINE EN COLLAGEEN IN DE BLOEDVATWAND 128

7.3.1 Bepaling van de elastinecomponent en het referentie oppervlak 128
7.3.2 Bepaling van de collageencomponent 130
7.4 MORFOMETRIE VAN DE BLOEDVATWANDDIKTE 131

HOOFDSTUK 8.
ATHEROSCLEROSE EN DE STIJFHEID VAN DE ARTERIA CAROTIS BIJ HET KONIJN.

8.1 INLEIDING 133
8.2 ATHEROSCLEROSE 133
8.3 RESULTATEN VAN DE EXPERIMENTELE METINGEN 137
8.3.1 Relatieve hoeveelheid collageen bij de controle en aangetaste bloedvaten 137
8.3.2 Relatieve hoeveelheid elastine bij de controle en aangetaste bloedvaten 138
8.3.3 E_C bij de controle en aangetaste bloedvaten 139
8.3.4 E_E bij de controle en aangetaste bloedvaten 140
8.3.5 ϵ_μ bij de controle en aangetaste bloedvaten 140
8.3.6 γ_s bij de controle en aangetaste bloedvaten 141
8.4 EINDCONCLUSIES BETREFFENDE DE INVLOED VAN NEO-INTIMA VORMING OP DE MODELPARAMETERS 142

BESLUIT 145

REFERENTIES 147

Inleiding

De onderhavige thesis heeft als hoofddoel de studie van de elasticiteits-eigenschappen van bloedvaten. Bloedvaten zijn, net als de meeste biologische materialen, niet lineair-elastisch, zodat het niet zinvol is om het elastisch gedrag te typeren door middel van een "Young Modulus".
Centraal in de thesis staat een model dat geconstrueerd werd aan de hand van histologische karakteristieken van bloedvaten. Dit model beschrijft het elastisch gedrag van bloedvaten, wanneer deze onderworpen worden aan een inwendige druk, en het introduceert een set van vier elasticiteits-coefficienten die eenduidig het onderzochte bloedvat karakterizeren. Het model is een poging om een zinvol, fysisch verantwoord alternatief te bieden voor de "Incrementele Modulus" welke veelvuldig gebruikt wordt in de literatuur als zogenaamde stijfheidsmodulus. Deze incrementele modulus is echter een functie van de opgelegde druk waarbij gemeten wordt, wat aanleiding geeft tot het variabele aspect van deze elasticiteitsmodulus.

Deze thesis bevat drie eenvoudig te onderscheiden onderdelen.

Het eerste deel omvat de ontwikkeling en afleiding van het fysisch model, voorafgegaan door een fysiologische en histologische uiteenzetting aangaande de functie en samenstelling van bloedvaten.

Het tweede deel bevat de toepassing van het model op metingen uit de literatuur, waarbij nagegaan wordt wat de invloed is van de leeftijd op de stijfheid van menselijke aorta's. Statistische behandeling van de resultaten laat toe ondanks de biologische variabiliteit duidelijk significante resultaten te extraheren.

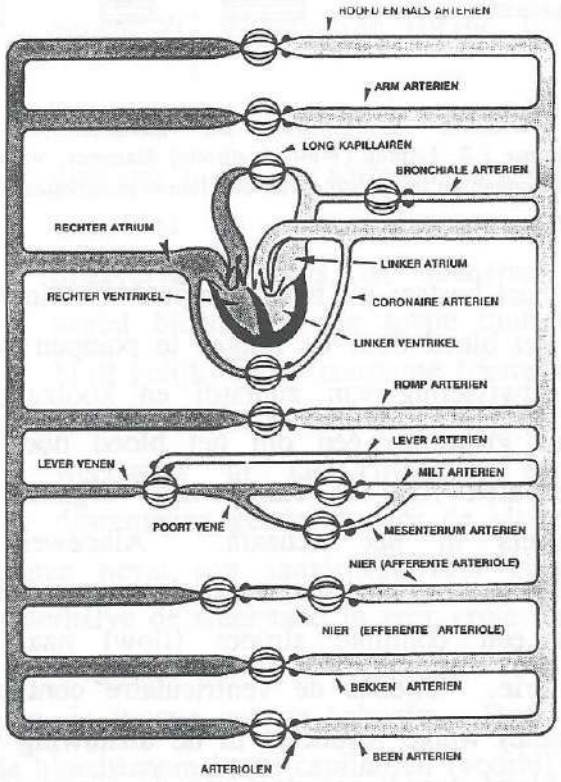
Het derde deel behelst de toepassing van het model op eigenhandig verrichte metingen op geatheroascleroseerde halsslagaders van konijnen. Hierbij gaat de aandacht tevens uit naar de bouw van een computergestuurde experimentele meet-opstelling nodig om de metingen uit te voeren, en naar de histologische metingen die de wandsamenstelling van de bloedvaten bepalen.

Hoofdstuk 1.

Fysiologische functie en morfologische structuur van bloedvaten.

1.1 INLEIDING.

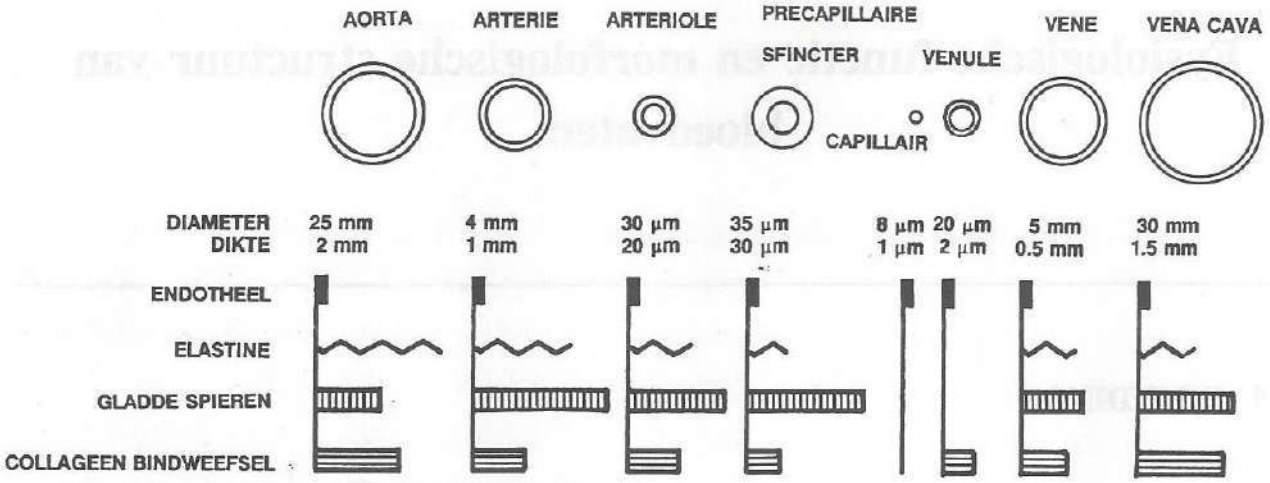
Aangezien deze thesis zich situeert in het domein van de biomedische fysica, lijkt het ons zinvol om naast het natuurkundige aspect ook wat fysiologie aan te raken, om aldus een betere notie te krijgen van de interactie tussen beide wetenschappelijke disciplines.
Vandaar dat in dit eerste hoofdstuk wordt uiteengezet wat de fysiologische functie is van de bloedvaten en wat de bouwstenen van de vaatwanden zijn.



Figuur 1.1: Schematische voorstelling van de serie en parallel schakeling van de bloedvaten van de circulatie. (Naar Berne 1988)

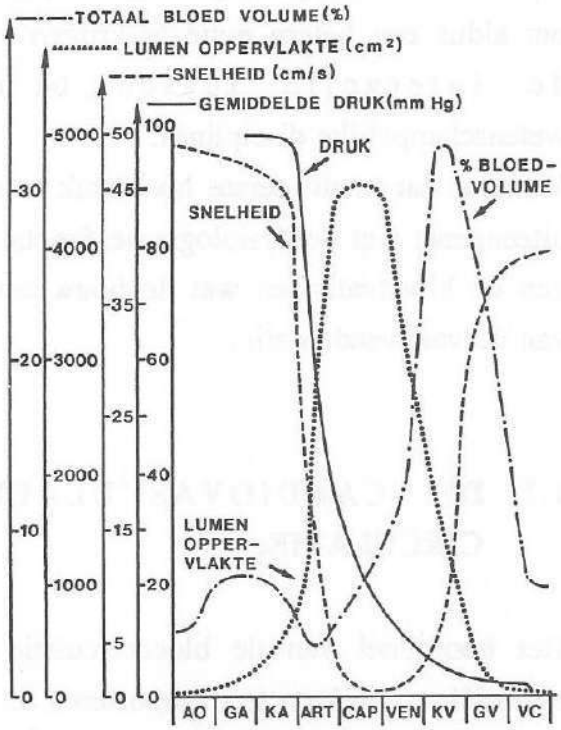
1.2 DE CARDIOVASCULAIRE CIRCULATIE.

Het hoofddoel van de bloedcirculatie is essentiële produkten te transporteren en te verdelen naar het lichaamsweefsel en afval-produkten afkomstig van het metabolisme af te voeren. Daarnaast neemt de circulatie eveneens deel aan processen die de lichaamstemperatuur constant dienen te houden, zorgt het voor de uitwisseling van hormonale stoffen tussen de diverse organen, en past de voorziening van zuurstof en voedingsstoffen aan, al naargelang de fysiologische omstandigheden zoals zware arbeid, stress enz. Figuur 1.1 toont een systematische voorstelling van het vasculaire bed.



Figuur 1.2: Lumen (=bloedvatholte) diameter, wanddikte en de relatieve hoeveelheden van de belangrijkste componenten in de wand van de diverse bloedvaten. (naar Burton 1954)

Het hart bestaat uit twee pompen in serie: één om het bloed door de longen te pompen waar de uitwisseling van zuurstof en koolzuurgas plaats grijpt en één om het bloed door de bloedvaten rond te sturen naar organen en weefsels in het lichaam. Alhoewel de bloedstroom uit het hart cyclisch verloopt, is er toch een continue stroom (flow) naar de periferie. Tijdens de ventriculaire contractie (systole) welke resulteert in de uitstuwing van het bloed, wordt een deel van de mechanische energie overgedragen onder de vorm van druk op de wand van de aorta en de grote arteriën, waarbij deze uitgerokken worden. De daaropvolgende elastische terugslag (recoil) van de bloedvatwanden tijdens de ventriculaire relaxatie (diastole) veroorzaakt een verdere voortstuwing van het bloed, het zogenaamde Windkessel-effect.



Figuur 1.3: Druk, stroomsnelheid, oppervlakte, en capaciteit v.d. bloedvaten.(Naar Berne 1988)

De diameter, wanddikte en morfologische wandsamenstelling van de bloedvaten veranderen aanzienlijk wanneer men het vaatbed doorloopt. Figuur 1.2 geeft hiervan een voorbeeld, waarbij de grootte van de bloedvaten niet op schaal getekend zijn wegens het

TABEL 1.I. Vasculaire dimensies voor een hond van ± 20 kg.

Vaten	Aantal	Totale oppervlakte [cm²]	% totaal bloedvolume
Systemische			
Aorta	1	2.8	
Arteriën	40 - 110000	40	11
Arteriolen	2.8×10^6	55	
Capillairen	2.7×10^9	1357	5
Venulen	1.0×10^7	785	
Venen	660000 - 110	631	67
Vena cavae	2	3.1	
Pulmonaire			
Arteriën en arteriolen	$1 - 1.5 \times 10^6$	137	3
Capillairen	2.7×10^9	1357	4
Venulen en venen	2.0×10^6 - 4	210	5
Hart			
Atria	2		
Ventrikels	2		5

extreme verschil tussen de aorta en de perifere capillairen. Figuur 1.3 geeft tenslotte weer hoe de druk, het bloedvolume, de snelheid en de dwarsdoorsnede veranderen al naargelang het type bloedvat. De afkortingen betekenen: AO, aorta; GA en KA, grote en kleine arteriëen; ART, arteriolen; CAP, capillairen; VEN, venulen; KV en GV, kleine en grote venen; VC, venae cavae. (Berne, 1988)

Ondanks de drastische afname in diameter tussen de aorta en de grotere arteriolen is er nagenoeg geen drukverval wegens de toename in aantal bloedvaten (de totale diameter blijft gelijk) en de constante frictie van het bloed met de wand. De grootste weerstand in de circulatie wordt daarentegen gevormd door de kleinere arteriolen. De wand van deze weerstandsvaten bevat een aanzienlijk deel gladde spiercellen, die door contractie de diameter en derhalve de weerstand in zeer grote mate kunnen veranderen. Aldus spelen ze een belangrijke rol in het regelen van de bloedtoevoer naar diverse delen van het lichaam, in functie van de behoefte. Door de grote drukval ter hoogte van de arteriolen is de bloedstroom in de capillairen (voorbij de arteriolen) nagenoeg constant en traag wat een goede uitwisseling van zuurstof en andere voedingsstoffen met het omliggende weefsel bewerkstelligt.

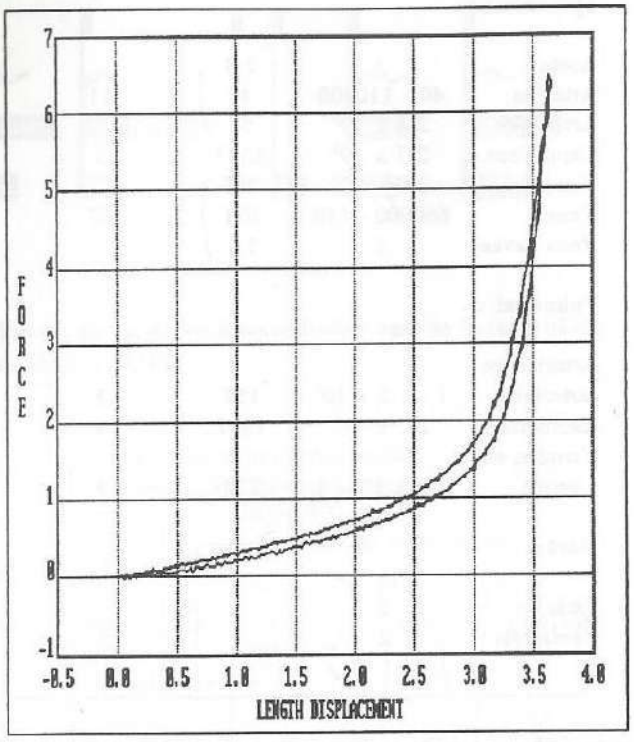
Een goed beeld van het aantal bloedvaten, de totale doorsnede en de procentuele hoeveelheid van het totale bloedvolume aanwezig in de diverse bloedvaten wordt gegeven in tabel I (Milnor, 1982).

Aan de hand van vorige beschouwingen kunnen we reeds vaststellen dat er wegens het verschillend karakter en de fysiologische functie er noodzakelijkerwijs ook diverse typen bloedvaten zijn met elk een andere relatieve samenstelling, (zie figuur 1.2) waarbij de grote arteriën elastischer zijn dan andere bloedvaten, dat de diameter drastisch varieert en de wanddikte niet functie is van de diameter, maar eerder van de fysiologische taak welke

het bloedvat dient te vervullen. Dit resulteert in een verschillend mechanisch gedrag van de bloedvaten, al naargelang het type en de plaats in het vasculair bed.

1.3 BOUWSTENEN VAN DE VAATWAND.

Aangezien de wand is samengesteld uit meerdere componenten, met onderling verschillende mechanische eigenschappen, is de elastische kracht-lengte relatie van een bloedvat niet lineair, zoals te zien is op figuur 1.4. Het verschil tussen diverse bloedvaten wat betreft de wandsamenstelling, resulteert bijgevolg in een verschil in elasticiteit van het gehele bloedvat.
Het is derhalve aangewezen om bij de beschrijving van het mechanisch gedrag te refereren naar de wandcomponenten zelf.
De mechanisch relevante bouwstenen in bloedvaten zijn elastine, collageen en gladde spiercellen. Deze bouwstenen worden nu even kort toegelicht.



Figuur 1.4: Kracht-lengte curve van een arteria carotis; eigen meting.

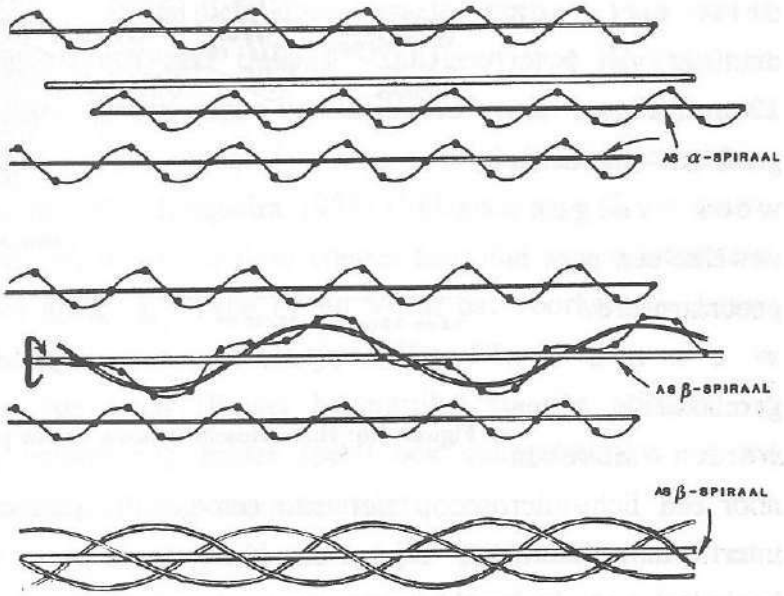
1.3.1 Elastine.

Elastine is een elastomerisch eiwit dat voorkomt onder de vorm van vezels welke een lineair elastisch gedrag vertonen, zoals blijkt uit metingen op ligamentum nuchae (nek-ligament) dat bijna volledig bestaat uit elastine (Carton et al 1962). De Young modulus bedraagt 0.1 tot 1 MPa (MPa=10^6 N/m^2) (Viidik 1987, Canfield et al 1987) en het materiaal kan zeer ver uitgerokken worden alvorens te scheuren, zelfs tot 140%. De aanzienlijke uitrekbaarheid van bloedvaten wordt toegeschreven aan deze grote elasticiteit van elastine, waar de vezels zich samenvoegen tot netwerkstructuren, waarbij de kruispunten zijn versmolten.

1.3.2. Collageen.

1.3.2.1 Moleculaire structuur van collageen.

Collageen is de meest voorkomende proteïne bij mensen en dieren. Gedehydrateerde pezen, huid en ligamenten bestaan bijna volledig uit collageen. Nadat de collageen moleculen gesecreteerd zijn door de cellen welke ze synthetiseren, zetten deze zich in elkaar in een typische vezelstructuur, welke verantwoordelijk is voor enerzijds de trekvastheid en sterkte van functionele structuren als been, kraakbeen, huid en pezen, en anderzijds voor de structurele samenhang van bloedvaten en diverse organen die sterk kunnen veranderen in omvang. De basiseenheid is een linkshandige helix gevormd uit aminozuursequenties. Drie zulke helices vormen samen een rechtshandige superhelix, zijnde de tropo-collageen molecule met een diameter van 1.5 nm en een lengte van 300 nm. Figuur 1.5 weerspiegelt deze preliminaire opbouw. Vijf dergelijke moleculen zijn vervlochten tot een linkshandige super-superhelix, de microfibrile met diameter 4 nm. Vervolgens ontstaat een rechtshandige helicoidale structuur van microfibrilen, de fibrile met diameter gaande van 30 tot 150 nm. Dit principe van opeenvolging van links en rechtshandige vlechting is vergelijkbaar met het vlechten van een koord, waarbij axiale spanningen omgezet worden in laterale compressie.

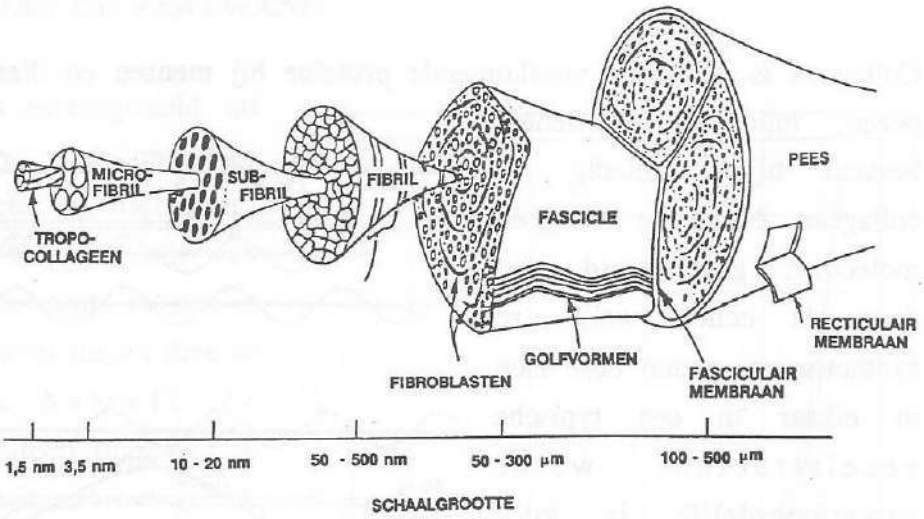


Figuur 1.5 : Opbouw tropo-collageen molecule.

De collageen moleculen zijn niet aan elkaar vastgemaakt via de uiteinden maar zijn lateraal door waterstofbruggen, hydrofobe interacties en zogenaamde "cross-links" verbonden tot microvezels, die onderling met andere microfibrilen eveneens op dergelijke wijze gekoppeld zijn. In het beginstadium zijn deze "cross-links" niet permanent, maar tijdens het rijper worden, worden deze links permanent, wat aanleiding wordt tot een

sterker of stijver worden van de gehele structuur. Bepaalde processen kunnen artificieel het permanent maken van deze links bevorderen of tegenhouden, zoals het geval is met balsemen.

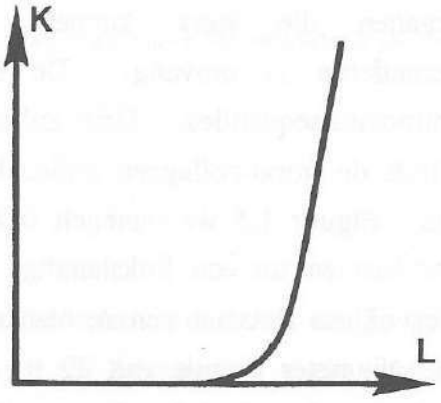
De hogergenoemde fibrilen vormen op hun beurt dan weer vezels en vezelbundels met een diameter van 1 tot 12 μm. Figuur 1.6 geeft de hierachie weer volgens dewelke een pees is geconstrueerd.



Figuur 1.6: Hiërarchische opbouw van de pees. Naar Kastelic et al (1978)

Wanneer gerelaxeerde pezen worden bekeken door een licht-microscoop ziet men een gegolfd patroon, dat wordt toegeschreven aan interfibrilaire interactie. Bij het uitrekken van de pezen verdwijnt deze gegolfdheid in het begindeel van de kracht-lengte curve, overeenkomend met het niet-lineaire deel, vaak "toe-region" genoemd (zie figuur 1.7). In dit stadium gaan de vezelstructuren parallel liggen.

Verder uitrekken van de pees, overeenkomend met het lineaire deel op de kracht-lengte curve, resulteert in een uitrekken van de fibrillaire en moleculaire bouwstenen van de pees. (Viidik 1980, 1989). Dat dit overeenkomt met het lineaire stuk op de kracht lengte curve heeft belang voor één van de latere veronderstellingen die gemaakt wordt bij het opstellen van het model in onderhavige studie.



Figuur 1.7: Kracht-lengte relatie van een pees.

1.3.2.2 Typen collageen.

Slechts 20 jaar geleden werd ontdekt dat er niet één type collageen bestaat, maar

verschillende typen, die door gelijkaardige aminozuursequenties overeenkomstige structuren en fysische eigenschappen vertonen.
Onder de verschillende typen collageen, waarvan er reeds 12 typen bekend zijn in specialistische kringen, onderscheiden we voornamelijk type I tot V, aangezien van de overige typen nog slechts weinig bekend is. Type I komt exclusief voor in been, tandbeen en pezen. Type I en III komen samen voor in huid, ligamenten, spieren en bloedvaten. Er is wel een mechanisch verschil tussen beide typen, namelijk collageen type I komt meestal voor onder de vorm van dicht opeengepakte vezels en vaak ook in bundels met een golvend karakter. Het is zeer trekvast. Collageen type III verschijnt onder de vorm van een losse verzameling van dunne vezels. Het is verantwoordelijk voor de flexibiliteit en elasticiteit van het weefsel omdat de vezels over elkaar kunnen glijden en verschuiven. (Viidik 1980, Nimni 1980, Junqueira 1987) Collageen type II, de bouwsteen van oa. kraakbeen vormt wel fibrillen maar deze voegen zich niet samen tot vezels, wat evenmin bij type IV en V het geval is. Type IV en V dat oa. voorkomt in basaal membraan en endotheel, is tevens lang niet zo sterk als type I,II en III.
In het algemeen zijn collageen type I en III het belangrijkst en dan spreken we gewoonweg van collageen. Bij veroudering echter speelt ook collageen type IV een belangrijkere rol en dient men het nodige onderscheidt te maken.

1.3.2.3 Elasticiteits-modulus van collageen.

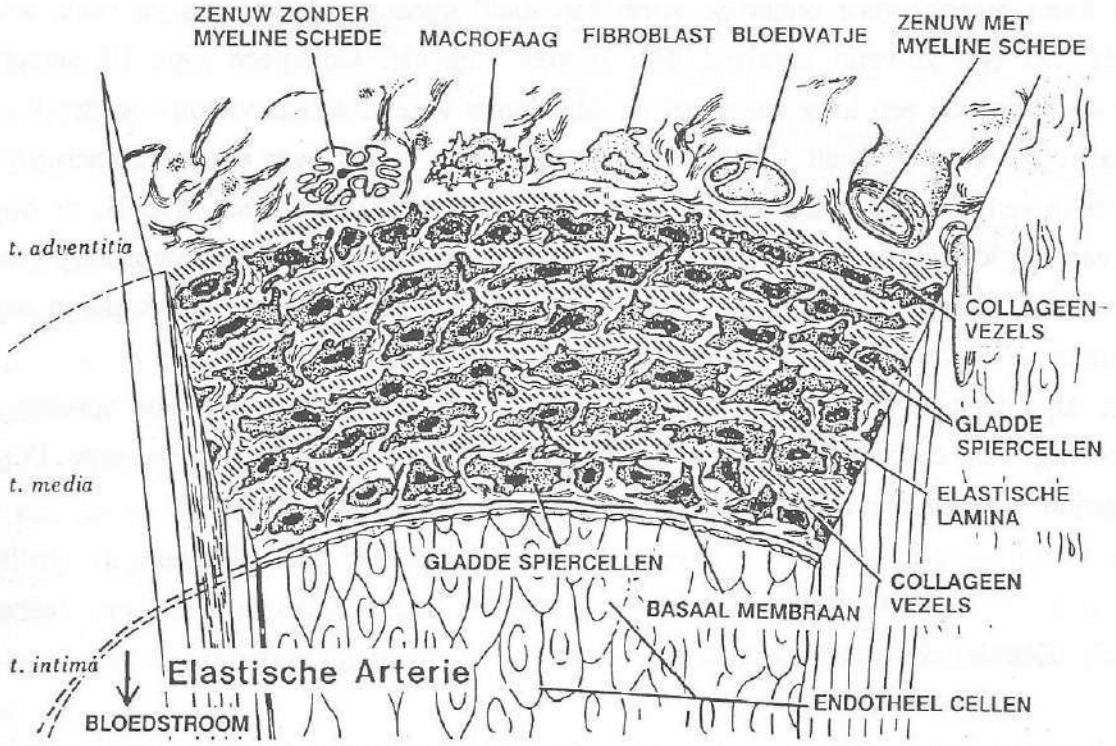
Uit rek-experimenten aan pezen kan men de stijfheidsmodulus halen, waarbij enkel het lineaire deel van de kracht-lengte curve beschouwd wordt (figuur 1.7). Bij diverse auteurs varieert deze modulus van 0.1 tot 1 GPa (GPa=10^9 N/m^2). (Viidik 1987, Lanir 1987, Canfield 1987). Experimenten met Brillouin licht verstrooiing (Harley et al 1977, Cusack et al 1979) resulteren in nog grotere waarden van 5 tot 9 GPa.

1.3.3 Gladde spiercellen.

De gladde spiercellen zijn langgerekte individuele cellen (35μm x 7μm), verspreid in de bloedvatwanden. Wanneer zij in contractie gaan heeft dit vernauwing van het bloedvat tot gevolg. In gerelaxeerde toestand bedraagt hun stijfheidsmodulus ongeveer 10 tot 100 kPa, terwijl ze erg rekbaar zijn, zelfs tot 150 % (Bergel 1972, Azuma et al 1973). In deze thesis worden de bloedvaten enkel beschouwd onder passieve condities (in

gerelaxeerde toestand dus), zodat gezien de lage stijfheid van de gladde spiercellen er verder geen rekening meer mee gehouden wordt. Incorporatie van actieve gladde spiercellen is echter wel aangewezen als verdere verfijning van het onderhavige model.

1.4 STRUCTUUR VAN DE VAATWAND.



Figuur 1.8 : Schematische weergave van de bloedvatwand. (Naar Ross et al, 1985)

De vaatwand bevat drie concentrische lagen: de intima, de media en de adventitia, zoals weergegeven op figuur 1.8.

1.4.1 Intima.

De eerste laag, die in contact staat met het voorbijstromende bloed wordt gevormd door een monolaag van endotheelcellen, rustend op een basaal membraan bestaande uit collageen type IV, proteoglycans en laminine. De langwerpige polygone endotheelcellen liggen in de richting van de stroming en de intima heeft bij een gezond jong individu slechts een kleine mechanische bijdrage. Met toenemende leeftijd wordt de intima dikker

en wordt de mechanische bijdrage groter wegens het ontstaan van diverse typen collageen met inbegrip van de typen I,III,IV,V,VI en VIII. Daarnaast zijn er in de intima nog fibronectine, proteoglycans en hyaluronic acid, aanwezig onder de vorm van macromoleculen.
De intima begint bij de binnenzijde van het bloedvat en eindigt bij een laag elastisch materiaal van ongeveer 100μm dikte, genaamd de lamella elastica interna.

1.4.2 Media.

De mechanische eigenschappen van de aorta en de meeste bloedvaten zijn functie van de dikte en de structuur van de media. Bij mensen is de media ongeveer 2.5 μm dik en bevat ongeveer 50 tot 60 concentrische lagen van elastische lamellaire eenheden, bestaande uit elastine- en collageenvezels en gladde spiercellen. Bij kleine-rek metingen worden voornamelijk de elastische lamellaire eenheden uitgerokken. De gladde spiercellen zijn op diverse plaatsen verbonden met de elastine vezels en tussendoor bevinden zich de golvende collageen vezels. Het Windkessel effect, vermeld bij de inleiding, wordt toegeschreven aan de grote elasticiteit van de elastine vezels, terwijl het omgevende collageen netwerk ervoor zorgt dat het bloedvat niet te ver opgeblazen wordt of zelfs scheurt. (Een aorta-breuk, voorkomend bij mensen die het Ehlers-Danlos-syndroom hebben dat collageen III verzwakt, veroorzaakt door een scheur over een grote lengte van de aortawand heeft de dood tot gevolg binnen enkele minuten, en wordt voornamelijk bij jonge mensen aangetroffen).
Voornamelijk collageen type I en III zijn aanwezig als mechanisch relevante elementen. Ondanks de grote stijfheid van dit collageen is een bloedvat toch vrij elastisch omdat enerzijds de collageenvezels over elkaar kunnen verschuiven en anderzijds ook opgeplooid liggen, en ze niet zoals bij het elastinenetwerk een versmolten maas vormen.

1.4.3 Adventitia.

De buitenste grote laag van een bloedvat, welke de overgang vormt met het omringende weefsel, is de adventitia. Hij bevat voornamelijk collageen vezels met grote diameter, fibroblasten en proteoglycans.

Dit is een algemeen beeld voor de wandsamenstelling van bloedvaten. De onderlinge

verhoudingen van elastine, collageen en glad spierweefsel verschillen echter sterk, afhankelijk van welk type bloedvat men beschouwt en waar in het lichaam het gelokaliseerd is, zoals ook geillustreerd in figuur 1.2. Gezien de complexe interactie tussen de diverse componenten, welke nog niet helemaal begrepen is, is het op dit ogenblik nagenoeg onhaalbaar een theoretisch mechanisch model op te stellen dat het elastisch gedrag van de wand beschrijft aan de hand van de mechanische eigenschappen van de individuele componenten, daarbij rekening houdend met de verschillende hoeveelheden, de oriëntatie van de verschillende vezels, en de mogelijke intrinsieke veranderingen in de materiaaleigenschappen in vivo ten gevolge van ouderdom, ziekte etc.

Het model dat in deze thesis beschreven wordt, is wel een poging in deze richting, waarbij aan de hand van enkele basisconcepten betreffende de bouwstenen, een structureel fysisch model gemaakt wordt, dat het algemene gedrag van de bloedvaten beschrijft door middel van de stijfheidsmoduli van zijn bouwstenen.

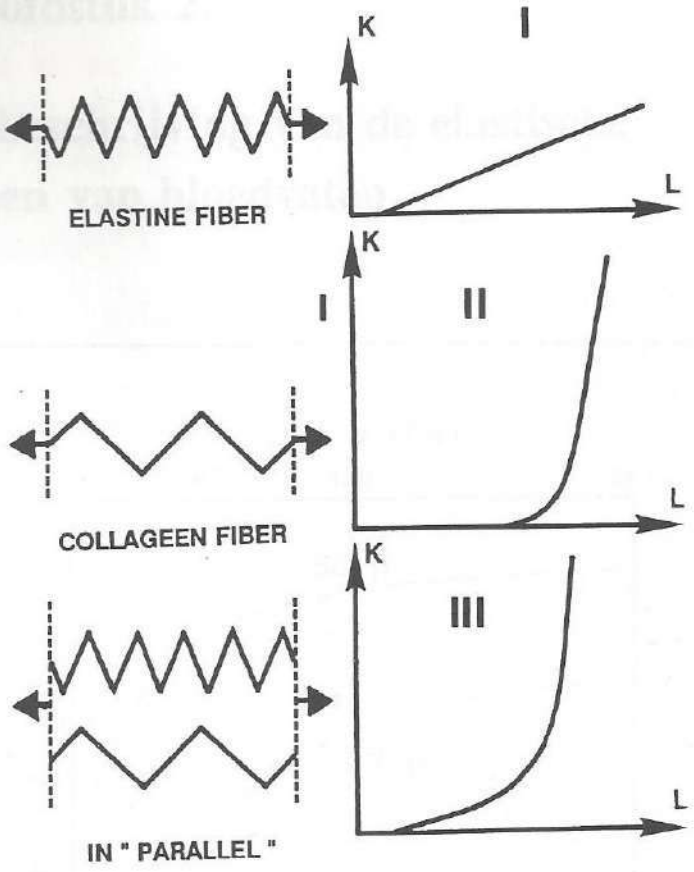
1.5 KRACHT-LENGTE RELATIE VAN EEN BLOEDVAT.

Indien we de kracht-lengte relatie van een bloedvat bekijken (figuur 1.9-III) dan kunnen we hieruit hetvolgende afleiden:

1. Een bloedvat vertoont een niet-lineair elastisch gedrag.
2. De helling bij lage uitrekking is quasi lineair.
3. De helling bij grote rek is eveneens quasi lineair en de richtingscoefficient van deze helling is duidelijk veel hoger dan die van het begingebied.
4. Het tussendomein is duidelijk niet-lineair.

Bekijken we vervolgens de kracht-lengte curve van ligamentum nuchae en van een pees (fig. 1.9, I en II) en vergelijken we deze met die van een bloedvat, dan valt reeds onmiddellijk op dat bij bloedvaten elastine een mechanisch dominante rol speelt bij kleine uitrekking en dat collageen de dominante rol speelt bij grote uitrekking. Beide elementen zijn wel te beschouwen als in parallel geschakeld (zie fig 1.9, linkse panelen), maar ageren op verschillende momenten tijdens het uitrekken.
Het doel van deze thesis bestaat erin, steunend op hogervermelde fysische en fysiologische eigenschappen van de bouwstenen van de bloedvatwand, een model te maken, dat ons in staat stelt om aan de hand van een niet-lineaire kracht-lengte relatie van een bloedvat, een eenduidige, quantitatieve maat voor het elastisch gedrag van dat

bloedvat te halen, dat zich ertoe leent diverse bloedvaten onder verschillende fysiologische omstandigheden met elkaar te vergelijken.



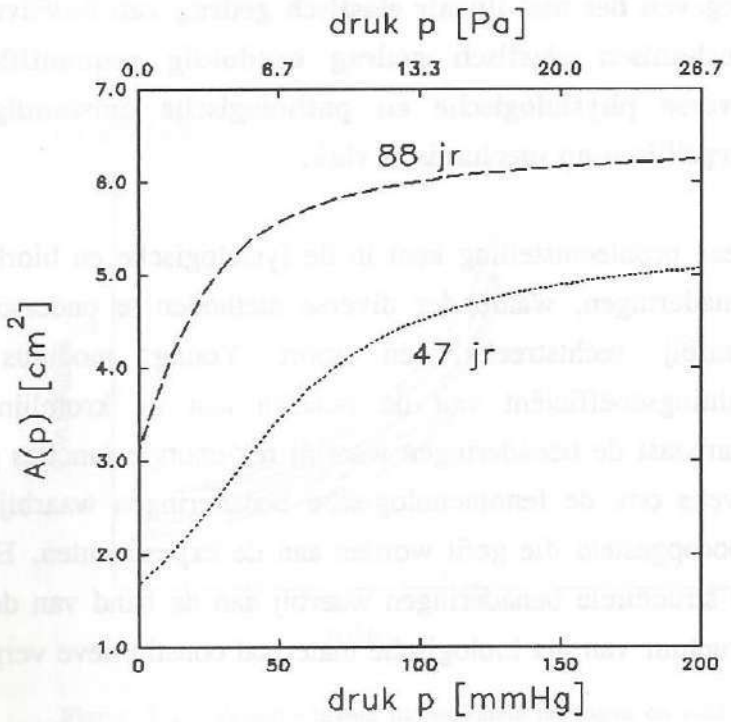
Figuur 1.9: Kracht-lengte relaties van ligamentum nuchae (I), een pees (II) en een bloedvat (III).

Hoofdstuk 2.

Diverse methoden ter beschrijving van de elastische eigenschappen van bloedvaten.

2.1 INLEIDING.

In het vorige hoofdstuk werd een korte uiteenzetting gegeven van de niet-homogene wandstructuur van bloedvaten. Om het model dat in deze thesis voorgesteld wordt te situeren ten opzichte van andere modellen, gaat in wat volgt de aandacht uit naar de verschillende methoden die in de literatuur gebruikt worden ter beschrijving van de elasticiteitseigenschappen van bloedvaten.



Figuur 2.1 : Druk-lumenoppervlakte relaties van een jonge (47 jaar) en een oude (88 jaar) menselijke thoracale aorta.

2.2 PROBLEEMSTELLING.

Beschouwen we een dikwandig bloedvat, bestaande uit collageen, elastine en gladde spiercellen. De spanning in de wand, opgewekt ten gevolge van het verhogen van de druk binnenin, zal inwerken op voornamelijk de collageenvezels en de elastinevezels. Deze twee constituenten oefenen een kracht per eenheid van oppervlakte uit als compensatie

tegen de druk. Dit zal bij een experimentele meting van de straal (of de lumen-oppervlakte=bloedvatholte) in functie van de druk aanleiding geven tot de typische kromlijnige druk-straal of druk-volume curve, zoals op figuur 2.1 is weergegeven. Zoals reeds vermeld, duidt dit niet-lineaire verloop erop dat het mechanisch gedrag van bloedvaten niet eenvoudigweg kan beschreven worden door één Young modulus.

De probleemstelling luidt derhalve:

Gegeven het niet-lineair elastisch gedrag van bloedvaten, op welke wijze kan dan het mechanisch elastisch gedrag eenduidig gequantifieerd worden, ten einde onder diverse physiologische en pathologische omstandigheden bloedvaten onderling te vergelijken op mechanisch vlak.

Deze probleemstelling kent in de fysiologische en biorheologische literatuur verschillende benaderingen, waaronder diverse methoden te onderscheiden zijn. Er zijn de methoden waarbij rechtstreeks een soort Young modulus ingevoerd wordt, zijnde de richtingscoëfficiënt van de raaklijn aan de kromlijnige spanning-rek kurve. Er zijn daarnaast de benaderingen waarbij rek-energie-functies geïntroduceerd worden. Men vindt tevens ook de fenomenologische benaderingen waarbij wiskundige betrekkingen worden vooropgesteld die gefit worden aan de experimenten. En als vierde type modellen zijn er de structurele benaderingen waarbij aan de hand van de eigenschappen van de inwendige structuur van het biologische materiaal constitutieve vergelijken opgesteld worden.

2.3 INCREMENTELE MODULUS METHODE.

2.3.1 Definitie.

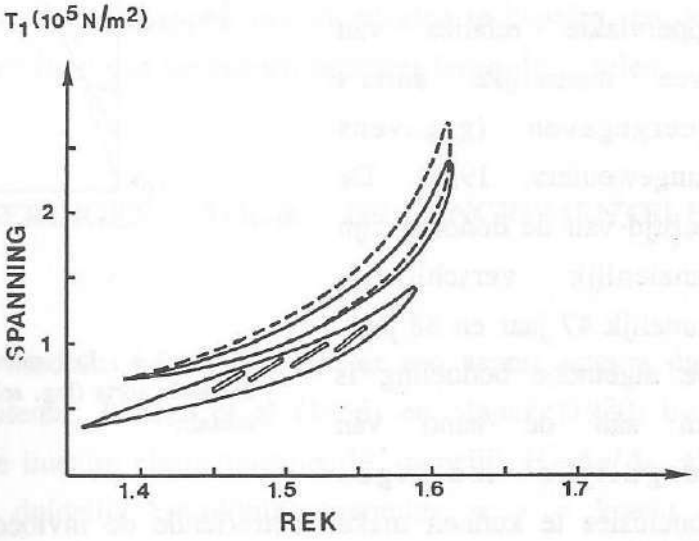
De meeste modellen beschrijven het gehele elastisch gedrag van bloedvaten, zonder te refereren naar specifieke fysisch verantwoorde elasticiteitsconstanten. Zelfs indien men een model afleidt dat zeer nauwgezet de spanning-rek relatie weergeeft van een bloedvat, hanteert men doorgaans het principe dat de stijfheid van het bloedvat gereflecteerd wordt door de richtingscoëfficiënt van de raaklijn aan de spanning-rek kromme. Dit principe werd voornamelijk gepropageerd door Bergel (1961), en de door hem geïntroduceerde "incrementele modulus" wordt allom gebruikt in de fysiologische literatuur. (Cox 1973, Wesly et al 1975, Fronek et al 1976, Hudetz 1979, Monos et al 1980, Hayashi 1982,

Nagasawa et al 1982)

Bergel definieert de 'Incremental Elastic Modulus' als volgt: de circumferentiële incrementele Young modulus van een dikwandige, isotrope elastische buis met een uniforme diameter en wanddikte, welke niet onderworpen is aan een externe druk noch aan een lengteverandering, wordt gegeven door:

$$E_{inc} = \frac{R_i^2(1+\mu)}{(R_o^2 - R_i^2)}\left[R(1-2\mu) + \frac{R_o^2}{R}\right]\frac{\Delta P}{\Delta R} \qquad (2.1)$$

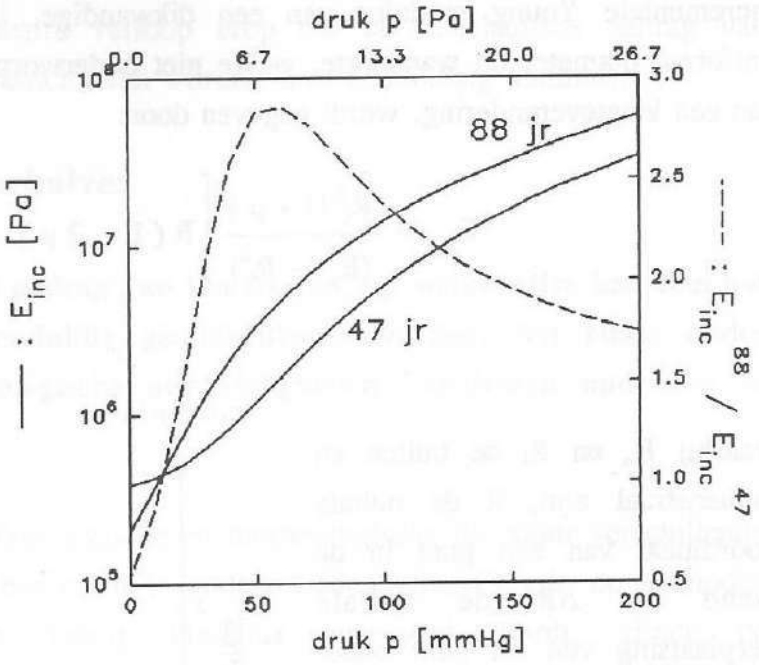
waarbij R_o en R_i de buiten en binnenstraal zijn, R de radiale coördinaat van een punt in de wand en ΔR de radiale verplaatsing van dit punt onder invloed van een verandering in interne druk ΔP. De poisson verhouding wordt door het symbool μ voorgesteld. Deze definitie steunt op de eigenschap dat indien men slechts een klein gebiedje beschouwt op de druk-straal curve, er wel een lineair verband bestaat tussen druk en straal. Bijgevolg kan op elk plaats van de druk-straal curve een 'incrementele modulus' berekend worden. Het voornaamste nadeel is dat deze incrementele modulus afhankelijk is van de druk waarbij men meet en dat deze derhalve met meerdere grootteordes kan variëren, al naargelang de druk. Fung et al (1979) wijzen er tevens op dat de incrementele modulus enkel gemeten mag worden in incrementele experimenten en niet afgeleid mag worden uit eindige rek experimenten. Fung constateerde namelijk dat de incrementele modulus afgeleid uit de tangent op een bepaalde plaats van de spannings-rek (druk-straal) curve niet overeenkomt met de modulus afgeleid uit de helling van een incrementele meting, zoals blijkt op figuur 2.2



Figuur 2.2 : Verschil tussen incrementele metingen en eindige rek-metingen. Fung et al (1979).

2.3.2 Illustratie.

Ter illustratie van de ongunstige keuze van deze incrementele modulus als stijfheidsmodulus voor bloedvaten, volgt nu een voorbeeld waar later in dit werk nog naar gerefereerd zal worden. In figuur 2.1 zijn de druk-lumen-oppervlakte relaties van twee menselijke aorta's weergegeven (gegevens Langewouters, 1982). De leeftijd van de donoren zijn aanzienlijk verschillend, namelijk 47 jaar en 88 jaar. De algemene bedoeling is om aan de hand van dergelijke metingen conclusies te kunnen maken betreffende de invloed van de leeftijd op stijfheid van de menselijke aorta. In figuur 2.3 zijn de incrementele moduli weergegeven op logaritmische schaal voor beide bloedvaten. Per aorta variëert deze modulus van ongeveer E_{inc}=0.2 MPa bij een druk van p = 0 Pa tot een waarde van E_{inc} = 60 MPa bij een druk van p=26.6 kPa (200 mmHg). Om een vergelijking te kunnen maken tussen de stijfheid van beide aorta's onderzoeken we eveneens de verhouding tussen beide incrementele moduli, $E_{inc}^{88} / E_{inc}^{47}$, welke als stippenlijn op figuur 2.3 werd weergegeven (op de rechtse lineaire schaal). Opmerkelijk is de grote variabiliteit van deze verhouding, afhankelijk van de druk waarbij men meet. Bij lage drukken is de oude aorta minder stijf dan de jonge aorta (half zo stijf). De verhouding keert vervolgens om en bij 6.7 kPa (50 mmHg) blijkt de oudere aorta bijna driemaal zo stijf te zijn dan de jonge aorta. Bij hogere drukken neemt deze verhouding geleidelijk af tot een waarde van 1.7 wat betekent dat op die plaats de oudere aorta nog geen tweemaal zo stijf is als de jonge.



Figuur 2.3 : Incrementele moduli van jonge (47 jr) en oude (88 jr) thoracale aorta (log. schaal), en van de verhouding $E_{inc}^{88} / E_{inc}^{47}$ (lin. schaal).

Overduidelijk is het probleem dat zich stelt wanneer men "algemeen" de invloed van de leeftijd op de stijfheid van deze bloedvaten wil quantifieren door middel van deze

incrementele modulus. Dit heeft tot gevolg dat vergelijken van elastische eigenschappen van verschillende bloedvaten uiterst dubieus wordt.
Menig auteur (Milnor 1982, Fung 1967) wijst er inderdaad op dat dit a priori niet kan met de incrementele modulus. Indien men als tussenoplossing opteert om steeds bij dezelfde druk de incrementele modulus te meten, heeft dit fysiologisch gezien niet steeds zin, daar diverse bloedvaten vaak onder verschillende drukken opereren, zoals kan afgeleid worden uit figuur 1.3. Allicht is dat één der redenen waarom er internationaal nog geen referentie punt werd overeengekomen. Een aantal auteurs voegen daarom meestal zelf een index toe (bv E_{inc}^{125} om aan te duiden bij welke druk men de modulus bepaald heeft.
Al deze nadelen ten spijt is het desalniettemin in de literatuur algemeen aanvaard om met deze incrementele modulus de elastische eigenschappen van bloedvaten te bepalen, en de reden hiertoe is waarschijnlijk dat de eenvoud van berekenen opweegt tegen de nadelen.

2.4 ALTERNATIEVE FORMULERINGEN VOOR DE INCREMENTELE MODULUS.

Naast de auteurs die de incrementele modulus gebruiken, zijn er een aantal auteurs die gelijkaardige incrementele moduli hanteren. Minten et al (1986) en Manak (1980) bv. gebruiken de elasticiteitsmodulus uit de lineaire elasticiteitstheorie, namelijk $E=\Delta\sigma/\Delta\epsilon$, al is de σ-ϵ relatie, gefit als $\sigma=a.e^{(b.\epsilon)}$, duidelijk kromlijnig; (spanning = σ = kracht / onvervormde oppervlakte, rek = ϵ = $\Delta l/l_o$, met l_o de beginlengte). Attinger (1969) gebruikt als stijfheidsmodulus de tangentiele modulus $E_t=(1-\mu^2).(\Delta P/\Delta r).r^2/h$ met μ: Poisson verhouding, r: gemiddelde straal, h: wanddikte en P: transmurale druk. Op een log-log grafiek is het verband tussen E_t en de druk nagenoeg een rechte.
Busse et al (1981) gebruikt als elasticiteits modulus:

$$E_t = \frac{2 r_e^2 r_i}{(r_e^2 + r_i^2)\cdot h}(1-\mu^2)\left(p + r_i \frac{dp}{dr_i}\right) \qquad (2.2)$$

met r_i en r_e :de interne en externe straal en p: de gemiddelde druk.
Cox (1978) gebruikt de incrementele modulus volgens Bergel (1961) en voert de notatie E_{125} ter indicatie dat hij meet bij 125 mmHg. Hij maakt wel melding van het feit dat de incrementele modulus uitgedrukt kan worden als $E_{inc}=E_E W_e+f_c E_C W_c$, waarbij f_c de fractie collageenvezels voorstelt die een kracht uitoefenen op een ogenblik dat een bepaalde

interne druk of wandspanning opgelegd wordt, E_E en E_C de Young moduli zijn van elastine en collageen, onafhankelijk van de hoeveelheid opgelegde rek, en W_e en W_c de fractionele hoeveelheden elastine en collageen zijn. Aan de hand van experimentele gegevens van diverse arterien werd aldus een schatting bekomen voor de Young moduli van elastine en collageen, namelijk: $E_E=(0.28 \pm 0.04)$ MPa en $E_C=(0.12 \pm 0.10)$ GPa. In deze voorstelling is de incrementele modulus voor een gegeven bloedvat derhalve een functie van f_c.
Lang et al (1987) gebruikt als stijfheidsmodulus $E_{inc}=r/2.(1-\mu^2).h.(\partial A/\partial P)/A$ met r de straal, A de lumenoppervlakte en h de wanddikte.
Busse (1982) geeft een lijst van alternatieve vormen voor de Youngsmodulus van bloedvaten, zij het wel dat ze allemaal druk- of lengteafhankelijk zijn.

2.5 REK-ENERGIE-FUNCTIE FORMULERINGEN.

Een andere stroming binnen de literatuur is deze, voornamelijk gehanteerd door ingenieurs, welke steunt op rek-energie dichtheidsfuncties. Centraal bij deze methode staat de invoering van een rek-energie dichtheidsfunctie waarbij een aantal materiaal-constanten ingevoerd worden. Chuong et al (1983) bv stellen de volgende vorm voor:

$$W = \frac{c}{2} e^{Q} + \frac{H}{2}\left[(1+2E_\theta)(1+2E_z)(1+2E_r) - 1\right] \qquad (2.3)$$

met

$$Q = b_1 E_\theta^2 + b_2 E_z^2 + b_3 E_r^2 + 2b_4 E_\theta E_z + 2b_5 E_z E_r + 2b_6 E_r E_\theta \qquad (2.4)$$

Hierin zijn c en b_1 tot b_6 materiaal constanten, E_θ, E_r, E_z Greense rek-componenten en H een Lagrange Multiplicator met de betekenis van een hydrostatische druk. De Kirchhoff spanningscomponenten worden dan bekomen door

$$S_{ij} = \frac{\partial W}{\partial E_{ij}} \qquad (i,j = 1,2,3) \qquad (2.5)$$

en de Cauchy spanningen zijn dan

$$\sigma_{ij} = \frac{\partial x_j}{\partial X_\alpha}\frac{\partial x_i}{\partial X_\beta} S_{\beta\alpha} \qquad (i,j,\alpha,\beta = 1,2,3) \tag{2.6}$$

met X en x respectievelijk de onvervomde en vervormde toestand aanduidend. Zo is bij voorbeeld de component σ_θ gedefinieerd als volgt:

$$\sigma_\theta = c(1+2E_\theta)[b_1E_\theta + b_4E_z + b_6E_r]e^Q + H \tag{2.7}$$

Aan de hand van een dergelijke rek-energie functie kan uiteindelijk een constitutieve vergelijking opgesteld worden, welke na fitting van de experimentele data, waarden geeft voor de materiaalconstanten c, b_1 tot b_6. Het voordeel van deze methode is dat de materiaalconstanten uniek zijn en onafhankelijk van de druk waarbij gemeten wordt. Bij deze methode wordt doorgaans naast de materiaalconstanten geen melding gemaakt van een elasticiteits modulus.
In de literatuur zijn talrijke vormen te vinden voor W, maar er is nog geen overeenstemming bereikt binnen de literatuur over welke rek-energie dichtheidsfunctie het beste de realiteit weergeeft. Voorbeelden van auteurs die deze methode gebruiken zijn: Blatz (1969), Canfield et al (1987), Chu et al (1973), Chu et al (1972), Tickner et al (1967), Takamizawa et al (1987), Vito et al (1980), Vaishnav (1982), Valanis et al (1967), Misra et al (1982). Silver et al (1989) geeft een uitgebreide lijst van mogelijke rek-energie-dichtheids-functies.

2.6 PHENOMENOLOGISCHE MODELLEN.

Een derde type modellen zijn van het phenomenologische type, en bestaan erin dat een constitutieve vergelijking opgesteld wordt, die een wiskundige nabootsing is van het experimenteel gemeten kracht-lengte (of gelijkwaardig) verband, waarbij een aantal 'te fitten parameters' geïntroduceerd worden. De gefitte parameters zijn derhalve geen fysische materiaalconstanten zoals elasticiteitsmoduli (wat zelfs vaak eenvoudig kan opgemerkt worden aan de hand van de dimensies) of hebben fysiologisch gezien zeinig zin. Als voorbeeld van een dergelijke werkwijze zal nu een model beschreven worden uit de literatuur (Woo et al 1987, Fung 1967) waarbij men het elastisch gedrag van zacht biologisch materiaal weergeeft. Gegeven dat de spanning-rek (spanning = σ = kracht / onvervormde oppervlakte, rek = $\epsilon = \Delta l/l_o$, met l_o de beginlengte) relatie niet lineair is, maar eerder exponentieel, poneert men volgende relaties tussen spanning en rek:

$$\sigma = A(e^{B\varepsilon} - 1) \qquad \text{en} \qquad \frac{d\sigma}{d\varepsilon} = B\sigma + C \qquad \text{en} \qquad C = AB \tag{2.8}$$

De constanten A, B en C betekenen als dusdanig niets met betrekking tot de constituenten van het testmateriaal. Beschrijving van deze experimenten aan de hand van deze formule reduceert zich tot 'curve-fitting'.
Een ander voorbeeld is de uitdrukking (Hayashi,1982)

$$\ln\left(\frac{P}{P_s}\right) = \beta\left(\frac{D_o}{D_s} - 1\right) \tag{2.9}$$

met P de intraluminale druk, P_s een referentie-druk , D_o de externe diameter en D_s de externe diameter bij de referentiedruk, en β een zogezegde elasticiteitsparameter, met echter een zuiver arbitraire fysische betekenis, en dimensieloos. Desalniettemin wordt deze uitdrukking toegepast om onder diverse fysiologische condities de stijfheid van bloedvaten te vergelijken.
Van Loon et al (1977) stellen een empirische formule voor "met een minimum aantal constanten" ter beschrijving van de volume-druk relaties van arterie segmenten: $V_i=V_o+(V_m-V_o)[1-\exp(-\alpha p)]$ met $V_m=V_o+B+C(L-L_o)$ waarbij V_o en L_o het volume en de lengte zijn bij p=0 Pa, en α, B en C empirische constanten. Er wordt bij de beschrijving geen melding gemaakt van een stijfheidscoëfficiënt of een Young modulus.
Een vierde voorbeeld is de methode van Langewouters et al (1982, 1984) waarbij een relatie gelegd wordt tussen de lumenoppervlakte A en de druk, bij het verhogen van de interne druk in een bloedvat. Deze relatie bevat 3 parameters A_m, p_0 en p_1 welke gefit worden aan de experimentele gegevens volgens:

$$A(p) = A_m\left[\frac{1}{2} + \frac{1}{\pi}\tan^{-1}\left(\frac{p - p_0}{p_1}\right)\right] \tag{2.10}$$

Op dit model wordt later nog uitvoerig teruggekomen, maar nu reeds kan opgemerkt worden dat, ondanks de goede overeenkomst met de experimentele gegevens, de parameters A_m, p_0 en p_1 geen elasticiteitsconstanten zijn. Tardy (1991) geeft een overzicht van nog een aantal gelijkaardige uitdrukkingen. Het voordeel dat verbonden is aan het gebruik van deze modellen is dat er slechts een klein aantal fittingsparameters bij betrokken zijn en dat derhalve de berekeningen eenvoudig uit te voeren zijn.

2.7 STRUCTURELE MODELLEN.

Een veel betere werkwijze is deze om vertrekkende van de elastomerische eigenschappen van de wandcomponenten van bloedvaten een model op te stellen, gebaseerd op statistische fysica, zoals terug te vinden bij Niederer (1974), Oddou (1980), Soong et al (1973). Oddou (1980) biedt een interessante theorie waarbij hij een uitdrukking voor de druk afleidt, welke geschreven kan worden als functie van de verhouding [x] van de initiele lengte van de collageenvezels t.o.v. die van de elastine vezels. Deze uitdrukking heeft de vorm:

$$p = \frac{G_e h_o}{R_o}(1 - \lambda_z^{-2}\lambda_\theta^{-4})\lambda_z^{-1} + \frac{1}{x} G_c \frac{h_o}{R_o} \mathcal{L}^{-1}\left(\frac{2\lambda_\theta}{3x}\right)\lambda_\theta^{-1}\lambda_z^{-1} \qquad (2.11)$$

waarin G_e en G_c elasticiteits constanten van elastine en collageen zijn, h_o en R_o begindikte en beginstraal, en λ_θ en λ_z de circumferentiele en longitudinale verlenging (L/L_o). De functie $\mathcal{L}(y)$ is gedefinieerd als

$$\mathcal{L}(y) = \frac{d}{dy}\ln\mathcal{F}(y) \quad \text{met} \quad \mathcal{F}(y) = y^{-2}[e^y(y-1)+1] \qquad (2.12)$$

Kenmerkend voor dit model is de invoering van twee verschillende vezelstructuren en het feit dat hun elasticiteit op micro-schaal gedefinieerd worden aan de hand van fysisch verantwoorde moduli. Dit is een van de weinige modellen waar een dergelijke werkwijze ingevoerd wordt. Er wordt jammer genoeg geen rekening gehouden met de dikwandigheid van de bloedvaten doordat de wet van Laplace (T=P.R) gebruikt wordt om de wandspanning te berekenen.
Vergelijkbaar hiermee is het model van Lake et al (1972) dat eveneens twee verschillende vezelstructuren invoert waarbij de relatieve lengte van de vezelstructuren een belangrijke rol speelt.
In dezelfde trant zijn ook de modellen die de oriëntatie of het opgeplooide karakter van de vezelstructuren in rekening brengen, zoals bij Comninou et al (1976), Ling et al (1977), Markenscoff et al (1979), Kastelic et al (1980), Lanir (1983,1979), Manschot et al. (1986) en Flaud et al (1988).

Uitvoerige inventarisatie van de hierboven beschreven methoden toegepast op huid en pezen zijn gegeven in overzichtsartikelen door Kenedi (1975), Lanir (1987) en Viidik (1987). Voor bloedvaten zijn overzichtsartikelen te vinden bij Bergel (1972), Roach

(1977) en Canfield et al (1987).

Het model dat in deze thesis voorgesteld wordt is voornamelijk gebaseerd op concepten die eigen zijn aan de net beschreven structurele modellen. Daarnaast is het deels gebaseerd op het werk van Decraemer (1977) en Decraemer et al (1980) waarbij een constitutieve vergelijking voor zachte materialen in het algemeen werd opgesteld, steunend op de inwendige vezelstructuur. Hun model werkt zeer bevredigend voor het beschrijven van het elastisch gedrag van pezen en trommelvliezen, doch veel minder voor bloedvaten. Dit ligt voornamelijk in het feit dat pezen en trommelvliezen hoofdzakelijk bestaan uit collageen, terwijl er bij bloedvaten ook elastine aanwezig is. Tevens kan een pees of een stukje trommelvlies voorgesteld worden als een staafje, wat de geometrie van het model sterk vereenvoudigd, daar waar bij een bloedvat steeds met de cilindrische structuur dient rekening gehouden te worden.

2.8 BESLUIT.

Al het voorgaande wijst erop dat de probleemstelling zoals eerder gesteld, nauwkeuriger dient geformuleerd te worden, en wel als volgt:

> **Gegeven het niet-lineair elastisch gedrag van bloedvaten, op welke wijze kan het mechanisch elastisch gedrag eenduidig gequantifieerd worden, door elasticiteitsconstanten die onafhankelijk zijn van de druk, ten einde onder diverse physiologische en pathologische omstandigheden bloedvaten onderling te kunnen vergelijken op mechanisch vlak.**

In een poging om een adequaat antwoord te bieden voor deze probleemstelling, stellen wij in deze thesis een "2-componenten model" voor, dat uitgaat van de inwendige structuur van de bloedvatwand. Het poogt met de uit het model voortvloeiende elasticiteitsmoduli een beter alternatief te vormen, in de eerste plaats voor de incrementele modulus, aangezien de model-moduli constant zijn over het gehele druk domein. Het elastische gedrag van een bloedvat wordt volledig en eenduidig gekarakteriseerd door deze fysisch verantwoorde model-parameters.

Hoofdstuk 3.

Het 2-componenten Model.

3.1 INLEIDING

In dit hoofdstuk wordt de constitutieve vergelijking opgesteld, die het mogelijk maakt om vertrekkende van druk-straal metingen van bloedvaten, elasticiteits-constanten te bepalen die het mechanisch gedrag van bloedvaten eenduidig beschrijven.
Dit zal in twee delen geschieden: enerzijds wordt de wandspanning afgeleid via een algemene methode voor de behandeling van twee dimensionale elasticiteitsproblemen in poolcoördinaten, en anderzijds zal de wandspanning afgeleid worden aan de hand van een model, gebaseerd op de structuur van bloedvaten. Vereniging van beide zal een methode opleveren om uit experimentele druk-straal curven van bloedvaten de gewenste elasticiteitsconstanten te halen.

3.2 BASISVERONDERSTELLINGEN.

Vooraf dient opgemerkt te worden dat er bij de constructie van modellen om het mechanisch gedrag van bloedvaten te beschrijven, in de literatuur (Vaishnav 1982, Langewouters 1982, Canfield et al 1987) in het algemeen een aantal basisveronderstellingen vooropgesteld worden, waarvan wij eveneens gebruik zullen maken. Deze basis veronderstellingen houden in dat de bloedvatwand homogeen, mechanisch isotroop, kromlijnig orthotroop, onsamendrukbaar, visco-elastisch en cilindrisch is.

Homogeniteit en isotropie.

Deze aanname is betwistbaar, gezien de diverse wandcomponenten die aanwezig zijn, samen met een grote hoeveelheid water (70%). Er kan tevens een anisotropie optreden (Patel et al 1969, Cox 1975) ten gevolge van oriëntatie van bepaalde vezelstructuren in de

wand, en incorporatie van dit fenomeen is zeker bij een verdere verfijning van het model aangewezen. Desalniettemin, indien men een bloedvat onderzoekt met een lengte die 7 tot 10 x de diameter bedraagt, dan middelen de meeste inhomogene materiaalaspecten uit zodat toch nog een representatief beeld gevormd kan worden over het geheel. (Tickner et al 1967, Niederer 1974, Vaishnav 1982)

Kromlijnige orthotropie.

Dit betekent dat in elk punt van de wand een lokaal cartesiaans coördinatenstelsel opgericht kan worden met assen gericht volgens de radiale, tangentiële en longitudinale richting en dat het materiaal spiegel symmetrische eigenschappen vertoont t.o.v. de vlakken gevormd door de coördinaten-assen. Dit houdt oa in dat er geen torsie optreedt wanneer een vrij hangend bloedvat opgeblazen wordt. (Patel et al 1969)

Incompressibilliteit.

Algemeen wordt in de literatuur aanvaard dat bloedvaten onsamendrukbaar zijn, zoals oorspronkelijk aangetoond door Carew et al (1968).

Visco-elasticiteit.

Bloedvaten zijn in het algemeen beschouwd visco-elastisch (Langewouters 1982, Goto et al 1966). Dit is ook duidelijk af te leiden uit het histeresis gedrag van de kracht-lengte curve (figuur 1.4). De gladde spiercellen zijn in de eerste plaats het visco-elastisch materiaal in de wand. Maar in vergelijking met elastine en collageen die meer zuiver elastisch zijn, is de mechanische rol die het glad spierweefsel speelt eerder klein, voornamelijk omdat onder passieve condities gemeten wordt, omdat de stijfheid van gladde spiercellen veel kleiner is dan van de overige twee componenten en eveneens wegens het feit dat in de arteriën die gebruikt werden als specimens (aorta, arteria carotis,..) de relatieve hoeveelheid van gladde spiercellen eerder gering is zodanig dat zelfs onder actieve condities er niet zo'n drastisch mechanisch effect optreedt (Bader 1963).

Daarenboven wordt tijdens het meten de verlenging bij een zeer trage snelheid opgelegd zodat we in een quasi-statisch regime werken ($\pm$ 0.01-1.0 Hz voor de lineaire uitrekking). Daardoor worden de visco-elastische verschijnselen eveneens minder belangrijk. Tevens wordt erop toegezien dat deze uitreksnelheid overeenkomt met de

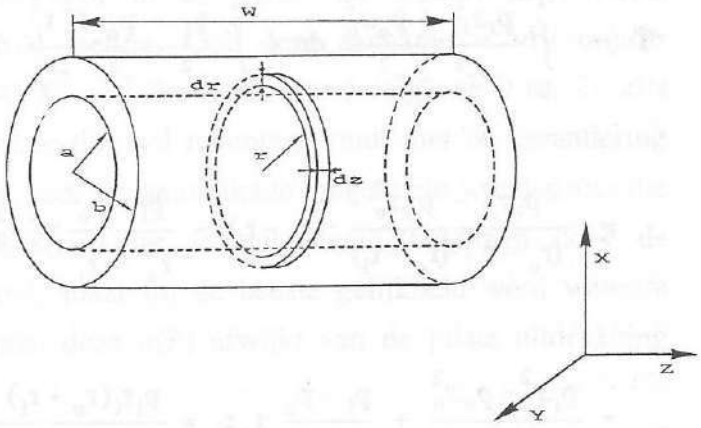
fysiologisch pulssnelheid. Vandaar dat in deze studie in een eerste benadering een zuiver elastisch gedrag werd beschouwd en enkel de opgaande curve werd in rekening gebracht (meest linkse op fig. 1.4). Visco-elastische aspecten zullen het onderwerp zijn van verdere studies.

Cilindrisch.

Het bloedvatsegment heeft een duidelijk cilindrische structuur, van zodra er een interne druk opgelegd wordt.

3.3 TOTALE WANDSPANNING T, AFGELEID UIT ALGEMENE ELASTICITEITSTHEORIE.

3.3.1. Opmerking aangaande de nomenclatuur.



Figuur 3.1 : cilindrisch segment van een bloedvat.

In het engels bestaan er met betrekking tot de elasticiteitstheorie o.a. de termen "stress", "tension" en "strain". Het nederlands vertaalt deze drie termen door het woord "spanning", al hebben ze in het duidelijk onderling verschillende betekenissen en dimensies. Stress heeft de betekenis van kracht per eenheid van oppervlakte, tension heeft de betekenis van kracht per eenheid van lengte en onder strain verstaat men de relatieve hoeveelheid verlenging. Deze laatste grootheid is dimensieloos en kan eenvoudigweg vertaald worden door "rek", meestal uitgedrukt in procenten. Maar de overige twee hebben een verwarrende vertaling en het nederlands heeft geen specifiek woord om het verschil aan te geven. Vandaar dat we opteren om "stress" te vertalen als "spanning [Pa=N/m^2]" met notatie σ en "tension" als "wandspanning [N/m]" met notatie T.

3.3.2 Uitdrukking voor de wandspanning T.

Beschouw een dikwandige cilinder in en rechthoekig assenkruis, zoals aangegeven op figuur 3.1. De totale circumferentiële wandspanning T, loodrecht op de radiale richting en per eenheid van lengte in de z-richting, in een dikwandige buis met binnenstraal r_i en buitenstraal r_o wordt gegeven door volgende formule:

$$T = \int_{r_i}^{r_o} \sigma_\theta(r)\, dr \tag{3.1}$$

waarbij de spanning $\sigma_\theta(r)$ staat voor:

$$\sigma_\theta(r) = \frac{p_i r_i^2 - p_o r_o^2}{r_o^2 - r_i^2} + \frac{p_i - p_o}{r_o^2 - r_i^2} \cdot \frac{r_o^2 r_i^2}{r^2} \tag{3.2}$$

met p_i en p_o respectievelijk de binnen- en buitendruk (Timoshenko & Goodier; 1951, A. Love; 1944). Substitutie van (3.2) in (3.1) geeft dan:

$$T = \int_{r_i}^{r_o} \frac{p_i r_i^2 - p_o r_o^2}{r_o^2 - r_i^2}\, dr + \int_{r_i}^{r_o} \frac{p_i - p_o}{r_o^2 - r_i^2} \cdot \frac{r_o^2 r_i^2}{r^2}\, dr \tag{3.3}$$

$$= \frac{p_i r_i^2 - p_o r_o^2}{(r_o - r_i)\cdot(r_o + r_i)} \cdot (r_o - r_i) - \frac{p_i - p_o}{r_o^2 - r_i^2} \cdot r_o^2 r_i^2 \cdot \left(\frac{1}{r_o} - \frac{1}{r_i}\right) \tag{3.4}$$

$$= \frac{p_i r_i^2 - p_o r_o^2}{r_o + r_i} + \frac{p_i - p_o}{r_o + r_i} \cdot r_o r_i = \frac{p_i r_i (r_o + r_i) - p_o r_o (r_o + r_i)}{r_o + r_i} \tag{3.5}$$

en bijgevolg is de totale wandspanning:

$$T = p_i r_i - p_o r_o \tag{3.6}$$

Deze uitdrukking is exact en geeft de totale wandspanning weer voor een dikwandige homogene elastische buis. Oka et al (1970) tonen aan dat deze uitdrukking opgaat voor zowel een homogene als inhomogene, isotrope of anisotrope wand, en eveneens afgezien van het feit of het materiaal lineair elastisch is of niet. Zij leiden namelijk deze uitdrukking af, enkel gebaseerd op evenwichtsvoorwaarden van de krachten inwerkend op

een cilinderwand.

3.3.3 Alternatieve uitdrukkingen voor de wandspanning T.

Op te merken valt dat menig auteur in de fysiologische literatuur (bv. Oddou 1980) niet uitdrukking (3.6) gebruikt om de wandspanning T te berekenen voor bloedvaten, maar de wet van Laplace toepast, namelijk $T = P_t.r$ waarbij P_t de transmurale druk is. Deze betrekking voor T is een goede benadering op voorwaarde dat de wand van het bloedvat relatief dun is ten opzichte van de straal. Algemeen wordt aangenomen dat wanneer de verhouding van de wanddikte h t.o.v. de straal R_o : $h/R_o > 0.10$ deze benadering niet meer aanvaardbaar is. Bij de meeste bloedvaten, en vooral de arterien, is deze verhouding groter. Berekening van het gemiddelde aan de hand van 43 menselijke thoracale aorta's geeft $<h/R_o> = 0.138 \pm 0.04$; gegevens G.J. Langewouters 1982)
Om toch rekening te houden met de wanddikte gebruiken veel auteurs (Minten 1985, Bader 1963, Milnor 1982) een zogezegde correctie op de wet van Laplace, namelijk : $S = P_t.R/h$. Deze S stelt dan de stress voor in de wand. De wanddikte h wordt verondersteld constant te blijven tijdens de meting. Ook deze aanname is vrij onjuist aangezien de wand in dikte afneemt met 40% voor een drukverandering van 0 tot 26 kPa (200 mmHg). Een variatie op vorige formule die wel rekening houdt met de verandering van h in functie van de druk is de formule voor de gemiddelde tangentiele wand-stress die Cox (1977) hanteert: $\sigma(P) = R_i.P_t/(R_o-R_i)$. Deze formule werd bekomen door de gemiddelde σ_θ uit te rekenen over de wand, maar bij de laatste gelijkheid werd weerom een vereenvoudiging (?) doorgevoerd, zodat deze $\sigma(P)$ afwijkt van de juiste uitdrukking voor de gemiddelde spanning.

$$<\sigma_\theta> = \frac{1}{r_o - r_i}\int_{r_i}^{r_o}\sigma_\theta(r)\,dr = \frac{p_i r_i - p_o r_o}{r_o - r_i} \neq \frac{r_i}{r_o - r_i}(p_i - p_o) \qquad (3.7)$$

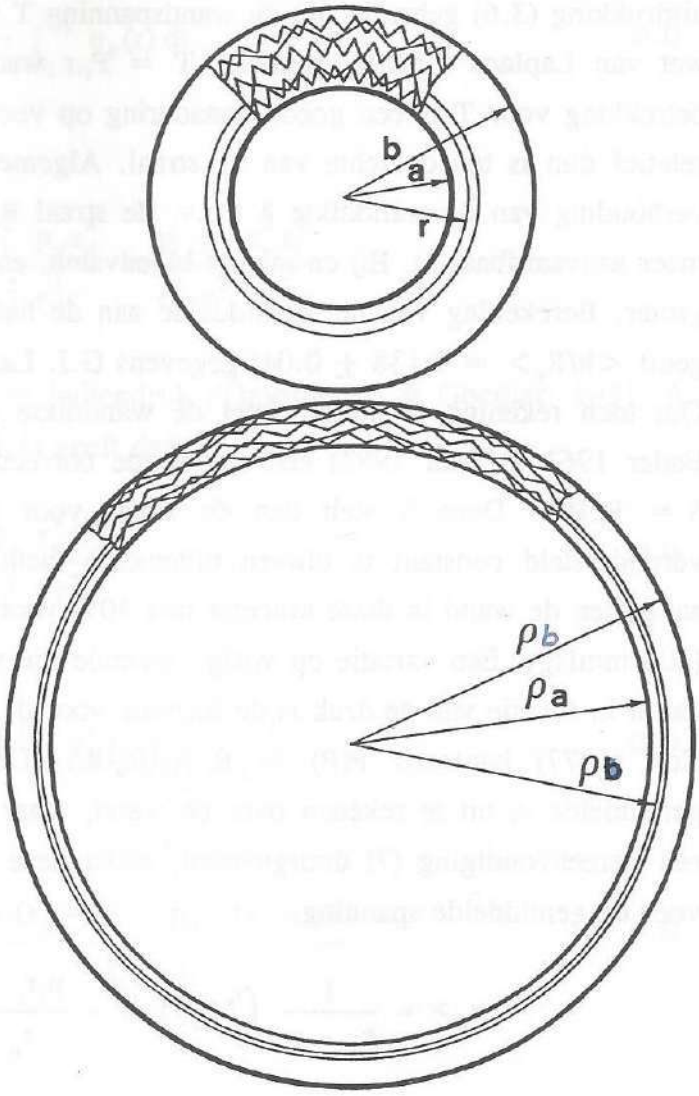
3.4 TOTALE WANDSPANNING T, AFGELEID AAN DE HAND VAN DE STRUCTURELE COMPONENTEN VAN DE BLOEDVATWAND.

We gaan nu de wandspanning T voor een dikwandig bloedvat afleiden, vertrekkende vanuit een andere positie. Hiervoor maken we gebruik van enkele fundamentele aannames die rekening houden met de weefsel-structuur van bloedvaten. Dit geeft aanleiding tot een

fysisch model waarbij twee elasticiteitsparameters en twee geometrische parameters ingevoerd worden, die het elastische gedrag van bloedvaten karakteriseren.

3.4.1 Algemene beginselen - Model beschrijving.

Een bloedvat wordt voorgesteld door een dikwandige elastische cilindrische buis.
We gebruiken in wat volgt de volgende symbolen (fig. 3.2):
- a en b : de binnen- en buiten-stralen bij drukverschil $\Delta p = 0$ Pa,
- ρ_a en ρ_b : de binnen- en buiten-stralen bij drukverschil $\Delta p > 0$ Pa.
- r : een lopende straal tussen a en b, bij drukverschil $\Delta p = 0$,
- ρ : de overeenkomstige straal bij drukverschil $\Delta p > 0$.



Figuur 3.2 : Schematische voorstelling van een bloedvatwand bij gelijke binnen- en buitendruk, en bij eindige overdruk binnenin.

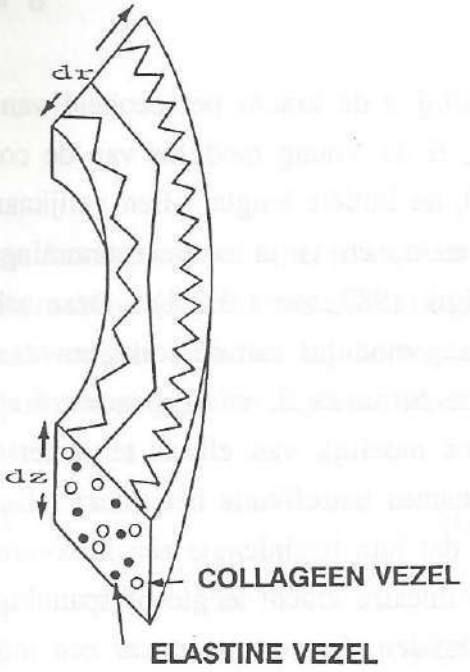
3.4.1.1 Collageen

De wand van een bloedvat wordt voorgesteld als een dikwandige cilinder. In deze cilinder beschouwen we een dun cilindersegmentje met straal r, radiale dikte dr en longitudinale lengte dz, zoals afgebeeld op de figuur 3.1. In dit ringetje zijn de twee wandcomponenten, namelijk collageen en elastine, aanwezig onder de vorm van een groot aantal opgeplooide vezels, circulair ingebed in een weefselmatrix van voornamelijk mucopolysacchariden, zoals schematisch voorgesteld op figuur 3.2 en 3.3.

mucopolysacchariden, zoals schematisch voorgesteld op figuur 3.2 en 3.3.

De collageenvezels worden verondersteld alle dezelfde dwarsdoorsnede oppervlakte [A_C] te hebben en een gelijkaardige veronderstelling gaat ook op voor de elastinevezels, met oppervlakte van de dwarsdoorsnede [A_E].

De collageenvezels zijn opgeplooid volgens een golvend patroon. Dit concept wordt oa. bevestigd door Lanir (1979,1983), Ling et al (1977), Lake et al (1974), Burton (1954), Maes (1984), Kastelic et al (1980) en Bader (1963). Elke vezel gelegen in het elementaire ringetje heeft een begin-lengte, zo gedefinieerd dat voorbij deze lengte een kracht nodig is om de vezel verder uit te rekken. Er is daarentegen geen kracht nodig om de vezel uit te rekken tot zijn beginlengte. Lanir (1983) maakt eveneens gebruik van deze veronderstelling.



Figuur 3.3 : Schematische voorstelling van een ringsegmentje uit de bloedvatwand, met de opgeplooide vezels.

3.4.1.2 Verdelingsfunctie voor de beginlengten.

Binnen het elementaire ringetje zijn de begin-lengten van de diverse collageenvezels verschillend, en we veronderstellen dat deze beginlengten een klok-vormige verdelingsfunctie volgen, gekenmerkt door een gemiddelde lengte μ, met een deviatie γ. Hiermee zijn reeds twee van de vier modelparameters ingevoerd. Dit principe werd reeds in 1957 geïntroduceerd door Roach en Burton, en wordt ook gebruikt door Lake et al (1972).

3.4.1.3 Wet van Hooke.

Elke individuele collageenvezel wordt verondersteld lineair elastisch te zijn, zodat de wet van Hooke gerespecteerd wordt:

$$\sigma = E\,\epsilon = E\frac{(l - l_i)}{l_i}$$

waarbij σ de kracht per eenheid van oppervlakte of m.a.w. de spanning voorstelt, ϵ de rek, E de Young modulus van de collageenvezel, l de lengte van de vezel na uitrekking en l_i de initiële lengte. Een gelijkaardige veronderstelling werd door Soong et al (1973) gemaakt, en is in overeenstemming met de concepten betreffende de micro-structuur (Viidik 1987, zie 1.3.2.1). Deze aanname introduceert de derde modelparameter E_C als Young modulus van de collageenvezels. {notatie: in de tekst staat steeds E_C of E_E terwijl in de formules E_c en E_e genoteerd staat. Dit is omdat in de tekst de notaties met kleine index moeilijk van elkaar te onderscheiden zijn.} De combinatie van de vorige twee aannames betreffende het lineair elastisch zijn van de individuele collageenvezels en het feit dat hun beginlengte een klokvormig verdelingsfunctie volgt, resulteert in de typische niet-lineaire kracht-lengte of spannings-rek curve, die eigen is aan de meeste biologische materialen. Immers, wanneer een monster uitgerokken wordt, gaan steeds meer en meer opgeplooide vezels betrokken geraken en dit geeft de geleidelijke opbouw van de kracht. Wanneer tijdens het uitrekken, het grootste aantal collageenvezels een lengte bereikt hebben die groter is dan de gemiddelde begin-lengte ter hoogte van de maximum van de verdelingsfunctie, is het totale gedrag van het sample lineair elastisch, en belanden we in het lineair deel op het spannings-rek diagram. Zie hiervoor figuur 1.7.

3.4.1.4 Elastine.

Een tweede aspect van het model bestaat erin dat een tweede component aanwezig is in de wand, onder de vorm van "lineair elastische" elastinevezels. Dit geeft aanleiding tot de vierde modelparameter namelijk de Young modulus E_E van de elastinevezels, aangezien zij eveneens de wet van Hooke volgen. Carton et al (1962) toonden aan dat individuele elastinevezels, afkomstig uit ligamentum nuchae niet lineair elastisch zijn, maar wel de gehele specimens, waarbij deze lineair elastisch zijn tot rekken van 110 %. Dit kan worden toegeschreven aan netwerk effecten. Aangezien elastine in de bloedvatwand morfologisch gezien netwerkstructuren en platen vormen, zoals afgebeeld op figuur 1.8, (Junqueira 1987), veronderstellen we dat we ook deze component mogen voorstellen als lineair elastisch. In tegenstelling tot de collageenvezels worden deze vezels verondersteld allemaal dezelfde lengte te hebben, binnen eenzelfde elementair ringetje in de wand. Uitrekking van deze groep vezels geeft bijgevolg aanleiding tot een zuiver lineair kracht-

lengte verband, zoals tevens blijkt uit metingen van de kracht-lengte relaties van ligamentum nuchae (zie figuur 1.9 I).

3.4.1.5 Onsamendrukbaarheid van bloedvaten.

We gebruiken vervolgens de eigenschap dat bloedvaten incompressibel zijn. (Carew et al. 1968). Het volume blijft m.a.w. behouden, en gebruik makend van de notaties van figuur 3.2 met a,b en r de binnen- buiten en lopende straal van het bloedvat bij de toestand zonder interne overdruk, en ρ_a, ρ_b en ρ de corresponderende stralen bij een bepaalde interne druk, hoger dan de buitendruk, gelden volgende relaties :

$$b^2 - a^2 = \rho_b^2 - \rho_a^2 \tag{3.9}$$

$$r^2 - a^2 = \rho^2 - \rho_a^2 \tag{3.10}$$

$$b^2 - r^2 = \rho_b^2 - \rho^2 \tag{3.11}$$

Hieruit volgt dat :

$$\rho = \sqrt{\rho_a^2 - a^2 + r^2} \tag{3.12}$$

3.4.2 Wiskundige afleiding van het model.

In de vorige sectie werden de basisprincipes voorgesteld die aan de grondslag liggen van het model. In wat volgt worden deze principes omgezet in wiskundige formuleringen, ten einde een constitutieve vergelijking op te stellen.

Daar de vezels circulair lopen rondom het lumen (bloedvatholte) , en aangezien we in wat volgt enkel het begrip "rek" gebruiken, gaan we over op het formalisme van stralen in plaats van lengtes. De begin-straal r_i komt overeen met de begin-lengte l_i ($=2\pi r_i$) van de vezel, en de krachten zijn voortaan tangentieel gericht.

Beschouw een ringetje op straal r met radiale dikte dr en longitudinale lengte dz (figuur 3.1). Ten gevolge van de druktoename gaat dit ringetje met straal r, tussen a en b, uitgerokken worden tot op een straal ρ gelegen tussen ρ_a en ρ_b.

3.4.2.1 Wandspanning ten gevolge van de collageencomponent.

De kracht nodig om één enkele collageen vezel gelegen op een ringetje met begin-straal ρ_i uit te rekken tot op straal ρ wordt gegeven door:

$$f(\rho, \rho_i) = E_c \cdot A_c \cdot \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \tag{3.13}$$

met E_C de Young modulus en A_C de dwarsdoorsnede van de collageenvezel.
Definiëren we N_C als het aantal collageenvezels per eenheid van oppervlakte in het elementair ringetje, dan is het aantal collageenvezels per eenheid van oppervlakte, met een begin-straal begrepen in het interval $[\rho_i, \rho_i+d\rho_i]$ gegeven door:

$$N_c \cdot \mathcal{L}(\rho_i; \mu, \gamma) \cdot d\rho_i \tag{3.14}$$

waarbij $\mathcal{L}(\rho_i;\mu,\gamma)$ een klokvormige verdelingsfunctie voorstelt.
Bijgevolg is, binnenin een ringetje op straal r, de kracht nodig om een groep collageenvezels, gelegen binnen het oppervlak drdz, met beginstralen ρ_i begrepen in het interval $[\rho_i,\rho_i+d\rho_i]$, uit te rekken tot op straal ρ:

$$d(d(dF(\rho,\rho_i))) = N_c \cdot A_c \cdot E_c \cdot \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \cdot \mathcal{L}(\rho_i;\mu,\gamma)\, d\rho_i\, dr\, dz \tag{3.15}$$

Wil men de totale kracht binnen dit ringetje kennen om alle collageen-vezels met beginstraal $\rho_i < \rho$ uit te rekken tot op een lengte ρ dan dient men vorige uitdrukking te integreren over alle beginstralen van r tot ρ.

$$d(dF(\rho,\rho_i)) = N_c \cdot A_c \cdot E_c \int_{\rho_i = r}^{\rho_i = \rho} \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \cdot \mathcal{L}(\rho_i;\mu,\gamma)\, d\rho_i\, dr\, dz \tag{3.16}$$

Keuze van de ondergrens.

De ondergrens van de integratie naar $d\rho_i$ heeft als fysische betekenis de kleinste straal van de vezels alvorens enige rek is opgelegd. Deze grootheid kan voor een ringetje op straal r niet kleiner zijn dan de r zelf, aangezien dit zou leiden tot residuele rekken in de wand, nog voor de interne druk verhoogd wordt. Alhoewel recente literatuur (Liu 1989, Fung 1989) wijst op het belang van residuele rek in bloedvaten, is de kans klein dat deze residuele rek afkomstig is van de collageen component, daar deze component slechts een rol speelt bij grote rekken of drukken, zoals reeds opgemerkt in hoofdstuk 1 en figuur 1.8.
Een bijkomend voordeel verbonden aan de keuze van r als ondergrens is dat de berekende kracht op het moment dat er nog niet opgeblazen wordt (dus ρ_i=a), gelijk aan nul is, zoals men ook kan verwachten.

De klokvormige verdelingsfunctie welke gekenmerkt is door de gemiddelde beginlengte μ en deviatie γ behoort bij de collageenvezels gelegen op het specifieke ringetje op straal r. De vezels op een ander ringetje hebben een andere gemiddelde lengte en spreiding. Daarom definiëren we een referentiering gelegen op straal a, zijnde de binnenstraal, zodat we een referentie-gemiddelde μ_a en referentie-spreiding γ_a hebben die de verdelingsfunctie karakteriseren. Deze referentie waarden μ_a en γ_a zijn twee van de vier parameters, eigen aan het model. We veronderstellen nu dat er een lineaire relatie bestaat tussen $\mu(r)$, de gemiddelde lengte voor een groep collageenvezels gelegen op een ring met straal r en μ_a enerzijds en tussen $\gamma(r)$ en γ_a anderzijds:

$$\mu(r) = \mu_a \frac{r}{a} \qquad \text{en} \qquad \gamma(r) = \gamma_a \frac{r}{a} \tag{3.17}$$

Bijgevolg bekomen we in plaats van uitdrukking (3.16) als uitdrukking van de kracht voor het uitrekken van een ringetje, devolgende formule:

$$d(dF(\rho,\rho_i)) = N_c \cdot A_c \cdot E_c \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \cdot \mathcal{L}(\rho_i; \mu_a \frac{r}{a}, \gamma_a \frac{r}{a})\, d\rho_i\, dr\, dz \tag{3.18}$$

Vervolgens dienen we om de totale kracht over de gehele wand te kennen ten gevolge van het opblazen van het bloedvat, te integreren over de wanddikte. Aangezien we tevens veronderstellen dat de parameters onafhankelijk zijn van de z-coördinaat, is de

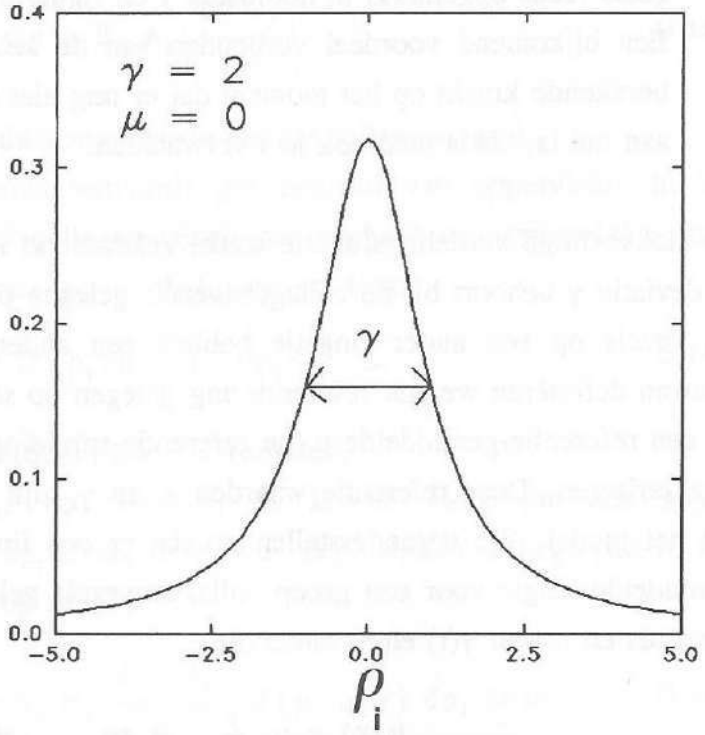
uiteindelijke uitdrukking voor de totale kracht uitgeoefend door de collageenvezels bij het opblazen van het bloedvat:

$$F(\rho) = N_c \cdot A_c \cdot E_c \cdot W \int_{r=a}^{r=b} \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \cdot \mathcal{L}(\rho_i; \mu_a \frac{r}{a}, \gamma_a \frac{r}{a})\, d\rho_i\, dr \qquad (3.19)$$

waarbij W de totale lengte in de z-richting is van het bloedvatsegment (figuur 3.1).

a. Lorentz verdeling.

Er waren diverse kandidaten voor de klokvormige verdelingsfunctie, zoals een Gauss-functie, Lorentz-functie, parabool, $\sin^2(x)$, driehoek, enz... Er werd na diverse pogingen uiteindelijk geopteerd voor een Lorentz verdelings-functie (Hulsman 1983), weergegeven met de volgende vergelijking:



Figuur 3.4: Lorentz verdelingsfunctie (genormaliseerd)

$$\text{LORENTZ}(\rho_i; \mu, \gamma) = \frac{\frac{\gamma}{2\pi}}{(\rho_i - \mu)^2 + \frac{\gamma^2}{4}} \qquad (3.20)$$

Figuur 3.4 geeft een visuele voorstelling van deze functie.

Verantwoording voor de keuze van een Lorentz.

Er zijn twee belangrijke voordelen verbonden aan de keuze van een Lorentz

distributiefunctie:

1. de aanpassing met de experimentele data zijn zeer goed.
2. de integratie naar $d\rho_i$ kan analytisch uitgevoerd worden, zodat bij het fitten van experimentele data aan de constitutieve vergelijking, uitgevoerd door de computer, er niet een dubbele integraal maar slechts één enkele dient berekend te worden, wat een aanzienlijke computertijd besparing inhoudt.

b. Gauss verdeling.

Alhoewel statistisch gezien een Gauss-verdeling meer voorkomt als vertegenwoordiger van populaties, is er weinig bewijsmateriaal voorhanden om een Gauss-verdeling a priori te verkiezen als verdelingsfunctie voor de beginlengten van de collageenvezels. Anderzijds ligt de keuze van een Gauss-verdeling wel voor de hand, aangezien deze verdeling gebruikt wordt in een vrij analoog model om de kracht-lengte relaties van pezen en trommelvliezen te beschrijven, (Decraemer 1977, Decraemer et al 1980, Maes 1984, Lake et al 1972).
Er zijn echter twee belangrijke redenen om voor het huidig model niet een Gauss-verdeling te nemen.

- Ten eerste levert de minimalisatieprocedure geen fysisch aanvaardbare parameters op.
- Ten tweede is de computerrekentijd veel langer om een minimalisatieprocedure te verrichten.

Als voornaamste reden geldt dat het gebruik van een Gauss-verdeling in het model geen goede resultaten geeft bij het fitten van experimentele metingen van bloedvaten door het model. Men kan voor de kracht uitgeoefend door de collageencomponent twee uitdrukkingen afleiden, één met een Lorentz als verdelingsfunctie en één met een Gauss als verdelingsfunctie. Dit geeft dan volgende formules:

$$F_{Lorentz}(\rho) = N_c \cdot A_c \cdot E_c \cdot \int_{r=a}^{r=b} \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \cdot \frac{\frac{\gamma_a \frac{r}{a}}{2\pi}}{(\rho_i - \mu_a \frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} \, d\rho_i \, dr \tag{3.21}$$

$$F_{Gauss}(\rho) = N_c \cdot A_c \cdot E_c \cdot \int_{r=a}^{r=b} \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \cdot \frac{1}{\sqrt{2\pi} \cdot s_a \frac{r}{a}} \cdot e^{-\frac{(\rho_i - \mu \frac{r}{a})^2}{2 s_a^2 \frac{r^2}{a^2}}} \, d\rho_i \, dr \tag{3.22}$$

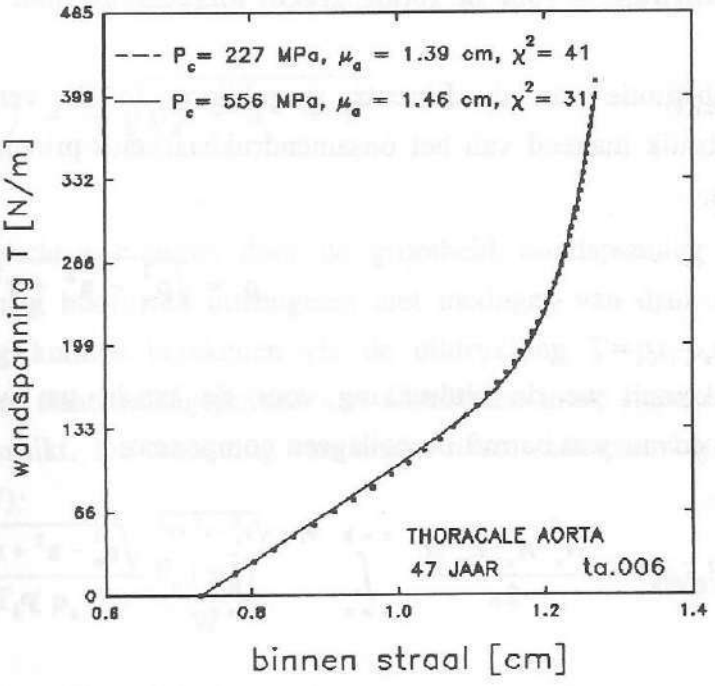
Beide uitdrukkingen dienen op dezelfde wijze aangevuld te worden door de kracht ten gevolge van de elastine component, welke hierna expliciet zal afgeleid worden. In figuur 3.5 staan twee (niet te onderscheiden) aanpassingen van een experimentele wandspanning-straal relatie van een thoracale aorta. (Dezelfde gegevens werden gebruikt op de figuur op de omslag, waar een aanpassing met het 2-componenten model met een Lorentz-verdeling getoond wordt.) In beide gevallen van figuur 3.5 werd het model met de Gauss-distributiefunctie gebruikt. Alhoewel de aanpassingen zeer aanvaardbaar zijn, dient vermeld te worden dat het minimalisatieprogramma in beide gevallen nog steeds niet geconvergeerd was. Hoe meer berekeningen er verricht werden, hoe meer de waarde voor E_C toenam samen met μ_a, waarbij reeds vrij snel onaanvaardbare waarden voor E_C en μ_a bereikt werden. De waarde P_C dient nog eens gedeeld te worden door de hoeveelheid collageen wat aanleiding geeft tot een stijfheidsmodulus die minstens één grootteorde te hoog is. De waarde voor μ_a bedraagt in het tweede vermelde geval op figuur 3.5 ongeveer 1.46 cm, wat duidelijk ver voorbij het meetgebied ligt. Later in dit hoofdstuk zal verduidelijkt worden dat deze parameter μ_a ter hoogte van de bocht op de T-r kromme gesitueerd kan worden.

De tweede reden betreft de rekentijd. Met een Lorentz-verdeling duurt een gemiddelde minimalisatieberekening ongeveer 100 minuten op een IBM PS/2 (80386, 16 MHz), waarbij ruwweg een 1000 keer de te minimaliseren functie wordt opgeroepen voor 50

meetpunten. De numerische berekening van deze functie nog eens uitbreiden met een tweede integraal, waarbij in de grenzen van de tweede integraal de integratieveranderlijke van de eerste integraal aanwezig is, (cfr. uitdrukking 3.19), brengt een zeer grote verlenging van de rekentijd met zich mee. Deze is minimum 10x langer, temeer daar er geen convergentie optreedt wanneer de Gauss-distributie gebruikt wordt.

Kort samengevat heeft het gebruik van de Lorentz verdeling devolgende voordelen in contrast met het gebruik van de Gauss-verdelingsfunctie:

- de aanpassing is zeer bevredigend, getuige de kleine χ^2 waarde (zie hiervoor figuur 3.6 en tabel 3.I op bladzijde 47)
- de minimalisatieprocedure convergeert probleemloos.
- de minimalisatieparameters hebben een volstrekt fysisch acceptabele waarde
- de rekentijd is veel minder lang.



Figuur 3.5: Modelaanpassingen waarbij een Gauss-distributiefunctie werd gebruikt.

Merkwaardig is dat in het geval dat er kracht-lengte relaties van pezen of trommelvliezen werden gefit, deze Gauss distributie een zeer goede aanpassing opleverde (Decraemer et al 1980, Maes 1984). Evenzeer was er een vrij goede aanpassing wanneer bloedvaten met zeer weinig elastine in de wand gefit werden, alhoewel de waarde voor μ_a steeds duidelijk te groot was. Het wezenlijke verschil tussen een kracht-lengte curve van een pees (bijna uitsluitend bestaande uit collageen) en een bloedvat met een aanzienlijke hoeveelheid elastine (±40% v.h. drooggewicht collageen, ±35% v.h. drooggewicht elastine) situeert zich voornamelijk in het lineair begindeel van de curve, namelijk bij kleine rekken. In dit deel verloopt bij pezen de kracht in functie van de verlenging quasi horizontaal, en nagenoeg gelijk aan nul zoals te zien is op

figuur 1.7. Bij bloedvaten is de niet te verwaarlozen helling in dit gebied net afkomstig van de elastine component. Blijkbaar is de functie die ontstaat door de som te maken van de kracht ten gevolge van de elastinecomponent en de kracht ten gevolge van de collageen component, slechts in staat de experimentele gegevens te fitten, indien een Lorentzfunctie gebruikt wordt. Het verschil tussen een Lorentz en een Gauss distributie speelt zich voornamelijk af in de flanken, die voor een Lorentz veel geleidelijker naar de x-as afdalen. Misschien is dit verschil verantwoordelijk voor de discrepantie tussen de twee aanpassingen, aangezien het niet-lineaire overgangsgebied op de kracht-lengte curve van bloedvaten nu net overeenkomt met het flank-gebied van de verdelingsfuncties.

Vervolg van de wiskundige opbouw van de constitutieve vergelijking.

Uitdrukking voor de totale kracht uitgeoefend door de collageen component.

Substitutie van de Lorentz vergelijking in de verdelingsfunctie $\mathcal{L}(\rho_i;\mu_a r/a,\gamma_a r/a)$ en gebruik makend van het onsamendrukbaarheids-principe, zodat ρ kan geschreven worden als:

$$\rho = \sqrt{\rho_a^2 - a^2 + r^2} \tag{3.23}$$

bekomen we de uitdrukking voor de kracht ten gevolge van het opblazen van een bloedvat, wat betreft de collageen component:

$$F_c(\rho_a) = \frac{N_c \cdot A_c \cdot E_c \cdot W}{2\pi} \int_{r=a}^{r=b} \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\sqrt{\rho_a^2-a^2+r^2}} \frac{\sqrt{\rho_a^2-a^2+r^2} - \rho_i}{\rho_i} \cdot \frac{\gamma_a \frac{r}{a}}{(\rho_i - \mu_a \frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} \, d\rho_i \, dr \tag{3.24}$$

Na integratie over $d\rho_i$, welke in detail beschreven wordt in het hiernnakomend Wiskundig Interludium, bekomen we :

$$F_c(\rho_a) = \frac{N_c \cdot A_c \cdot E_c}{\pi} \frac{W}{\frac{\gamma_a^2}{4} + \mu_a^2} \int_{r=a}^{r=b} \left\{ \left[\beta(\rho_a,r)\,\mu_a - \left(\frac{\gamma_a^2}{4} + \mu_a^2\right) \right] \cdot \left[\arctan\left\{ \frac{2}{\gamma_a}\left(\beta(\rho_a,r) - \mu_a\right) \right\} - \arctan\left\{ \frac{2}{\gamma_a}\left(a - \mu_a\right) \right\} \right] + \frac{\gamma_a}{4}\beta(\rho_a,r) \ln \left[\left(\frac{\beta(\rho_a,r)}{a} \right)^2 \cdot \frac{(a-\mu_a)^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}}{(\beta(\rho_a,r) - \mu_a)^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}} \right] \right\} dr \quad (3.25)$$

waarbij we de notatie gebruiken:

$$\beta(\rho_a,r) = \frac{a}{r}\sqrt{\rho_a^2 - a^2 + r^2} \quad (3.26)$$

Voortaan gaan we de grootheid kracht vervangen door de grootheid wandspanning T (tension), aangezien we zoals in vorig hoofdstuk uiteengezet met metingen van druk en stralen de wandspanning eenvoudig kunnen berekenen via de uitdrukking $T = p_i r_i - p_o r_o$. Tevens wordt bij de behandeling van elasticiteitsgegevens van bloedvaten in de literatuur steeds het begrip wandspanning gebruikt. De omzetting van kracht naar wandspanning is eenvoudig te doen via formule (3.27):

$$T_c(\rho_a) = \frac{F_c(\rho_a)}{W} \quad (3.27)$$

Voor een gegeven bloedvat hangt deze T_c enkel af van 4 parameters, ρ_a, E_C, μ_a en γ_a. Het produkt $N_C.A_C$ uit (3.25) is de relatieve hoeveelheid collageen in de wand van het vat. De bepaling van deze grootheid zal het onderwerp uitmaken van hoofdstuk 7. De parameter E_C is de Young modulus van de collageenvezels, μ_a is de gemiddelde lengte van de collageenvezels en γ_a is de hoogte bij halve breedte, beide karakteristiek voor de verdelingsfunctie behorend bij het ringetje op straal a. De betekenis van deze drie parameters zal uitvoerig besproken worden bij het einde van dit hoofdstuk.

c. Wiskundig interludium. Analytische uitwerking van de integraal in uitdrukking (3.24) naar $d\rho_i$.

De uitdrukking die we analytisch dienen te integreren naar $d\rho_i$ is:

$$F_c(\rho) = \frac{N_c \cdot A_c \cdot E_c \cdot W}{2\pi} \int_{r=a}^{r=b} \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \cdot \frac{\gamma_a \frac{r}{a}}{(\rho_i - \mu_a \frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} \, d\rho_i \, dr \qquad \text{(I.1)}$$

waarbij geldt dat ρ een functie is van r,a en ρ_a. De meetvariabele is ρ_a. Aangezien deze expliciete schrijfwijze in het eerste deel van de analytische uitwerking niet essentieel is, zal enkel het symbool ρ gebruikt worden in plaats van $\rho(r,a,\rho_a)$. In wat volgt gaan we tevens voor de eenvoud de integraal naar dr even achterwege laten en dientengevolge de notatie dF invoeren. Herschrijven van formule (I.1) met invoering van de notatie $k = N_C.A_C.E_C.W$ geeft dan:

$$dF_c(\rho) = \frac{k}{2\pi} \gamma_a \frac{r}{a} \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{\rho - \rho_i}{\rho_i} \frac{d\rho_i}{\left(\rho_i - \mu_a \frac{r}{a}\right)^2 + \left(\frac{\gamma_a}{2}\frac{r}{a}\right)^2} \, dr \qquad \text{(I.2)}$$

Deze integraal kunnen we opsplitsen in twee delen als:

$$dF_c(\rho) = \frac{k\gamma_a}{2\pi}\frac{r}{a}\left[\rho \cdot \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{1}{\rho_i} \cdot \frac{d\rho_i}{(\rho_i - \mu_a \frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} - \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{d\rho_i}{(\rho_i - \mu_a \frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} \right] dr \qquad \text{(I.3)}$$

of ook:

$$dF_c(\rho) = k \frac{\gamma_a}{2\pi} \frac{r}{a} [\, \rho \cdot I1 - I2 \,] \, dr \qquad \text{(I.4)}$$

met

$$I1 = \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{1}{\rho_i} \cdot \frac{d\rho_i}{(\rho_i - \mu_a \frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} \qquad \text{(I.5)}$$

$$\text{en met:} \quad I2 = \int_{\rho_1 = r}^{\rho_1 = \rho} \frac{d\rho_1}{(\rho_1 - \mu_a \frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} \tag{I.6}$$

De integraal I1 is van de vorm :

$$\int \frac{dx}{x \cdot X} = \frac{1}{2A} \cdot \ln\left(\frac{x^2}{X}\right) - \frac{B}{2A} \cdot \int \frac{dx}{X} \tag{I.7}$$

$$\text{waarbij} \quad X = A + Bx + Cx^2 \quad \text{en} \quad D = 4AC - B^2 \tag{I.8}$$

Het tweede deel van uitdrukking (I.7) en integraal I2 hebben beide dezelfde vorm, met name:

$$\int \frac{dx}{X} = \frac{2}{\sqrt{D}} \cdot \arctan \frac{2Cx + B}{\sqrt{D}} \qquad \text{voor } D > 0 \tag{I.9}$$

Werken we de noemer van I2 uit dan hebben:

$$X = \rho_1^2 - \left(2\mu_a \frac{r}{a}\right)\rho_1 + \left(\mu_a^2 \frac{r^2}{a^2} + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}\right) \tag{I.10}$$

zodat

$$A = \mu_a^2 \frac{r^2}{a^2} + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2} \tag{I.11}$$

$$B = -2\mu_a \frac{r}{a} \qquad \text{en} \qquad C = 1 \tag{I.12}$$

en

$$D = 4AC - B^2 = \gamma_a^2 \frac{r^2}{a^2} > 0 \tag{I.13}$$

Invullen van A, B en C geeft dan voor de primitieve functies :

$$I2 = \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{d\rho_i}{X} = \frac{2}{\gamma_a}\frac{a}{r}\arctan\left\{\frac{2}{\gamma_a}\frac{a}{r}(\rho_i - \mu_a\frac{r}{a})\right\}\Bigg|_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \qquad (I.14)$$

en

$$I1 = \int_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} \frac{d\rho_i}{\rho_i X} = \frac{1}{2\frac{r^2}{a^2}(\mu_a^2 + \frac{\gamma_a^2}{4})} \ln\left(\frac{\rho_i^2}{(\rho_i - \mu_a\frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}}\right)\Bigg|_{\rho_i=r}^{\rho_i=\rho} + \frac{\mu_a\frac{a}{r}}{\mu_a^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}} I2 \qquad (I.15)$$

Voor de eenvoud wordt gebruik gemaakt van volgende notatie:

$$\beta(\rho_a,r) = \frac{a}{r}\rho = \frac{a}{r}\sqrt{\rho_a^2 - a^2 + r^2} \qquad (I.16)$$

waarbij de afhankelijk van ρ_a en r wel expliciet vermeld wordt.

Uitwerking van I2 geeft:

$$I2 = \frac{2}{\gamma_a}\frac{r}{a}\left[\arctan\left\{\frac{2}{\gamma_a}(\beta(\rho_a,r) - \mu_a)\right\} - \arctan\left\{\frac{2}{\gamma_a}(a - \mu_a)\right\}\right] \qquad (I.17)$$

en uitwerking van I1 geeft:

$$I1 = \frac{1}{2\frac{r^2}{a^2}(\mu_a^2 + \frac{\gamma_a^2}{4})} \ln\left(\frac{\rho^2}{(\rho - \mu_a\frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}} \cdot \frac{(r - \mu_a\frac{r}{a})^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}\frac{r^2}{a^2}}{r^2}\right) + \frac{\mu_a\frac{a}{r}}{\mu_a^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}} I2 \qquad (I.18)$$

of na herschrijven van de logaritmeterm :

$$I1 = \frac{1}{2\frac{r^2}{a^2}(\mu_a^2 + \frac{\gamma_a^2}{4})} \ln\left[\left(\frac{\beta(\rho_a,r)}{a}\right)^2 \cdot \frac{(a - \mu_a)^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}}{(\beta(\rho_a,r) - \mu_a)^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}}\right] + \frac{\mu_a\frac{a}{r}}{\mu_a^2 + \frac{\gamma_a^2}{4}} I2 \qquad (I.19)$$

Rekening houdend met de voorterm ρ voor I1 en de voorterm $k.(\gamma_a/2\pi)(r/a)$ geeft dan uiteindelijk na herschrijven de formule voor de kracht uitgeoefend door de collageenvezels in een ringetje op straal r, ten gevolge van het verhogen van de interne

druk in het bloedvat:

$$dF_c(\rho_a,r) = N_c \cdot A_c \cdot E_c \cdot \frac{W}{\pi} \frac{1}{\frac{\gamma_a^2}{4}+\mu_a^2} \left\{ \left[\beta(\rho_a,r)\,\mu_a - \left(\frac{\gamma_a^2}{4}+\mu_a^2\right) \right] \right.$$

$$\left. \cdot \left[\arctan\left\{ \frac{2}{\gamma_a}(\beta(\rho_a,r)-\mu_a) \right\} - \arctan\left\{ \frac{2}{\gamma_a}(a-\mu_a) \right\} \right] + \frac{\gamma_a}{4}\beta(\rho_a,r) \ln\left[\left(\frac{\beta(\rho_a,r)}{a} \right)^2 \cdot \frac{(a-\mu_a)^2+\frac{\gamma_a^2}{4}}{(\beta(\rho_a,r)-\mu_a)^2+\frac{\gamma_a^2}{4}} \right] \right\} \tag{I.20}$$

Om de totale bijdrage over de wand te kennen dienen we vorige uitdrukking nog te integreren over dr van a naar b, zijnde van de binnenstraal naar de buitenstraal. Dit resulteert bijgevolg in de uitdrukking (3.25).

3.4.2.2 Wandspanning ten gevolge van de elastinecomponent.

In een ringetje met dikte dr en lengte dz, gesitueerd in de dikwandige cilinder op een straal r, zijn naast de collageenvezels tevens elastinevezels aanwezig. De beginlengten worden verondersteld dezelfde te zijn voor alle elastinevezels binnen dat bepaalde ringetje. Dit vereenvoudigt aanzienlijk de afleiding van de kracht te wijten aan het uitrekken van de elastinevezels.
De kracht nodig om een groep elastinevezels gelegen in een ringetje op straal r met dikte dr en breedte dz, (zie fig. 3.1 en 3.3), uit te rekken tot op een ringetje met straal ρ wordt gegeven door:

$$d(dF_e(\rho,r)) = N_e \cdot A_e \cdot E_e \cdot \frac{\rho - r}{r}\, dr\, dz \tag{3.28}$$

waarbij N_E het aantal elastinevezels per eenheid van oppervlakte in het ringetje voorstelt, A_E de dwarsoppervlakte per elastinevezel en E_E de Young modulus van de elastinevezels.

Om de bijdrage van alle elastinevezels in de gehele wand te hebben, dienen we te integreren over dr van binnen naar buitenstraal. Analoog met de kracht ten gevolge van de collageenvezels veronderstellen we dat er geen afhankelijkheid is van de z-coördinaat.

Substitutie van ρ zoals gegeven door uitdrukking (3.23) geeft dan:

$$F_e(\rho_a) = N_e \cdot A_e \cdot E_e \cdot W \int_a^b \frac{\sqrt{\rho_a^2 - a^2 + r^2} - r}{r} \, dr \tag{3.29}$$

Uitwerking van een dergelijke integraal geeft:

$$\int \frac{\sqrt{x^2 + \alpha^2}}{x} \, dx = \sqrt{x^2 + \alpha^2} - \alpha \cdot \ln\left(\frac{\alpha + \sqrt{x^2 + \alpha^2}}{x}\right) \tag{3.30}$$

Substitutie van $\alpha = \rho_a^2 - a^2$ resulteert dan uiteindelijk in:

$$F_e(\rho_a) = N_e \cdot A_e \cdot E_e \cdot W \cdot \left[a - b - \rho_a + \sqrt{\rho_a^2 - a^2 + b^2} + \sqrt{\rho_a^2 - a^2} \cdot \ln\left(\frac{b}{a} \cdot \frac{\sqrt{\rho_a^2 - a^2} + \rho_a}{\sqrt{\rho_a^2 - a^2} + \sqrt{\rho_a^2 - a^2 + b^2}}\right) \right] \tag{3.31}$$

Na deling door de breedte van het bloedvatsegment W bekomen we de uitdrukking voor de wandspanning te wijten aan de elastinevezels bij het opblazen van het bloedvat:

$$T_e(\rho_a) = \frac{F_e(\rho_a)}{W} \tag{3.32}$$

Deze wandspanning is voor een bepaald bloedvat afhankelijk van twee parameters ρ_a en E_E. Het produkt $N_E.A_E$ is de relatieve hoeveelheid elastine aanwezig in dat bloedvat, terwijl E_E de Young modulus vertegenwoordigt van de elastine vezels.

3.4.2.3 Totale wandspanning van een bloedvat - Constitutieve vergelijking van het 2-componenten model.

Dit alles resulteert in de totale wandspanning T ten gevolge van het verhogen van de interne druk in een bloedvat:

$$T\,(\,\rho_a;P_C,\mu_a,\gamma_a,P_E) \;=\; T_c(\rho_a;P_C,\mu_a,\gamma_a) + T_e(\rho_a,P_E) \;=$$

$$\frac{P_C}{\pi}\frac{1}{\frac{\gamma_a^2}{4}+\mu_a^2}\int_{r=a}^{r=b}\left\{\left[\beta(\rho_a,r)\,\mu_a-\left(\frac{\gamma_a^2}{4}+\mu_a^2\right)\right]\left[\arctan\left\{\frac{2}{\gamma_a}\left(\beta(\rho_a,r)-\mu_a\right)\right\}-\arctan\left\{\frac{2}{\gamma_a}\left(a-\mu_a\right)\right\}\right]\right.$$

$$\left.+\;\frac{\gamma_a}{4}\,\beta(\rho_a,r)\,\ln\left[\left(\frac{\beta(\rho_a,r)}{a}\right)^2\cdot\frac{(a-\mu_a)^2+\frac{\gamma_a^2}{4}}{(\beta(\rho_a,r)-\mu_a)^2+\frac{\gamma_a^2}{4}}\right]\right\}\,dr$$

$$+\;P_E\cdot\left[a-b-\rho_a+\sqrt{\rho_a^2-a^2+b^2}+\sqrt{\rho_a^2-a^2}\cdot\ln\left(\frac{b}{a}\cdot\frac{\sqrt{\rho_a^2-a^2}+\rho_a}{\sqrt{\rho_a^2-a^2}+\sqrt{\rho_a^2-a^2+b^2}}\right)\right]$$

$$\text{EN}\quad \beta\,(\rho_a,r) = \frac{a}{r}\sqrt{\rho_a^2-a^2+r^2}$$

MET 4 FITTING PARAMETERS : $P_C = N_c\cdot A_c\cdot E_C$, μ_a , γ_a en $P_E = N_e\cdot A_e\cdot E_E$

MET
- E_C : YOUNGS MODULUS VAN DE COLLAGEEN-VEZELS
- E_E : YOUNGS MODULUS VAN DE ELASTINE-VEZELS
- $N_c\cdot A_c$: PROCENTUELE HOEVEELHEID COLLAGEEN ϵ DE WAND
- $N_e\cdot A_e$: PROCENTUELE HOEVEELHEID ELASTINE ϵ DE WAND
- μ_a : GEMIDDELDE LENGTE VAN DE COLLAGEENVEZELS OP BINNENSTE RING
- γ_a : VOLLEDIGE BREEDTE BIJ HALVE HOOGTE VAN DE LORENTZ DISTRIBUTIE FUNCTIE BEHOREND BIJ HET BINNENSTE RINGETJE

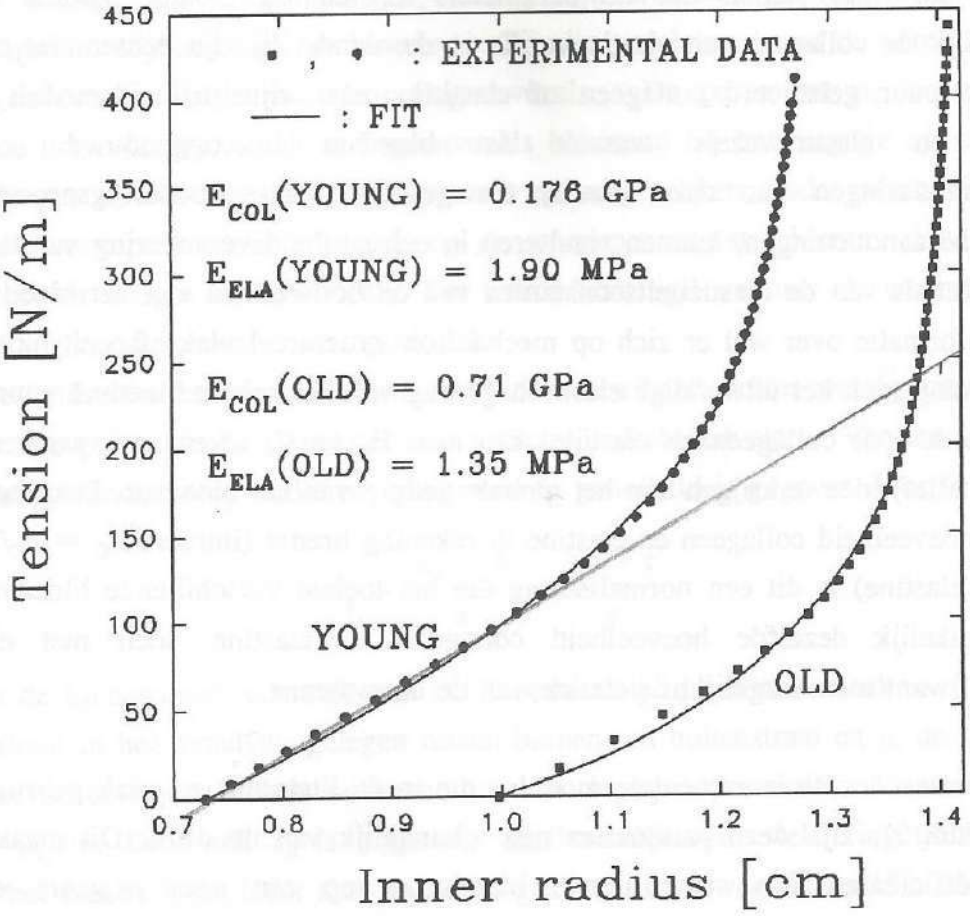
Het is deze formule die gebruikt zal worden om aan de hand van de experimentele gegevens de constanten E_C, E_E, μ_a en γ_a te bepalen voor het gemeten bloedvat via een minimalisatieprocedure.

3.4.3 Betekenis en interpretatie van de modelparameters E_C, E_E, μ_a en γ_a.

P_C (= $N_C A_C E_C$) , P_E (= $N_E A_E E_E$) , μ_a en γ_a zijn parameters die in hun geheel bepaald worden in het minimalisatieproces. $N_C A_C$ en $N_E A_E$ zijn resp. de procentuele hoeveelheden collageen en elastine die in de het bloedvatsample aanwezig zijn. Om de Young-moduli te kennen van beide constituenten, is het derhalve nodig de relatieve hoeveelheid van beide materialen te kennen in het onderzochte bloedvat. Hiervoor is een morfologisch onderzoek nodig. Dergelijk onderzoek behoort echter meestal standaard bij experimenten op bloedvaten en deze gegevens zijn dan ook vaak voorhanden. In hoofdstuk 6 komen we hier in meer detail op terug.

3.4.3.1 Voorbeeld van een aanpassing van het model aan een experiment.

Om de betekenis van de modelparameters te schetsen, wordt eerst bij wijze van illustratie een modelaanpassing getoond. Hiervoor worden de experimentele wandspanning-straal gegevens van humane aorta's gebruikt welke ook als voorbeeld golden in hoofdstuk 2 bij de bespreking van de incrementele modulus. In figuur 3.6 en op de omslag is de aanpassing van het 2-componenten model aan de experimentele meting van de wandspanning weergegeven. In tabel I staan de bijbehorende waarden voor de aangepaste minimalisatieparameters E_C, E_E, μ_a en γ_a voor beide aorta's. De fouten zijn opgegeven door het minimalisatieprogramma. De laatste kolom bevat de verhouding van de moduli van de oude tov de jonge aorta. In de volgende punten worden elk van deze parameters besproken, maar alvorens hierop in te gaan kunnen we reeds een eerste belangrijke conclusie treffen, namelijk dat de experimentele gegevens uitermate goed door het model aangepast worden. Daarbij komt nog dat de absolute waarden voor de minimalisatie parameters zeer goed overeenkomen met de verwachte waarden, ttz de Young moduli E_C en E_E hebben zeer plausibele waarden (cfr Hoofdstuk 1 voor de stijfheidsmoduli van collageen en elastine). Dit kan ook van μ_a en γ_a gezegd worden.



Figuur 3.6: Experimentele wandspanning-straal curven van een thoracale aorta van een jonge donor (47 jr) en van een oude donor (88 jr), en hun aanpassingen door het 2-componenten model.

Tabel 3.I. Gefitte parameters ± S.D. Experimentele data van een jonge (47 jr) en oude (88 jr) menselijke thoracale aorta gefit door het 2-comp. model. Zie figuur 3.6 (experimentele data van G. Langewouters (1984)).

Gefitte Parameter	Thoracale aorta 47 jaar	Thoracale aorta 88 jaar	E^{88} / E^{47}
E_C [GPa]	0.1758 ± 0.0029	0.71 ± 0.06	4.0 ± 0.3
E_E [MPa]	1.90 ± 0.04	1.35 ± 0.10	0.71 ± 0.05
μ_a [10^{-2} m]	1.2100 ± 0.0004	1.3782 ± 0.0018	
γ_a [10^{-2} m]	0.0294 ± 0.0018	0.0138 ± 0.0006	
$\chi^2_{(\nu=46)}$	19.3	35.1	

3.4.3.2 De Young moduli E_C en E_E

Algemeen kan men stellen dat de parameters E_C en E_E Young moduli zijn van respectievelijk de collageen- en elastinevezels in de wand. Zij zijn echter niet de exacte moduli van puur geïsoleerd collageen of elastine, maar zijn stijfheidsmoduli van die collageen- en elastinevezels waaruit dat bloedvat is opgebouwd. Interne structuurveranderingen van deze vezels, ten gevolge van verouderingsprocessen, of pathologische aandoeningen, kunnen resulteren in een stijfheidsverandering van het gehele bloedvat. Kennis van de elasticiteitsconstanten van de bouwstenen van het bloedvat geeft derhalve informatie over wat er zich op mechanisch structureel vlak afspeelt binnenin het bloedvat. Aangezien het uitwendige elastisch gedrag van het gehele bloedvat voornamelijk bepaald wordt door collageen en elastine, kan men E_C en E_E tevens ook aanwenden om een (quantitatief) idee te krijgen van het globale gedrag van het bloedvat. Doordat men de specifieke hoeveelheid collageen en elastine in rekening brengt (immers $E_C = P_C/N_C A_C$ en idem voor elastine) is dit een normalisering die het toelaat verschillende bloedvaten met niet noodzakelijk dezelfde hoeveelheid collageen en elastine, toch met elkaar te vergelijken, want men vergelijkt de sterkte van de bouwstenen.

In groot contrast tot de incrementele modulus die in de literatuur zo vaak gebruikt wordt (cfr hoofdstuk 2), zijn deze parameters niet afhankelijk van de druk. Dit maakt dat de stijfheidscoëfficiënten van verschillende bloedvaten op een veel exactere en meer eenduidige wijze kunnen vergeleken worden, dan het geval is voor de incrementele modulus. Beschouwen we opnieuw deze metingen van de jonge en oude menselijke thoracale aorta (zie figuur 2.1 en 2.3en 3.6) De verhouding van de incrementele modulus van de oude aorta tov de jonge aorta, $E_{inc}^{88} / E_{inc}^{47,}$ uitgezet in functie van de druk, varieerde van een waarde 0.5 naar 1.7 met als tussenliggend maximum een waarde van 3. Dergelijke variabiliteit als functie van de druk resulteert in een besluiteloosheid wat betreft welke van beide aorta's de stijfste is en hoeveel stijver deze dan wel is. Daartegenover staan de resultaten uit tabel 3.I die vertrekkende van dezelfde experimentele gegevens een veel eenduidigere uitspraak kan vellen betreffende de stijfheid van beide aorta's. Om te beginnen beschouwen we de verhouding van de (cfr tabel 3.I, laatste kolom) Young moduli voor deze twee aorta's. Deze verhouding $E_C^{88} / E_C^{47} = 4.0 \pm 0.3$ is eenduidig bepaald. De collageencomponent van de oude aorta is 4 maal zo stijf als deze van de jonge aorta. Over de elastinecomponent kunnen we besluiten dat de verhouding $E_E^{88} / E_E^{47} = 0.71 \pm 0.05$ eveneens eenduidig bepaald is en op een lichte versoepeling wijst bij de oude aorta in vergelijking met de jonge aorta.

3.4.3.3 De parameters μ_a en ϵ_μ.

De twee overige modelparameters μ_a en γ_a zijn eveneens indicatoren wat betreft veranderingen in stijfheid van het bloedvat. Zij zijn gerelateerd met de verdelingsfunctie van de gemiddelde lengte van de collageenvezels. De parameter μ_a is namelijk de gemiddelde begin-lengte van de collageenvezels behorend bij het ringetje op straal a, en bij deze lengte zijn de meeste collageenvezels net uitgerokken, zodat overeenkomstig de theoretische concepten van het model, op de wandspanning-straal curve deze grootheid zich situeert ter hoogte van de bocht. Dit wordt bevestigd wanneer de waarden voor μ_a uit tabel I nagetrokken worden op figuur 3.6.
Deze grootheid uitzetten voor verschillende bloedvaten heeft echter weinig zin wegens de niet constante geometrische dimensies van verschillende bloedvaten. Vandaar dat we het begrip "rek" introduceren, welke een genormeerde grootheid is gegeven door (4.2):

$$\epsilon_\mu = \frac{\mu_a - a}{a} = \frac{\mu_r - r}{r} \qquad (4.2)$$

waarbij a de binnenstraal voorstelt van het bloedvat bij transmurale druk = 0 Pa, r een lopende straal in het bloedvat, gelegen tussen binnen- en buitenstraal en μ_r de gemiddelde lengte van de collageen vezels behorend bij het ringetje op straal r. Voor deze lengte geldt $\mu_r=\mu_a.r/a$. Deze rek ϵ_μ is bijgevolg onafhankelijk van welk ringetje beschouwd wordt in het bloedvat, en leent zich eveneens goed om twee verschillende bloedvaten met een andere beginstraal a te vergelijken met elkaar. Deze grootheid ϵ_μ vertegenwoordigt de rek waarbij de meeste collageenvezels net gestrekt zijn. In het specifieke geval van de jonge aorta is ϵ_μ = 66%, welke bereikt wordt bij een druk van 14.4 kPa (108 mmHg), terwijl voor de oude aorta geldt dat ϵ_μ = 38% bij een druk van 12.3 kPa (92 mmHg). Dit betekent dat de gemiddelde lengte van de collageenvezels in de oude aorta bij een kleinere rek bereikt wordt dan bij de jonge aorta, of ook dat een lagere druk vereist is om de "gemiddelde rek" ϵ_μ te bereiken bij de oudere aorta in vergelijking tot de jonge. Beide gegevens leiden ertoe te concluderen dat de oude aorta stijver is dan de jonge aorta, aangezien reeds veel sneller de collageencomponent gaat interfereren. Deze parameter ϵ_μ is derhalve een indicatie van wanneer op de T-r curve de collageencomponent een bijdrage gaat leveren tot de opbouw van de wandspanning. Dientengevolge kan deze grootheid geïnterpreteerd worden als een maat voor de schijnbare algemene stijfheid van het bloedvatsegment.

3.4.3.4 De parameter γ_a.

De vierde parameter γ_a wijst eveneens op stijfheidskenmerken van het onderzochte bloedvat. Deze grootheid vertegenwoordigt de volledige breedte bij halve hoogte van de verdelingsfunctie van de beginlengtes van collageenvezels gelegen op het ringetje met straal a. Het is een indicator voor de mate van kromming van de bocht in de T-r curve. Hoe groter γ_a, hoe geleidelijker deze bocht doorlopen wordt bij toenemende druk. Een afname van deze parameter van 0.0294 cm tot 0.0138 cm, met toenemende leeftijd suggereert dat de collageenvezels zich stijver gedragen, omdat veel bruusker de gemiddelde lengte μ_a bereikt wordt, dan voor een bloedvat met een grotere γ_a. De grootheid γ_a is een soort indicatie van hoe gemakkelijk de collageenvezels voorbij elkaar glijden tijdens het uitrekken van een gehele bundel, en bijgevolg is γ_a een maat voor de interactie tussen de collageenvezels en dus indirect voor de schijnbare stijfheid van het bloedvat, want deze interactie tussen de collageenbundels manifesteert zich voornamelijk macroscopisch, op schaal van het gehele bloedvat.

3.4.3.5 De werkzame druk $P(\mu_a)$.

Naast de parameters E_C, E_E, ϵ_μ, en γ_a is er nog een parameter die hieruit afgeleid kan worden, en evenzeer een maat is voor de stijfheid van het bloedvat, namelijk de druk $P(\mu_a)$, die nodig is om het bloedvat op te blazen totdat de binnen-straal ρ_a de waarde μ_a heeft bereikt. Op de wandspanning-straal curve situeert $P(\mu_a)$ zich ter hoogte van de bocht. Bij iets lagere drukken zal het bloedvat nog niet ten volle opgeblazen zijn, en bij grotere drukken is het bloedvat reeds onder grote spanning. $P(\mu_a)$ is m.a.w. een soort overgangsdruk of werkingsdruk. Hoe lager deze waarde is hoe sneller de meeste collageenvezels hun beginlengte bereiken. Dit betekent dat voor een gegeven fysiologische druk, bv 13 kPa (100 mmHg), het bloedvat zich in een mechanisch stijver gebied bevindt, wanneer de waarde $P(\mu_a)$ voor dat specifieke bloedvat lager is dan deze 13 kPa.

Tevens kan men opmerken dat wanneer men de absolute gemiddelde waarde van $P(\mu_a)$ bekijkt (voor 43 thoracale en 20 abdominale menselijke aorta's is $<P(\mu_a)> = (12.32 \pm 0.13)$ kPa $= (92.3 \pm 0.9)$ mmHg), deze een grote overeenkomst vertoont met de gemiddelde arteriële druk gedefinieerd als:

$$PA_G = \frac{1}{T}\int_0^T P(t)\,dt \qquad (4.3)$$

waarbij P(t) de arteriële druk voorstelt tijdens een hartslag en T de duur van een hartslag. Een vereenvoudigde formule is: $PA_G \approx P_D + 1/3(P_S-P_D)$. Deze gemiddelde arteriële druk heeft bij mensen normaal een waarde van ongeveer 12.6 kPa of 95 mmHg en het is opvallend dat deze waarde erg goed overeen komt met de gemiddelde waarde $<P(\mu_s)>$ bij de 63 aorta's. Bijgevolg kan deze werkzame of operationele druk $P(\mu_s)$ aanzien worden als een fysiologische aanvaardbare grootheid en een maat voor de schijnbare stijfheid van het gehele onderzochte bloedvat.

3.4.3.6 Besluit.

We beschikken nu over een constitutieve vergelijking (zie 3.4.2.3) van het 2-componenten model en daaruit voortvloeiend een set van 4 minimalisatieparameters en 2 daaruit afgeleide parameters, die per bloedvat een quantitatieve maat zijn voor het elastische gedrag. Deze parameters zijn eenduidig, constant en uniek per bloedvat.

Van allerhande bloedvaten kan de T-r relatie aangepast worden door dit model, om aan de hand van deze parameters na te gaan wat de invloed is van diverse externe factoren zoals ouderdom of atherosclerose op de stijfheid van de bloedvaten.

In de volgende twee hoofdstukken wordt uiteengezet wat de resultaten zijn van het toepassen van het 2-componenten model op thoracale en abdominale menselijke aorta's met een leeftijd variërend van 30 jaar tot 88 jaar.

Hoofdstuk 4.

Toepassing van het model op experimentele gegevens.

4.1 INLEIDING.

Tijdens de ontwikkeling van een fysisch model is een goede interactie nodig tussen theorie en experiment. Zeer wenselijk is indien men over een experimentele opstelling beschikt om zelf metingen uit te voeren, en tegelijkertijd een model opstelt om de experimentele gegevens te 'fitten' en te verklaren. Zo kan men aan de hand van de kennis opgedaan bij het experimenteren, het model gaandeweg tijdens de ontwikkeling aanpassen totdat het optimaal de experimentele realiteit weerspiegelt. Deze simultaneïteit is in de werkelijkheid niet steeds haalbaar, en zoals het geval was bij de aanvang van het onderhavige onderzoek, was een meetopstelling om de mechanische eigenschappen van bloedvaten te meten niet als dusdanig voorhanden. Vandaar dat perioden van constructie van de meetopstelling en ontwikkeling van het model zich voortdurend afwisselden, waarbij onderlinge interactie de verfijning van beide onderdelen in de hand werkte. Desalniettemin was het ook wenselijk om reeds in een vroeg stadium te beschikken over experimentele gegevens, om het model op uit te testen. Immers, de tijd nodig om een experimenteel functionerende opstelling te construeren is niet noodzakelijkerwijs van dezelfde grootteorde als deze nodig om een model af te leiden. Vandaar dat de literatuur werd afgetast naar de nodige experimentele data.

Over welke experimentele gegevens dienden we te beschikken bij de ontwikkeling van het model ?

1. experimenteel bepaalde druk-volume of spanning-straal relaties van een bloedvat.
2. de dimensies van de binnenstraal en de buitenstraal op elk moment van de meting.
3. de hoeveelheden van de verschillende wandconstituenten.

In de literatuur vonden we meerdere druk-volume relaties, maar zelden waren alle gegevens of experimenteeromstandigheden volledig gekend. Het doctoraal proefschrift van Dr G. Langewouters getiteld "Visco-elastic properties of the human aorta in vitro in relation to pressure and age", Vrije Universiteit van Amsterdam, Promotor: Prof. dr. N

Westerhof, 1982, bevatte echter alle nodige gegevens uitvoerig beschreven. Dr Langewouters was zo vriendelijk mij zijn gegevens te laten gebruiken. Aangezien het proefschrift van Langewouters enerzijds de gewenste data kon leveren om de validiteit van het model te testen, maar anderzijds, eens het model goed functioneerde, ook een uitstekende medisch-klinische databank was om het model op toe te passen, wordt in de volgende sectie een korte toelichting gegeven bij het werk van Dr G. Langewouters.

4.2 METHODE EN EXPERIMENTEN VAN LANGEWOUTERS.

Voor zijn doctoraal proefschrift was Dr. Langewouters geïnteresseerd naar de invloed van de leeftijd op de stijfheid van menselijke aorta's.
Langewouters voerde experimenten uit op deze aorta's, waarbij hij de bloedvaten in vitro onderwierp aan een interne druk en tegelijkertijd de buitendiameter registreerde met behulp van twee contact-verplaatsings-transducers. Vervolgens rekende hij de diameter om naar lumenoppervlakte, gebruik makend van het onsamendrukbaarheidsprincipe (Carew et al 1969). De meetfout op deze lumenoppervlakte bedraagt ongeveer 2% in het slechtste geval.
Aldus bekwam hij per bloedvat een relatie tussen druk en lumenoppervlakte, welke hij aanpaste aan een analytische uitdrukking met 3 parameters, een model van het fenomenologisch type, reeds ten dele beschreven in hoofdstuk 2, sectie 2.6. Deze uitdrukking werd door Langewouters uitsluitend gekozen om zijn eenvoud, en de parameters hebben als dusdanig geen echte fysische of fysiologische betekenis. De uitdrukking vindt zijn oorsprong in de aanname dat de reciproce waarde van de compliantie, $C=\Delta A/\Delta P$, een parabolisch verloop heeft in functie van de druk, of m.a.w. $1/C=a+bp+cp^2$. Na omrekening naar lumen oppervlakte A(p) wordt deze formule gegeven door volgende uitdrukking:

$$A(p) = A_m \left[\frac{1}{2} + \frac{1}{\pi} \arctan\left(\frac{p - p_0}{p_1} \right) \right] \qquad (4.1)$$

waarbij A_m de limietwaarde is voor de lumenoppervlakte voor (onfysiologisch) hoge drukken, p_0 is de druk waarbij de klokvormige compliantiecurve een maximum vertoont, en p_1 is druk waarbij de compliantie daalt tot op de halve hoogte. Een afbeelding van een dergelijk verloop werd reeds in figuur 2.1 getoond.

De stijfheid die de bloedvaten karakteriseert, werd berekend aan de hand van de incrementele modulus (Bergel, 1961), welke uitvoerig beschreven wordt in hoofdstuk 2.

Indien E_{inc} geschreven wordt in termen van lumen en druk bekomt men voor de incrementele modulus:

$$E_{inc}(p) = 3\,\frac{A\cdot l + V_w}{V_w}\left(A\,\frac{\Delta P}{\Delta A}\right) \qquad (4.2)$$

waarbij l de lengte en V_w het wandvolume (bij nat gewicht) vertegenwoordigen. Toepassing van deze formule komt neer op een berekening van de raaklijn aan een bepaald punt van de druk-lumen kromme, en zoals reeds geconstateerd werd kan deze grootheid voor eenzelfde bloedvat variëren met een factor 100, afhankelijk van de plaats waar hij berekend wordt.

Evenwel geen genoegen nemend met de incrementele modulus zoals voorgeschreven door Bergel 1961, voerde Langewouters de zogenaamde 'echte modulus' in waarbij enkel de mechanisch relevante bestanddelen uit de wand in rekening gebracht worden. Deze 'echte modulus' wordt gedefinieerd als:

$$E_{inc} = \frac{A_C E_C + A_E E_E}{A_C + A_E} = E_{inc}\cdot\frac{A_T}{A_C + A_E} \qquad (4.3)$$

Hierin stellen A_T de totale krachtdragende oppervlakte voor en A_C en A_E de oppervlakte van de krachtdragende collageen- en elastinecomponenten in de wand. Om uiteindelijk de echte modulus te berekenen stelt Langewouters dan voor om V_w in uitdrukking 4.2 te benaderen door:

$$V_w^* = V_w\cdot\frac{(100 - H_2O)}{100}\cdot\frac{(100 - TL)}{100}\cdot\frac{CO + EL}{100} \qquad (4.4)$$

met H_2O de hoeveelheid water in de bloedvatwand (70%), TL de hoeveelheid lipiden, en CO en EL de hoeveelheden collageen en elastine uitgedrukt in relatieve hoeveelheden van het droge vetvrije gewicht.

Deze berekeningsmethode houdt een zeer aanzienlijke verbetering in aangezien er zo een normalisering doorgevoerd wordt, zodat de incrementele elasticiteitsmoduli van verschillende bloedvaten, met onderling andere hoeveelheden collageen en elastine, toch kunnen vergeleken worden. Jammergenoeg blijft de drukafhankelijkheid een feit.

Langewouters heeft deze incrementele modulus berekend voor ieder bloedvat en dit voor de drukken gaande van 0 tot 26.6 kPa (200 mmHg).

Aangezien Langewouters in de eerste plaats geïnteresseerd was naar het effect van de

ouderdom op de stijfheid van menselijke aorta's, onderzocht hij 45 thoracale aorta's en 20 abdominale aorta's, afkomstig van patiënten met een leeftijd bij overlijden tussen 30 en 89 jaar. De aorta ontspringt bovenaan uit het hart, en kromt langs de rugzijde omlaag langs de thorax (borstkas) naar de buikholte, het abdomen. Vandaar dat met thoracale en abdominale aorta de delen bedoeld worden die gedisseceerd werden ter hoogte van de thorax respectievelijk de buikholte.
Langewouters verrichtte metingen waarbij hij diverse mechanische en histologische parameters opmat, ten einde een analyse te kunnen doen welke een relatie blootlegde tussen de elasticiteit, de visco-elasticiteit en de wandcomponenten van de bloedvaten enerzijds en de leeftijd anderzijds.
De conclusies betreffende zijn experimenten zijn terug te vinden bij Langewouters (1982) en Langewouters et al (1984).

4.3 METHODE VAN OMREKENING VAN DE EXPERIMENTELE GEGEVENS VAN LANGEWOUTERS NAAR DATA BRUIKBAAR VOOR ONS MODEL.

Voor 65 aorta's werd door Langewouters een parameter aanpassing gedaan van de A-p relatie (4.1). Vervolgens werden uit tabellen in het doctoraal proefschrift van Langewouters voor alle aorta's de volgende gegevens gehaald:

1) de parameters A_m, p_0 en p_1.
2) geometrische gegevens betreffende de wanddikte h, externe diameter d_e, beide gemeten bij 100 mmHg, en het volume V_w van de wand van een stuk aorta van 10 cm lengte.
3) histologische gegevens van de hoeveelheid collageen , elastine en lipiden uitgedrukt in % vetvrij drooggewicht.

Aan de hand van deze gegevens hebben we per bloedvat de wandspanning T in functie van de binnenstraal bepaald voor elke aorta in een gebied overeenkomstig met een druk gaande van 0 tot 26.6 kPa. Hieruit werden 50 puntenparen genomen die gebruikt werden om ons 2-componenten model aan te fitten.

Omrekening.

De exacte werkwijze van omrekening wordt nu weergegeven.
In wat volgt staat p voor het drukverschil over de wand en p_{atm} voor de externe druk. Uit formule (4.1) werd de binnenstraal ρ_a bepaald door middel van $\rho_a(p) = (A(p)/\pi)^{1/2}$.

Vervolgens werd de binnenstraal bij p = 0 kPa bepaald als a = $\rho_a(0)$. Anderzijds werd de buitenstraal bij p = 13.3 kPa berekend uit: $\rho_b^{100} = d_e/2$.
Hieruit kan de buitenstraal b bij p = 0 kPa berekend worden steunend op het onsamendrukbaarheidsprincipe als:

$$b = \sqrt{(\rho_b^{100})^2 - (\rho_a(100))^2 + a^2} \tag{4.5}$$

Met deze gegevens kan tenslotte de buitenstraal $\rho_b(p)$ berekend worden als:

$$\rho_b(p) = \sqrt{(\rho_a(p))^2 - a^2 + b^2} \tag{4.6}$$

De totale wandspanning T werd dan bepaald aan de hand van de formule (3.6):

$$T(p_i) = \rho_a p_i - \rho_b p_o \tag{4.7}$$

met ρ_a en ρ_b de binnen- en buitenstraal bij binnen- en buitendruk p_i en p_o.

Er werd enkel een binnendruk p vermeld in het werk van Langewouters, vandaar dat er voor de buitendruk $p_o = p_{atm}$ genomen werd en voor de binnendruk $p_i = p + p_{atm}$.

Correctie.

Een bijkomend probleem is dat door het toepassen van deze formule (4.7) voor de totale wandspanning er bij bepaalde drukken p een negatieve wandspanning optreedt.
Het 2-componenten model geeft een bijdrage voor de wandspanning die enkel positieve waarden aanneemt. Vandaar dat de volgende redenering gemaakt werd;
Er bestaat bij evenwicht en bij gelijke binnen- en buitendruk, gedefinieerd als p_{rust}, een zeker rustwandspanning gelijk aan $T_{rust} = p_{rust}(a-b) < 0$ kPa. Hierin zijn a en b de binnen en buitenstraal bij deze toestand waarbij er geen overdruk binnenin aanwezig is. Dit houdt verband met de 'zero-stress' toestand, onderzocht door Chuong et al (1986), Fung et al (1989), Liu et al (1989) en Vaishnav (1987). Bij verhoging van de binnendruk komt er een spanning T' bij, te wijten aan de uitrekking van de vezels in de wand. Het is deze T' die voorgesteld wordt door ons 2-componenten model. We veronderstellen dus dat deze $p_{rust} = p_{atm}$. Dit geeft derhalve voor de totale wandspanning zoals door ons model beschreven wordt:

$$T'(p) = T - p_{atm}(a-b) = \rho_a p_i - \rho_b p_o - p_{atm}(a-b) = \rho_a(p + p_{atm}) - \rho_b p_{atm} - p_{atm} \quad (4.8)$$

Voor elk individueel bloedvat worden de waarden van T'(p) en ρ_a tenslotte gefit aan het beschreven model, ter berekening van de set van 4 minimalisatie parameters P_C, P_E, μ_a en γ_a. Na deling door de bijbehorende procentuele oppervlakte collageen en elastine in ieder bloedvat, eveneens opgegeven in het werk van Langewouters, bekomen we de Young moduli van de collageen- en elastinecomponent aanwezig in ieder gemeten bloedvat evenals de, al dan niet afgeleide, parameters μ_a, γ_a, ϵ_μ en $P(\mu_a)$.

4.4 MINIMALISATIE-PROCEDURE.

Met behulp van het minimalisatie programma Minuit 2.0, de laatste versie (1989) van het basisprogramma zoals beschreven door James (1975), wordt een niet-lineaire kleinste kwadraten methode toegepast om χ^2 te minimaliseren, gegeven door:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{n} \frac{1}{s_i^2} [T_i - T_{MODEL}(\rho_{a_i}; N_C A_C E_C, \mu_a, \gamma_a, N_E A_E E_E)]^2 \quad (4.9)$$

waarbij s_i de standaard deviaties zijn op de data punten T_i.
Om een snelle convergentie te bewerkstellingen tijdens de minimalisatieprocedure is het van belang om goede startwaarden in te voeren. Deze waarden vindt men terug wanneer men aan het lineaire begin- en het lineaire einddeel van de T-r relatie respectievelijk de rechten $Y_e = A_E + m_e.X$ (e voor elastine) en $Y_c = A_C + m_c.X$ (c voor collageen) fit. Dan kan men uit de constitutieve vergelijking voor T(r) (bladzijde 47) halen dat een goede startwaarde voor μ_a bepaald kan worden volgens $\mu_a = - A_C / m_c$. Deze waarde komt overeen met de plaats op de T-r kromme met de grootste kromming. Startwaarden voor P_C en P_E kunnen bepaald worden aan de hand van de richtingscoëfficiënten van het lineaire eind en begindeel van de T-r curve als volgt: $P_E = m_e/\ln(b/a)$ met a en b de binnen en buitenstraal van het bloedvat en $P_C = (m_c/\ln(b/a) - P_E).\mu_a/a$. In regel geldt dat de parameter γ_a goed geschat wordt wanneer men stelt dat $\gamma_a = \mu_a/100$. In vele gevallen wordt steeds een reeks van berekeningen uitgevoerd op talrijke gelijkaardige metingen. De batch-job en de minimalisatie procedure werd zo geschreven dat de eind-waarden van de vorige berekening de start-waarden zijn voor de berekening van een nieuwe T-r relatie. Dit verkort aanzienlijk de rekentijd, en maakt dat de schatting van de parameters slechts bij de eerste berekening van een reeks metingen van belang is.

De lengte van minimalisatieprocedures schommelt van ongeveer 25 tot 100 minuten per T-r kromme van 50 punten, afhankelijk van de grootte van γ_a, die de breedte van de Lorentz verdeling bepaalt, en dus de lengte van de numerieke integratie beïnvloedt.

Voor elke parameter geeft het minimalisatiepakket na convergentie een fout op, welke een maat is voor de onzekerheid betreffende de eenduidige bepaling van de parameter. Voor 50 T-r relaties werd nagegaan hoe groot de gemiddelde relatieve fout bedraagt door de fout opgegeven door Minuit te delen door de parameter zelf. Dit geeft voor P_C een relatieve fout van 2.8 % voor 50 P_C waarden, wat een bevredigende fout oplevert. De relatieve fout op P_E bedraagt 13.1 % wat erop wijst dat deze parameter minder eenduidig gedetermineerd wordt door het minimalisatieprogramma. De parameter μ_a heeft een veel kleinere onzekerheid, want de gemiddelde relatieve fout voor 50 waarden bedraagt 0.21 %. De vierde modelparameter γ_a is weer iets minder eenduidig bepaald door Minuit, aangezien de waarde voor de relatieve fout voor 50 T-r relaties gegeven wordt als 7.9 %. Alhoewel deze fouten weergeven wat de onzekerheid is van de parameters, kan eveneens informatie gehaald worden uit de variabiliteit van de parameters bij opeenvolgende metingen die genomen zijn onder dezelfde omstandigheden. Dit is niet mogelijk voor de metingen van G. Langewouters, maar wel mogelijk wanneer we zelf de experimenten uitvoeren. Hieruit blijkt dat wanneer een reeks van 10 opeenvolgende T-r curven opgenomen worden, de relatieve fouten op de 4 modelparameters herleid worden tot P_C : 3.0 %, de relatieve fout voor P_E : 4.0 %, voor μ_a : 0.41 en voor γ_a : 2.8 %. Dit houdt een verbetering in voor P_E terwijl de andere onzekerheden status quo blijven.
Een grotere factor van onzekerheid wordt opgeroepen door de "biologische spreiding" die tot uiting komt wanneer men metingen van verschillende maar vergelijkbare bloedvaten met elkaar vergelijkt. De fouten die hier ontstaan fluctueren rond 10 %, en zijn eerder het gevolg van de biologische diversiteit dan van onnauwkeurige meetmethoden.

4.5 RESULTATEN VAN DE TOEPASSING VAN HET MODEL OP DE EXPERIMENTELE GEGEVENS VAN LANGEWOUTERS.

Eens het model, na diverse ingrepen uitgevoerd te hebben, optimaal functioneerde om druk-volume of spanning-straal metingen te fitten, leende het zich ertoe om toegepast te worden op de metingen van Langewouters om na te gaan wat de invloed is van de leeftijd op de stijfheid van menselijke aorta's, en de resultaten te vergelijken met de oorspronkelijk resultaten bekomen door Langewouters zelf. In figuur 3.6 en de omslag

werd reeds geïllustreerd hoe ("goed") de aanpassing van de experimentele data aan het model eruitziet.

In tabel 4.1 tot 4.4 zijn voor al de thoracale en abdominale aorta's expliciet de parameters weergegeven welke bekomen werden uit de minimalisatieprocedure Minuit, samen met nog additionele gegevens betreffende de geometrie en morfologie van de individuele aorta's.

Legende voor tabel 1 en 3:

Kolom 1. bevat de nummer [Nr] van de meting, zoals door Langewouters ingevoerd.

Kolom 2. bevat de leeftijd [AGE] van de donor-patiënten bij overlijden.

Kolom 3. geeft het geslacht [S] weer voor de thoracale aorta's. Voor de abdominale aorta's waren geen gegevens hieromtrent voorhanden.

Kolom 4. geeft de mate van atherosclerose [AT] weer in het geval van de thoracale aorta's. M = matige ath., E= ernstige ath.

Kolom 5. geeft de eerste minimalisatie parameter $P_C = N_C A_C E_C$.

Kolom 6 en 7. bevatten de 2 parameters μ_a, zijnde de gemiddelde lengte van de collageen vezels, en γ_a, zijnde de volledige breedte bij halve hoogte, beide behorend bij de Lorentz distributie functie voor de verdeling van de lengtes van de collageenvezels op het binnenste ringetje.

Kolom 8. bevat de vierde model-parameter $P_E = N_E A_E E_E$.

Kolom 9. geeft de waarde van χ^2 van de aanpassing. Het aantal vrijheidsgraden is 46 (=50 punten - 4 parameters).

Kolom 10. bevat de absolute waarde van de Young modulus van de collageenvezels, na in rekening brengen van de hoeveelheid collageen in de wand.

Kolom 11. bevat de absolute waarde van de Young modulus van de elastinevezels, na in rekening brengen van de hoeveelheid elastine in de wand.

Legende voor tabel 2 en 4:

Kolom 1. bevat de nummer [Nr] van de meting, zoals door Langewouters ingevoerd.

Kolom 2. tot 4. bevat de parameters Am, p0 en p1, bepaald door Langewouters, welke

door ons gebruikt werden om de lumen-druk curve te reconstrueren.

Kolom 5. en 6. bevat het volume van de wand en de externe diameter van het bloedvat bij 13.3 kPa (=100 mmHg).

Kolom 7 tot 10. bevat de hoeveelheid vetten [TL] in % drooggewicht, calcium [CA], elastine [EL] en collageen [CO] in % ontvet drooggewicht.

Kolom 11 en 12 geeft de binnendiameter en de wanddikte, bij overdruk = 0, berekend aan de hand van de door Langewouters opgegeven parameters.

Kolom 13. bevat de hoeveelheid rek $\epsilon\mu$, nodig om het bloedvat op te blazen totdat de collageenvezels een lengte μ_a bereikt hebben.

Kolom 14. geeft de druk $P(\mu_a)$ waarbij deze lengte μ_a bereikt wordt.

TABEL 4.1. THORACALE AORTA'S. MODEL-PARAMETERS.

Nr	AGE jaar	S	AT	P_C Pa	μ_s cm	γ_s cm	P_E Pa	χ^2	E_C Pa	E_E Pa
1	30	V	M	4.53E+06	0.9363	1.00E-02	1.27E+05	34.1	7.97E+07	1.39E+06
3	45	M	M	9.65E+06	1.1050	1.48E-02	1.18E+05	42.2	2.31E+08	1.62E+06
4	45	V	M	9.90E+06	1.0400	1.96E-02	1.29E+05	26.1	2.01E+08	1.61E+06
5	46	V	M	9.07E+06	0.9169	1.64E-02	1.23E+05	24.0	1.90E+08	1.59E+06
6	47	M	M	8.43E+06	1.2100	2.94E-02	1.48E+05	19.3	1.76E+08	1.90E+06
7	50	V	M	6.28E+06	1.0910	2.19E-02	1.34E+05	23.7	1.31E+08	2.08E+06
8	50	V	E	1.43E+07	0.9862	1.22E-02	1.07E+05	38.8	1.84E+08	1.13E+06
9	50	V	M	1.56E+07	1.0930	1.13E-02	1.03E+05	53.2	1.90E+08	1.31E+06
10	53	M	M	1.12E+07	1.2480	2.05E-02	1.22E+05	31.7	2.66E+08	1.64E+06
11	54	M	M	1.59E+07	1.0360	1.04E-02	1.01E+05	51.9	3.15E+08	2.09E+06
12	56	M	M	1.31E+07	1.0920	1.44E-02	1.12E+05	40.4	2.16E+08	1.54E+06
13	57	M	E	1.48E+07	1.2070	9.61E-03	1.00E+05	61.6	2.48E+08	1.40E+06
14	57	V	M	1.92E+07	0.8927	6.44E-03	9.32E+04	62.4	4.86E+08	1.10E+06
15	58	M	M	1.56E+07	1.2490	1.65E-02	1.10E+05	39.8	2.61E+08	1.54E+06
16	59	V	M	2.03E+07	1.1070	1.05E-02	9.64E+04	54.3	5.14E+08	1.48E+06
17	60	M	M	1.55E+07	1.1750	1.11E-02	9.92E+04	48.4	1.59E+08	1.73E+06
18	63	V	M	1.04E+07	1.1920	2.14E-02	1.25E+05	26.8	2.99E+08	1.73E+06
19	64	V	M	2.01E+07	1.0900	1.25E-02	1.01E+05	40.4	2.28E+08	1.82E+06
20	65	M	E	1.44E+07	1.2610	1.29E-02	1.02E+05	47.0	2.35E+08	1.63E+06
21	66	V	E	2.82E+07	1.0970	7.78E-03	8.53E+04	64.7	5.95E+08	1.24E+06
22	66	M	M	1.86E+07	1.2240	1.23E-02	9.85E+04	50.3	3.53E+08	1.48E+06
23	66	M	M	1.68E+07	1.4260	1.73E-02	1.05E+05	42.8	3.60E+08	1.56E+06
24	66	V	E	1.97E+07	1.1470	1.08E-02	9.56E+04	50.1	3.19E+08	1.51E+06
25	68	V	M	1.24E+07	1.0820	1.54E-02	1.12E+05	31.8	2.02E+08	1.79E+06
26	68	M	M	3.55E+07	1.1210	7.17E-03	7.84E+04	62.9	6.18E+08	1.60E+06
27	71	M	E	2.02E+07	1.3350	1.34E-02	9.72E+04	49.8	4.38E+08	1.90E+06
28	71	M	E	3.82E+07	1.3190	6.10E-03	7.82E+04	86.5	7.77E+08	1.34E+06
29	72	V	M	2.65E+07	1.0730	8.20E-03	8.74E+04	61.0	6.59E+08	1.22E+06
30	72	M	E	2.11E+07	1.2850	1.42E-02	9.84E+04	35.2	4.47E+08	1.75E+06
31	73	M	E	2.14E+07	1.1830	1.10E-02	9.36E+04	47.2	4.19E+08	2.02E+06
32	75	V	E	4.18E+07	1.1620	6.37E-03	8.01E+04	126.2	8.44E+08	1.36E+06
34	76	V	M	1.87E+07	1.0030	1.29E-02	1.07E+05	24.1	3.28E+08	1.82E+06
35	76	V	E	2.67E+07	1.0890	8.77E-03	8.72E+04	51.4	5.34E+08	1.21E+06
36	79	M	E	2.98E+07	1.3500	1.19E-02	8.89E+04	34.4	7.92E+08	1.51E+06
37	80	V	E	3.67E+07	1.0810	9.34E-03	1.04E+05	19.8	6.68E+08	1.08E+06
38	81	M	E	4.01E+07	1.5470	1.14E-02	7.54E+04	57.0	7.02E+08	1.35E+06
39	82	V	E	3.33E+07	1.1940	1.20E-02	1.29E+05	13.4	6.24E+08	1.96E+06
40	85	M	M	5.60E+07	1.3210	7.09E-03	6.00E+04	73.6	1.16E+09	8.38E+05
41	85	M	M	2.08E+07	1.1270	1.04E-02	9.38E+04	44.9	4.38E+08	1.46E+06
42	87	M	E	2.96E+07	1.2520	9.08E-03	8.48E+04	42.2	6.26E+08	1.32E+06
43	87	M	E	5.57E+07	1.3420	6.02E-03	6.34E+04	77.9	1.54E+09	1.23E+06
44	88	V	M	2.01E+07	1.1890	1.65E-02	1.15E+05	20.1	5.03E+08	2.74E+06
45	88	M	E	2.90E+07	1.3780	1.38E-02	9.25E+04	35.1	7.07E+08	1.36E+06

TABEL 4.2. THORACALE AORTA'S. GEOMETRISCHE EN MORFOLOGISCHE GEGEVENS.

Nr	Am cm2	p0 kPa	p1 kPa	V_w cm3	D_o cm	TL %DW	CA %DFFW	EL %DFFW	CO %DFFW	a cm	H cm	ϵ_μ %	$P(\mu_o)$ kPa
1	3.54	6.90	5.95	8.90	2.2	5.8	2.2	32.9	20.6	0.505	0.281	85.4	14.00
3	4.59	4.87	4.80	10.00	2.5	5.2	5.6	27.2	15.6	0.602	0.230	83.6	13.32
4	4.02	3.69	5.29	8.74	2.3	5.5	3.7	29.3	18.0	0.626	0.195	66.2	13.71
5	3.13	3.32	5.47	10.11	2.2	8.2	3.7	29.3	18.0	0.570	0.232	60.8	13.55
6	5.52	4.23	5.92	9.20	2.6	8.0	3.7	29.3	18.0	0.729	0.187	65.9	14.47
7	4.61	5.13	6.09	11.68	2.5	7.8	2.2	23.9	17.7	0.638	0.250	71.1	14.17
8	3.51	2.71	4.28	10.58	2.3	7.7	2.9	35.3	28.9	0.598	0.238	64.8	12.64
9	4.32	3.47	3.95	10.34	2.5	6.1	1.7	28.6	29.7	0.610	0.235	79.2	12.49
10	5.74	3.61	4.91	12.23	2.8	6.0	15.2	31.0	17.6	0.733	0.242	70.4	13.43
11	3.87	3.19	3.92	11.08	2.4	7.7	4.6	18.4	19.1	0.590	0.247	75.5	12.34
12	4.35	3.43	4.43	10.07	2.5	8.4	2.7	27.1	22.7	0.634	0.226	72.2	12.92
13	5.31	3.93	3.84	16.12	2.8	8.0	4.6	27.1	22.7	0.645	0.323	87.1	12.22
14	2.84	2.85	3.47	11.04	2.2	4.2	6.9	31.7	14.8	0.504	0.276	77.2	11.73
15	5.61	2.81	4.20	12.53	2.8	9.4	3.1	27.1	22.7	0.747	0.234	67.3	12.82
16	4.34	2.44	3.56	11.80	2.5	9.1	4.6	25.1	15.2	0.653	0.240	69.5	12.05
17	4.97	2.83	3.93	19.71	2.9	13.6	1.9	22.6	38.4	0.691	0.361	70.1	12.13
18	5.25	3.43	5.17	11.97	2.7	5.1	12.5	29.1	14.0	0.724	0.234	64.6	13.60
19	4.18	1.69	3.73	10.97	2.5	11.6	4.4	21.9	34.8	0.696	0.218	56.5	12.37
20	5.76	3.12	4.09	20.11	3.0	11.6	5.7	25.1	24.5	0.733	0.351	72.1	12.36
21	4.17	1.63	2.96	14.23	2.6	9.3	11.8	28.6	19.8	0.672	0.280	63.3	11.42
22	5.33	2.49	3.72	14.66	2.8	4.9	2.7	24.0	19.0	0.728	0.279	68.2	12.16
23	7.27	2.61	4.01	17.50	3.2	9.9	2.2	25.6	17.7	0.856	0.280	66.7	12.63
24	4.65	2.12	3.60	15.62	2.7	12.2	4.1	25.1	24.5	0.700	0.296	64.0	12.00
25	4.26	2.71	4.67	13.62	2.5	11.6	5.7	25.1	24.5	0.672	0.270	61.1	12.90
26	4.28	0.73	2.59	17.38	2.7	26.4	5.7	23.6	27.6	0.749	0.304	49.6	11.13
27	6.3	2.19	3.61	18.36	3.1	16.4	2.5	20.9	18.9	0.810	0.289	64.9	12.10
28	5.97	1.61	2.45	21.75	3.2	13.6	5.1	23.8	20.0	0.774	0.416	70.5	10.64
29	4	1.68	3.08	13.31	2.5	8.6	7.2	28.1	15.8	0.659	0.265	62.8	11.61
30	5.75	0.87	3.61	20.55	3.0	18.8	2.8	23.8	20.0	0.882	0.311	45.7	12.25
31	4.9	1.55	3.47	18.33	2.8	10.0	5.1	18.1	19.9	0.756	0.319	56.5	11.91
32	4.51	-0.17	1.75	12.55	2.7	13.7	4.2	23.8	20.0	0.874	0.201	33.0	9.07
34	3.5	0.28	3.95	14.22	2.4	12.8	5.1	23.8	23.0	0.729	0.258	37.5	12.82
35	4.09	1.03	3.07	16.17	2.6	10.2	7.5	29.0	20.1	0.719	0.297	51.4	11.69
36	6.18	-0.31	2.88	25.89	3.3	16.2	6.5	25.1	16.0	1.025	0.342	31.7	11.93
37	3.88	-1.56	2.47	14.26	2.6	5.6	5.4	36.1	20.5	0.916	0.222	18.0	12.88
38	8.1	0.49	2.52	19.75	3.5	16.8	7.0	24.0	24.6	1.063	0.262	45.5	11.47
39	4.74	-1.92	2.76	16.71	2.8	12.8	6.4	26.8	21.8	1.023	0.230	16.7	13.86
40	5.83	0.24	2.01	15.35	3.0	14.1	5.4	29.4	19.8	0.926	0.232	42.6	10.85
41	4.45	1.44	3.51	19.44	2.8	14.0	5.4	26.4	19.4	0.730	0.342	54.4	11.86
42	5.32	-0.05	2.76	37.89	3.3	14.0	5.4	26.4	19.4	0.926	0.510	35.2	11.54
43	6.01	0.15	1.92	26.70	3.3	27.7	3.4	24.7	17.3	0.954	0.372	40.7	10.46
44	4.89	-0.05	3.93	15.60	2.8	6.8	5.4	15.8	15.1	0.886	0.243	34.2	13.21
45	6.48	0.17	3.08	18.10	3.2	14.1	4.7	27.7	16.7	0.997	0.253	38.2	12.26

TABEL 4.3. ABDOMINALE AORTA'S **MODEL-PARAMETERS.**

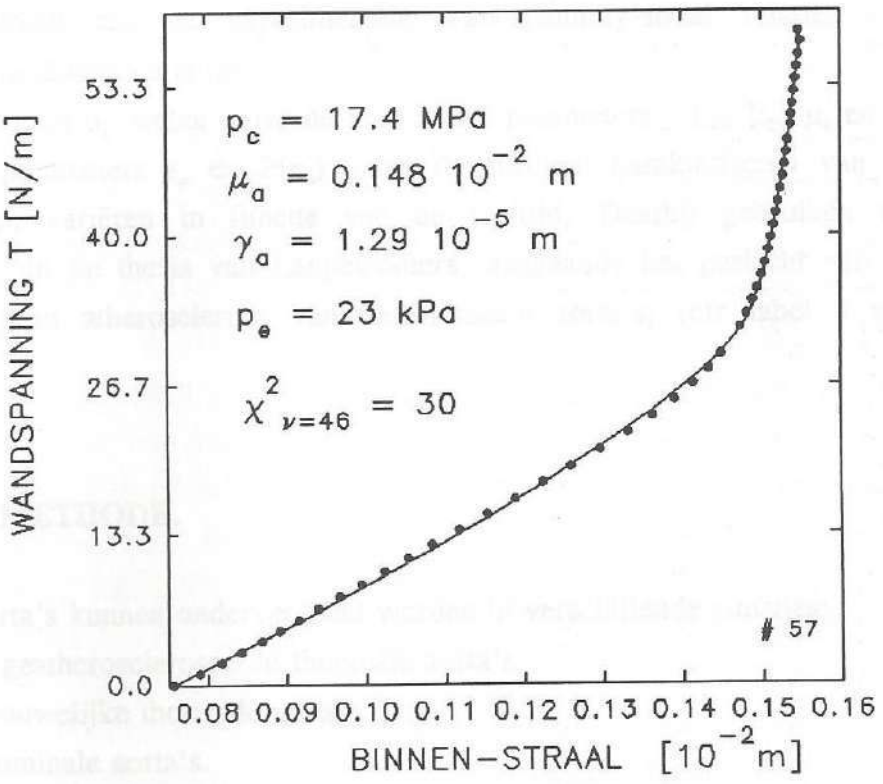
Nr	AGE jaar	P_C Pa	μ_a cm	γ_a cm	P_E Pa	χ^2	E_C Pa	E_E Pa
1	30	8.02E+06	0.6729	4.89E-03	1.09E+05	46.6	1.30E+08	1.11E+06
2	39	1.88E+07	0.9620	9.14E-03	9.82E+04	56.2	2.57E+08	1.82E+06
3	40	1.43E+07	0.6705	7.93E-03	1.05E+05	38.5	2.24E+08	1.45E+06
4	46	2.06E+07	0.6339	5.52E-03	9.30E+04	46.9	3.27E+08	1.31E+06
5	46	3.03E+07	0.8293	5.52E-03	8.35E+04	70.7	4.59E+08	1.12E+06
6	50	1.83E+07	0.7656	8.94E-03	1.01E+05	33.8	2.50E+08	2.07E+06
7	53	3.32E+07	1.0070	7.05E-03	8.08E+04	62.4	3.80E+08	3.28E+06
8	54	1.76E+07	0.7309	8.22E-03	1.00E+05	33.4	3.57E+08	1.24E+06
9	57	2.02E+07	0.5763	5.73E-03	9.63E+04	30.7	2.56E+08	1.86E+06
10	58	2.58E+07	0.8317	8.76E-03	9.82E+04	27.9	2.84E+08	1.81E+06
11	59	1.73E+07	0.6858	9.75E-03	1.18E+05	15.8	2.36E+08	3.19E+06
12	63	2.73E+07	0.9595	9.90E-03	9.55E+04	31.0	3.56E+08	1.19E+06
13	64	2.31E+07	0.6828	6.16E-03	9.17E+04	44.8	2.72E+08	1.31E+06
14	66	3.23E+07	0.7223	4.13E-03	8.16E+04	65.7	4.96E+08	9.66E+05
15	70	3.26E+07	0.8695	7.64E-03	9.08E+04	28.9	4.00E+08	1.76E+06
16	73	2.47E+07	0.7418	7.21E-03	1.23E+05	12.0	3.31E+08	4.16E+06
17	75	2.93E+07	0.7710	8.46E-03	1.73E+05	9.70	3.61E+08	3.38E+06
18	76	1.62E+07	0.6545	1.01E-02	1.44E+05	7.40	2.07E+08	2.63E+06
19	76	2.78E+07	0.7012	7.67E-03	3.09E+05	2.20	2.89E+08	5.34E+06
20	78	3.79E+07	0.7463	6.68E-03	8.92E+04	37.2	5.90E+08	1.54E+06

TABEL 4.4. ABDOMINALE AORTA'S. **GEOMETRISCHE EN MORFOLOGISCHE GEGEVENS.**

Nr	Am cm2	p0 kPa	p1 kPa	V_w cm3	D_a cm	TL %DW	CA %DFFW	EL %DFFW	CO %DFFW	a cm	H cm	ϵ_p %	$P(\mu_a)$ kPa
1	1.73	5.24	4.76	7.89	1.6	9.0	1.5	36.3	22.9	0.360	0.255	87.2	12.86
2	3.3	2.87	3.65	8.62	2.2	7.6	1.5	19.8	26.8	0.550	0.208	74.8	12.18
3	1.62	2.53	4.25	5.66	1.6	13.2	1.5	28.1	24.9	0.412	0.184	62.8	12.52
4	1.41	1.56	3.48	6.92	1.5	14.4	1.5	28.1	24.9	0.405	0.212	56.4	11.75
5	2.38	1.72	2.85	7.62	1.9	10.2	1.5	28.1	24.9	0.498	0.202	66.5	11.29
6	2.06	1.20	3.88	7.67	1.8	4.7	7.2	18.5	27.6	0.515	0.200	48.7	12.40
7	3.47	1.00	2.73	11.43	2.3	11.3	6.4	9.9	35.1	0.655	0.236	53.7	11.38
8	1.88	1.15	3.91	9.00	1.8	10.9	6.8	32.5	19.8	0.495	0.229	47.7	12.29
9	1.15	0.24	3.55	8.14	1.5	4.2	6.8	19.3	29.6	0.419	0.239	37.7	12.07
10	2.36	-0.27	3.24	88.70	1.9	9.4	6.8	21.4	35.8	0.629	0.190	32.3	12.48
11	1.63	-0.59	4.20	7.90	1.7	11.3	6.8	14.9	29.5	0.531	0.200	29.1	13.29
12	3.14	-0.07	3.16	9.98	2.2	11.6	3.9	31.5	30.2	0.712	0.196	34.8	12.42
13	1.62	1.08	3.33	6.70	1.6	11.3	1.7	26.8	32.4	0.454	0.196	50.3	11.81
14	1.79	1.11	2.67	10.12	1.8	20.0	2.8	36.2	27.9	0.462	0.272	56.3	10.93
15	2.54	-0.77	2.72	9.74	2.0	14.6	6.4	21.5	34.1	0.690	0.198	26.1	12.38
16	1.84	-2.49	3.04	17.50	2.1	28.2	4.9	14.5	36.5	0.649	0.338	14.3	13.31
17	1.98	-3.89	3.80	14.74	2.0	17.0	4.4	21.5	34.1	0.689	0.280	11.9	17.16
18	1.47	-2.25	4.48	10.00	1.7	18.4	4.9	23.5	33.7	0.551	0.235	18.8	14.22
19	1.62	-5.37	3.16	10.43	1.8	14.1	4.9	23.6	39.3	0.655	0.217	7.1	16.10
20	1.87	-1.03	3.29	8.41	1.8	17.0	4.0	24.3	26.9	0.596	0.193	25.3	15.05

4.6 BESLUIT BETREFFENDE DE PARAMETER-FITTING AAN DE GEGEVENS VAN LANGEWOUTERS.

Een eerste belangrijk conclusie is dat de aanpassingen met behulp van het model uitermate goed overeenkomen met de experimentele gegevens, zoals blijkt uit de waarden voor χ^2 in de tabellen. Figuur 3.6 illustreert dit eveneens. Een kritiek zou erin kunnen bestaan dat het model zo gemaakt werd dat enkel de metingen van Langewouters erdoor gefit zouden kunnen worden. Daarom toont figuur 4.1 een aanpassing van metingen aan een rat-aorta, opgemeten door Dr. Takeo Matsumoto, verbonden aan de Hokaido Universiteit, Sapporo, in Japan. Deze metingen zijn volstrekt onafhankelijk en losgekoppeld van de metingen zoals deze verricht werden door Langewouters. Ook de macroscopische dimensies en eigenschappen verschillen veel met de aorta's welke Langewouters gebruikt heeft, aangezien immers een menselijke aorta bijna een factor 10 groter is dan een rat-aorta en de wandsamenstelling zeker niet dezelfde verhoudingen vertoont. Later in dit werk worden ook metingen die door ons zelf uitgevoerd werden, gefit door het 2-componenten model. Dit om aan te tonen dat het model algemeen gebruikt kan worden, voor diverse typen bloedvaten, en gemeten door diverse onderzoekers.



Figuur 4.1 : Experimenteel bepaalde wandspanning-straal curve van de aorta van een normotensieve rat (•) en aanpassing met het 2-componenten model (-). (gegevens Dr. T. Matsumoto, persoonlijke correspondentie)

Een tweede belangrijke conclusie is dat de absolute waarde van de Young Moduli voor collageen in het gebied ligt dat in de literatuur opgegeven wordt als Young modulus van collageen. Een echte vergelijking is echter zeer moeilijk aangezien de bepaling van de stijfheid van collageen in de literatuur niet gebeurt zoals in het hier beschreven model.
De Young modulus van elastine zoals berekend door het model aan de hand van de experimentele spanning-straal kurven, komt eveneens zeer goed overeen met de door de literatuur opgegeven waarden voor de Young moduli van elastine. De vergelijking is hier eenvoudiger aangezien elastine een lineair elastisch materiaal is.

Hoe de evolutie van de stijfheid is in functie van de ouderdom, wordt in een volgend hoofdstuk beschreven.

Hoofdstuk 5.

Invloed van de leeftijd op de stijfheid van menselijke thoracale en abdominale aorta's. Statistische behandeling van de model-parameters.

5.1 INLEIDING.

In het vorig hoofdstuk hebben we de resultaten weergegeven, bekomen door het fitten van het 2-componenten model aan de experimentele wandspanning-straal relaties van menselijke thoracale en abdominale aorta's.
In dit hoofdstuk gaan we na op welke wijze de vier model-parameters - E_C, E_E, μ_s en γ_s en de twee afgeleide parameters ϵ_μ en $P(\mu_s)$ - die de stijfheid karakteriseren van de onderzochte bloedvaten, variëren in functie van de leeftijd. Daarbij gebruiken we bijkomende informatie, uit de thesis van Langewouters, aangaande het geslacht van de patiënten en de mate van atherosclerose van de thoracale aorta's; (cfr tabel 3 van hoofdstuk 4).

5.2 STATISTISCHE METHODE.

De gegevens van de aorta's kunnen onderverdeeld worden in verschillende situaties:

1) matig en ernstig geatheroscleroseerde thoracale aorta's.
2) mannelijke en vrouwelijke thoracale aorta's.
3) thoracale en abdominale aorta's.

Vooreerst is het aangewezen om na te gaan in hoeverre met voorgenoemde verschillen dient rekening gehouden te worden, aangezien het samenvoegen van zoveel mogelijk data de beste statistische behandeling mogelijk maakt. Vandaar dat we met behulp van statistische technieken hebben onderzocht of er significante verschillen bestaan tussen de deelgroepen wat betreft de evolutie met de leeftijd van de model-parameters.

5.2.1 Lineaire regressie analyse.

Eerst wordt een lineaire regressie verricht op de parameters van de afzonderlijke steekproeven, telkens in functie van de leeftijd. Om een lineaire regressie (Model I) uit te voeren in een x-y diagram dient voldaan te zijn aan drie voorwaarden:

1) De waarden van de onafhankelijke veranderlijke x zijn vast en hebben een verwaarloosbare meetfout.
2) De verdelingen van y zijn voor alle waarden van x normaal en ze bezitten dezelfde variantie.
3) De regressie van y op x is rechtlijnig, t.t.z. de gemiddelden van alle subpopulaties liggen op dezelfde rechte met vergelijking: $\mu_{yx} = \alpha + \beta x$ waarin μ_{yx} het gemiddelde is van de subpopulatie van y-waarden voor een bepaalde x-waarde, en waarin α en β de populatie regressie-parameters zijn. Voor een bepaalde waarde van x volgt y een normale distributie met gemiddelde μ_{YX} en met variantie σ_{YX}^2.

Niet bij alle onderzochte gevallen zijn deze voorwaarden steeds vervuld, en er zal bijgevolg telkens bij de bespreking vermeld worden dat de resultaten van de lineaire regressie onder voorbehoud dienen geïnterpreteerd te worden.

Voor elke parameter die besproken wordt, zullen de regressie coëfficiënten, afkomstig uit de fitting van de gegevens aan $Y=a+bX$, opgenomen worden in een tabel, samen met bijbehorende gegevens zoals de spreiding (SE, Standard Error) op a en op b, de gemeenschappelijke variantie van de verdelingen van Y : S_{YX}^2 (error mean square), de correlatie-coëfficiënt r, de Student-t waarde voor het testen van de nulhypothese H_0: $\beta=0$, en de onbetrouwbaarheidsdrempel p, overeenkomend met de waarde van de (tweezijdige) t-test voor N-2 vrijheidsgraden. Indien deze waarde kleiner is dan 5%, wordt de nulhypothese verworpen. (Heeft men bv. $t=1.28$ met $N=14$, dan is $p=22\%$, wat betekent dat indien H_0 juist is, er 22% kans is om louter door toeval een t-waarde te vinden van 1.28 of groter. Dus kan H_0 zeker aanvaard worden.)

5.2.2 Covariantie-analyse.

Waar er een significante regressie aanwezig is, die met een Student t-test wordt onderzocht, wordt covariantie-analyse (Snedecor & Cochran, 1967, Creten 1989) gebruikt om de gemiddelden $<Y_j>$ tussen de twee steekproeven te vergelijken met uitschakeling van de gemiddelden $<X_j>$, waarbij j staat voor de steekproef (1,2). De covariantie-analyse test eerst of de varianties van beide steekproeven significant verschillen,

vervolgens of de richtingscoëffiënten verschillen, en tot slot of de intercepten ongelijk zijn. Indien aan de eerste voorwaarde niet voldaan is, ttz de varianties zijn significant verschillend, dan kan men niet verder de covariantie analyse uitvoeren, maar wordt een niet-parametrische toets, nl de Mann-Whitney U-test (Creten 1989), gedaan om na te gaan of beide steekproeven uit dezelfde populatie komen. Zijn de varianties niet significant verschillend, maar wel de richtingscoefficienten dan kan men geen besluiten meer treffen aangaande de intercepten. De tabellen werden steeds opgevuld met alle gegevens en uitkomsten voor de toetsingsgrootheden, ook al verschilden de varianties of de richtingscoefficienten, en er dus verder geen rekening mee gehouden moet worden. Dit voornamelijk om qua vorm een congruent geheel te bekomen.
Uit enerzijds de covariantie-analyse of anderzijds de niet parametrische test kunnen we concluderen of het verantwoord is om beide steekproeven samen te voegen, en een lineaire regressie in functie van de leeftijd op de samengevoegde gegevens uit te voeren.
In tabellen worden per onderzochte parameter de gegevens betreffende de F-waarden opgenomen, met de bijbehorende vrijheidsgraden en de waarschijnlijkheidsdrempel in % voor die F-waarde. Indien er geen significant verschil optreedt ($p>5\%$) tussen de varianties en de richtingscoëfficiënten dan worden de regressie-coëfficiënten van de samengevoegde gegevens eveneens weergegeven. Indien de intercepten verschilden werd voor b de bijbehorende fout geschat door te corrigeren voor dit verschil, en op de totale gegevens de standard deviatie te berekenen, volgens de klassieke methode van lineaire regressie analyse.

Algemene opmerking betreffende de variabiliteit.

Algemeen kan er gesteld worden dat de spreiding op de data toeneemt met stijgende leeftijd. Dit heeft te maken met het biologisch karakter van het onderzochte materiaal. De diversiteit in voeding, leefwijze, ziekte-voorgeschiedenis enz, bij de verschillende donors van de aorta's neemt toe met de leeftijd en dit resulteert in een steeds grotere variabiliteit van de parameters. Waar de varianties te veel afwijken van de normaal verdeling, zullen niet-parametrische toetsen uitgevoerd worden.
De grootheid E_c vertoont in functie van de leeftijd een duidelijke exponentiële tendens. Na logaritmische transformatie bekomen we een redelijk lineair verloop met gelijke varianties over het gehele leeftijdsdomein, vandaar dat we opteren voor deze logaritmische transformatie.

5.3 PARAMETERS TER DISCUSSIE.

Volgende parameters worden besproken onder de verschillende condities van atherosclerose, geslacht en type aorta:

E_C, E_E, γ_a, ϵ_μ en $P(\mu_a)$

In hoofdstuk 3 werd reeds uiteengezet hoe deze parameters werden bekomen en wat hun betekenis is.

De tabellen voor de lineaire regressie bevatten volgende gegevens:

- op de eerste en tweede tekstlijn: tabel nummer, vermelding van de variabele Y en X met in rechte haken [ ], de dimensies en de legende voor wat in de 8ste kolom van de tabel bij "NS ?" vermeld staat, namelijk:
  indien $p < 1\%$: het symbool ++
  indien $1\% < p < 5\%$: het symbool +
  indien $p > 5\%$: de afkorting NS (Niet Significant).
- kolom 1 bevat op de 1ste rij de grootheid Y en op de 2de en 3de rij de attributen van de twee verschillende steekproeven.
- kolom 2 en 3 bevatten de intercept a en de richtingscoëfficiënt b, beide met hun standaard fout (SE). De dimensies van a en b kunnen afgeleid worden uit de gegevens op de tweede tekstlijn bij de tabel.
- kolom 4,5,6 en 7 bevatten respectievelijk de waarde voor de gemeenschappelijke variantie van de verdelingen van Y, de correlatie coëfficiënt r, de t-test waarde voor de hypothese H_o: $\beta=0$, en de bijbehorende waarschijnlijkheidsdrempel in % voor de tweezijdige t-test.
- kolom 9 geeft de grootte van de steekproef.

De tabellen met de resultaten van de covariantie-analyse zijn opgebouwd volgens het volgende schema:

- de tekstlijn bij de tabel geeft naast de tabel-nummer de onafhankelijke en beide afhankelijke variabelen.
- de eerste drie rijen bevatten de gegevens betreffende het toetsen van de hypothesen aangaande de varianties, richtingscoëfficiënten en intercepten, met het aantal vrijheidsgraden, de toetsingsgrootheid die door het symbool F wordt voorgesteld aangezien deze toetsingsgrootheid beantwoordt aan een F-distributie, de overeenkomstige waarschijnlijkheidsdrempel en het al dan niet significant zijn.

- op de laatste twee rijen worden, indien dit toegelaten is volgens de resultaten van de covariantie-analyse, voor de samengevoegde data de waarden van de richtingscoëfficiënt en van de intercept(en) (met hun fouten) berekend. Vervolgens wordt nog nagegaan met een t-toets of de samengevoegde richtingscoëfficiënt significant verschilt van nul; (H_0: $\beta=0$).

5.4 INVLOED VAN MATE VAN ATHEROSCLEROSE OP DE EVOLUTIE VAN DE MODEL-PARAMETERS ifv DE LEEFTIJD, BIJ THORACALE AORTA'S.

5.4.0 Atherosclerose.

Atherosclerose en arteriosclerose zijn termen die vaak afwisselend gebruikt worden. Arteriosclerose wordt gehanteerd om algemeen verharding van arterien aan te duiden, terwijl atherosclerose een meer specifiek begrip is dat verharding van de bloedvatwand indiceert ten gevolge van opstapeling van geelachtige platen (atheroma) bestaande uit cholesterol, lipoiden, etc.. die in de intima en de binnenste media van een bloedvat gevormd worden.
Bij westerse populaties is atherosclerose de voornaamste oorzaak van sterfte. Het ligt aan de basis van de meeste cardiovasculaire ziekten, inclusief hart infarct en cerebrovasculaire insuffficientie.
Langewouters heeft aan elke thoracale aorta het attribuut "matige" of "ernstige" atherosclerose toegekend. Dit maakt dat twee groepen gegevens ontstaan, die met lineaire regressie en covariantie analyse onderzocht kunnen worden om na te gaan of er een verschil optreedt wat betreft de model-parameters, tussen matige en ernstig aangetaste aorta's.

5.4.1 Atherosclerose en E_C i.f.v. de leeftijd.

De evolutie van de Young modulus E_C werd onderzocht bij matig (M.Ath) en ernstig (E.Ath) geatherosclerose erde thoracale aorta's. Er werd een logaritmische transformatie uitgevoerd op E_C, om enerzijds te kunnen vergelijken met de wijze waarop Langewouters de stijfheidsmoduli statistisch behandelt, en anderzijds omdat deze transformatie een

reducerend effect heeft op de spreiding bij toenemende leeftijden.

Tabel 5.4.1.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \log(E_C)$ [log(Pa)] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

log(E_C)	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
M.Ath	7.63 ± 0.15	0.0138 ± 0.0024	0.0276	0.76	5.67	10^{-6}	++	25
E.Ath	7.38 ± 0.23	0.018 ± 0.003	0.0175	0.83	5.85	10^{-5}	++	18

Tabel 5.4.1.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = \log(E_C)^{M.Ath}$, $Y2 = \log(E_C)^{E.Ath}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	16	23	0.635	35.	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	39	1.100	60.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	1.24	54.	NS

samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	0.0160 ± 0.0017	41	9.49	10^{-9}	++
a	7.51 ± 0.11				

Gemiddelden ± SE :

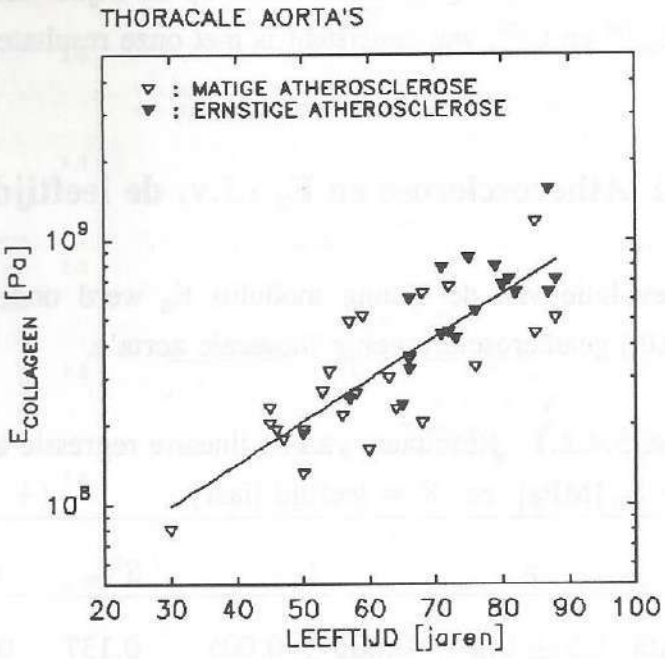
$<E_C>^{M.Ath}$ = (0.34 ± 0.05) GPa en $<E_C>^{E.Ath}$ = (0.59 ± 0.07) GPa.
$<AGE>^{M.Ath}$ = (60.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{E.Ath}$ = (73.7 ± 2.4) jaar.

Bespreking.

De verschillen die optreden tussen de gemiddelden zijn op zich erg logisch, aangezien atherosclerose sterk toeneemt met de leeftijd van de patiënt. De gemiddelden voor de ernstig geatherosclerose erde aorta's liggen dus beduidend hoger dan voor de matig aangetaste aorta's, zowel wat betreft de stijfheidsmodulus van de collageen vezels als de leeftijd. Deze gegevens alleen volstaan evenwel niet om enig verschil in effect van de leeftijd na te gaan op de stijfheidsmodulus van de collageen vezels, bij beide steekproeven. Covariantie analyse is derhalve wel degelijk aangewezen om beide

steekproeven te vergelijken met elkaar.

Uit deze covariantie analyse (tabel 5.4.1.2) volgt dat er geen onderscheid op te merken is tussen de invloed van de leeftijd op de stijfheid van de collageencomponent bij matig en ernstig geatheroscleroseerde thoracale aorta's. De gegevens van beide steekproeven kunnen derhalve samengevoegd worden en dit geeft aanleiding tot de lineaire regressie coëfficiënten a en b zoals vermeld in de tabel onder "samengevoegd". Op de helling b werd een t-toets toegepast om na te gaan of de helling significant verschilde van nul. Dit is inderdaad het geval. Globaal kan men hieruit besluiten dat de collagene vezels in de thoracale aorta op dezelfde wijze reageren op een leeftijdstoename, onafgezien of de aorta al dan niet sterk is aangetast door atherosclerose. Dit betekent dat de stijfheid van de collagene vezels op zichzelf hetzelfde is bij beide aorta types. Atherosclerose laat zich mogelijk bij andere parameters gevoelen. Op figuur 5.1 staat het resultaat van de regressie op de samengevoegde data, waaruit wel kan afgeleid worden dat de collageencomponent in de thoracale aorta behoorlijk toeneemt qua stijfheid met toenemende leeftijd. Hierop komen we nog terug, wanneer meer gegevens behandeld zijn.



Figuur 5.1

Aangezien de gebruikte meetgegevens afkomstig zijn van de metingen van Langewouters (1982), en hij zelf ook statistische testen heeft uitgevoerd op de parameters uit zijn model, op de incrementele modulus en de compliantie, lijkt het ons nuttig om, ondanks de restricties die er bestaan betreffende de door hem gebruikte incrementele modulus, toch melding te maken van de conclusies die hij treft voor dezelfde meetgegevens, althans daar waar vergelijking mogelijk is.

Langewouters concludeerde (1982, p 134) eveneens dat, bij berekening van de incrementele modulus E_{inc} en de compliantie C, beide bij 13.3 kPa (100mmHg), de mate

van atherosclerose geen invloed had op de wijze van veranderen in functie van de leeftijd bij E_{inc}^{100} en C^{100}, wat consistent is met onze resultaten.

5.4.2 Atherosclerose en E_E i.f.v. de leeftijd.

De evolutie van de Young modulus E_E werd onderzocht bij matig (M.Ath) en ernstig (E.Ath) geatheroscleroseerde thoracale aorta's.

Tabel 5.4.2.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = E_E$ [MPa] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

E_E	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
M.Ath	1.5 ± 0.3	0.002 ± 0.005	0.137	0.07	0.34	74.	NS	25
E.Ath	1.4 ± 0.5	0.001 ± 0.007	0.086	0.02	0.08	94.	NS	18

Tabel 5.4.2.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = E_E^{M.Ath}$, $Y2 = E_E^{E.Ath}$

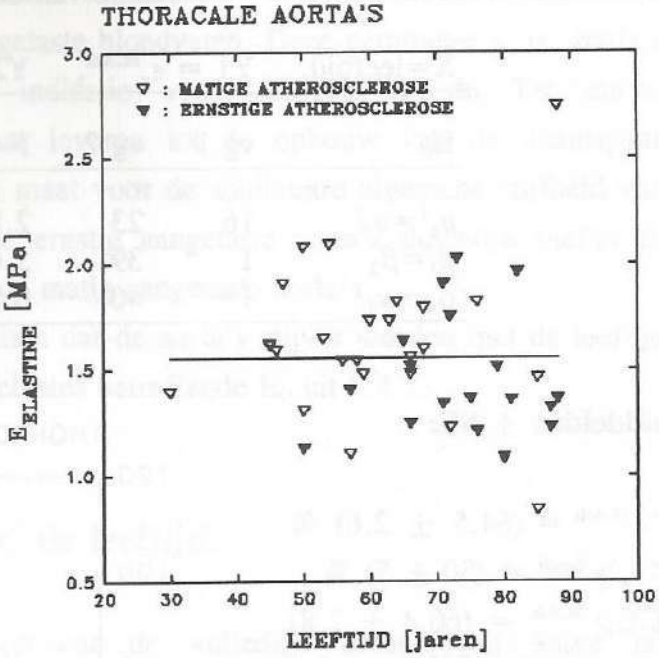
H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	16	23	0.624	33.	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	39	0.0194	22.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	2.468	25.	NS

samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	0.002 ± 0.004	41	0.42	67.	NS
a	1.66 ± 0.25				

Gemiddelden ± SE :

$<E_E>^{M.Ath}$ = (1.63 ± 0.07) MPa en $<E_E>^{E.Ath}$ = (1.46 ± 0.07) MPa.
$<AGE>^{M.Ath}$ = (60.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{E.Ath}$ = (73.7 ± 2.4) jaar.

Bespreking.



Figuur 5.2

Om dezelfde reden als bij het vorige geval dient men covariantie analyse toe te passen. Deze toont aan dat er geen significant verschil optreedt wat betreft de invloed van de leeftijd op de stijfheidsmodulus van de elastine component bij enerzijds matig aangetaste en anderzijds ernstig geatheroscleroseerde thoracale aorta's. Bijgevolg kunnen we beide steekproeven weerom samenvoegen, met als resultaat de regressie parameters zoals vermeld in tabel 5.4.2.2 onder "samengevoegd". Er blijkt geen significante evolutie te zijn van het geheel van de stijfheidsmoduli van de elastine vezels in functie van de leeftijd, (p=67%). Figuur 5.2 visualiseert dat er bij de thoracale aorta's geen effect van de ouderdom waarneembaar is, wat betreft de elastine component.

5.4.3 Atherosclerose en ϵ_μ i.f.v. de leeftijd.

De evolutie van de rek ϵ_μ bij μ_a, wat de hoeveelheid rek vertegenwoordigt waarbij de meeste collageen vezels net hun initiële lengte bereikt hebben, werd onderzocht bij matig (M.Ath) en ernstig (E.Ath) geatheroscleroseerde thoracale aorta's.

Tabel 5.4.3.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \epsilon_\mu$ [%] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

ϵ_μ	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
M.Ath.	110 ± 7	-0.76 ± 0.11	60.	0.81	6.69	10^{-4}	++	25
E.Ath.	155 ± 23	-1.4 ± 0.3	169.	0.76	4.68	0.03	++	18

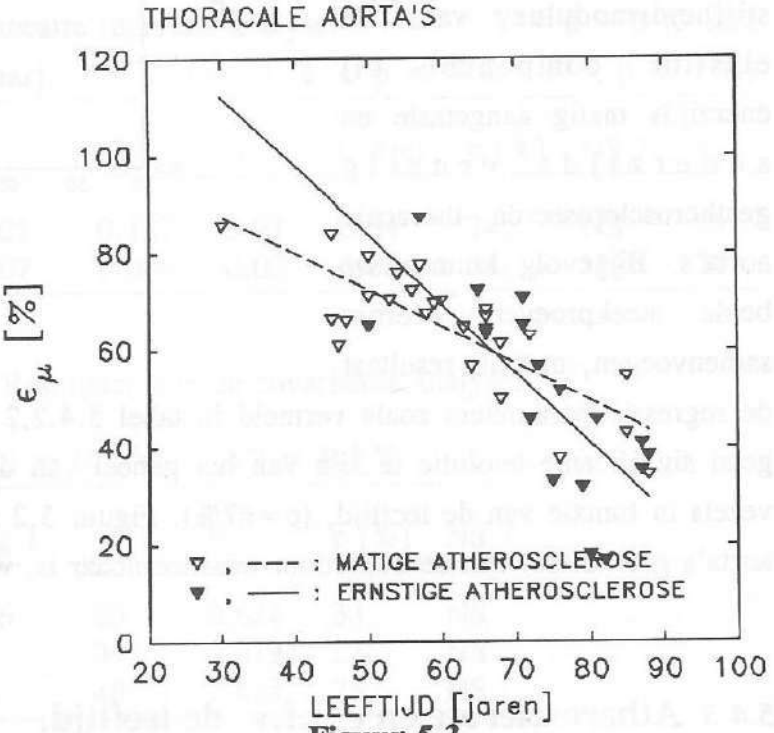
Tabel 5.4.3.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, Y1 = $\epsilon_\mu^{M.Ath}$, Y2 = $\epsilon_\mu^{E.Ath}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	16	23	2.81	2.4	+
$\beta_1=\beta_2$	1	39	5.61	4.6	+
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	0.296	82	NS

Gemiddelden ± SE:

$<\epsilon_\mu>^{M.Ath}$ = (64.5 ± 2.6) % en $<\epsilon_\mu>^{E.Ath}$ = (50 ± 5) %. $<AGE>^{M.Ath}$ = (60.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{E.Ath}$ = (73.7 ± 2.4) jaar.



Figuur 5.3

Bespreking.

Aan de hand van de covariantie analyse (tabel 5.4.3.2) kunnen we besluiten dat de rek verschillende varianties vertoont bij matig en ernstig geatherosclerozeerde thoracale aorta's. Ook de respectievelijke richtings-coëfficiënten zijn significant verschillend. Bijgevolg kunnen beide steekproeven niet samengevoegd worden, maar dienen ze apart bekeken te worden in functie van de leeftijd. Een Mann-Whitney test geeft als resultaat dat de medianen significant verschillen; H_0 : $\mu_1=\mu_2$; $t_s=2.585$, p=1.02%, maar aangezien ook de gemiddelde leeftijden verschillen, en er een duidelijke regressie optreedt voor beide steekproeven, dienen we dit laatste resultaat onder voorbehoud te interpreteren. Alleszins kunnen we vaststellen, zoals ook in figuur 5.3 is weergegeven, dat de richtingscoëfficiënt voor de relatie tussen leeftijd en de rek van de ernstig geatheroscleroseerde aorta's beduidend hoger is (met een factor 2) dan bij de matig aangetaste aorta's. Of anders geformuleerd, de rek waarbij het ernstig aangetaste

bloedvat werkzaam is, wordt sneller kleiner voor eenzelfde leeftijdstoename in vergelijking met de slechts matig aangetaste bloedvaten. Deze parameter ϵ_μ is, zoals reeds uiteengezet in hoofdstuk 3, een indicatie van wanneer op de T-r curve de collageencomponent een bijdrage gaat leveren tot de opbouw van de wandspanning. Dientengevolge is deze grootheid een maat voor de schijnbare algemene stijfheid van het bloedvatsegment. Hieruit volgt dat de ernstig aangetaste aorta's duidelijk sneller stijver worden in functie van de leeftijd dan de matig aangetaste aorta's.
Globaal kan men daarnaast ook besluiten dat de aorta's stijver worden met de leeftijd, en dit is in overeenstemming met de conclusies betreffende E_C uit 5.4.1.

5.4.4 Atherosclerose en γ_a i.f.v. de leeftijd.

De evolutie van de grootheid γ_a, wat de volledige breedte bij halve hoogte vertegenwoordigt van de Lorentz distributie functie van de collageen vezels op het binnenste ringetje, werd onderzocht bij matig (M.Ath) en ernstig (E.Ath) geatheroscleroseerde thoracale aorta's.

Tabel 5.4.4.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \gamma_a$ [cm] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

γ_a	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
M.Ath	0.022 ± 0.005	-1.2e-4 ± 0.8e-4	2.8e-5	0.31	1.55	13.	NS	25
E.Ath	0.012 ± 0.005	-3.e-5 ± 6.e-5	7.3e-6	0.11	0.45	65.	NS	18

Tabel 5.4.4.2 Resultaten van de covariantie analyse.

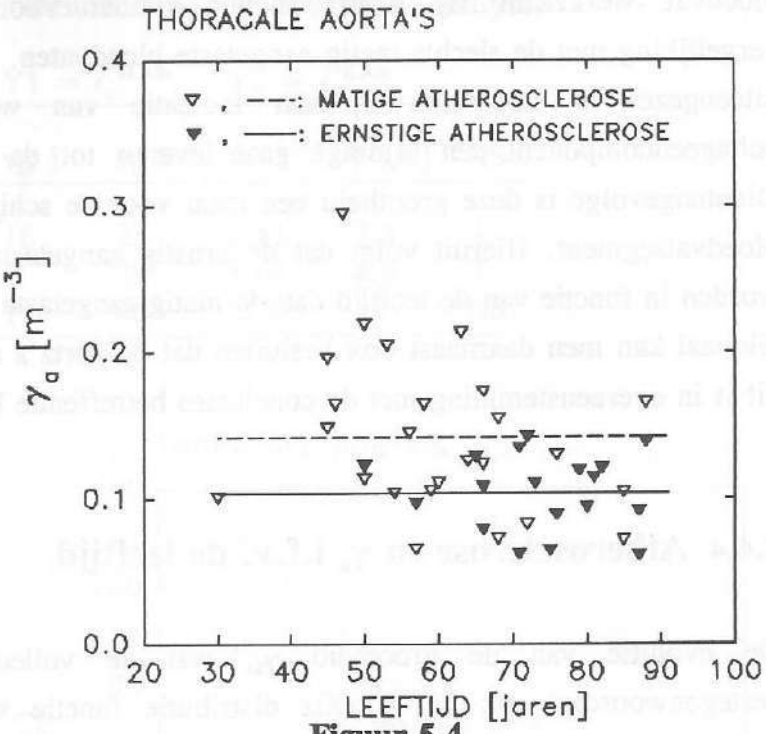
X=leeftijd, $Y1 = \gamma_a^{M.Ath}$, $Y2 = \gamma_a^{E.Ath}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	16	23	0.256	0.7	++
$\beta_1=\beta_2$	1	39	0.561	100.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	2.728	0.2	++

Gemiddelden ± SE :

$<\gamma_a>^{M.Ath}$ = (0.0142 ± 0.0011) cm en $<\gamma_a>^{E.Ath}$ = (0.0104 ± 0.0006) cm.

$<AGE>^{M.Ath}$ = (60.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{E.Ath}$ = (73.7 ± 2.4) jaar.



Figuur 5.4

Bespreking.

De covariantie analyse (tabel 5.4.4.2) toont aan dat de varianties van beide typen thoracale aorta's beduidend verschillen. Een Mann-Whitney niet parametrische toets geeft als resultaat dat de medianen significant verschillen (ts=2.437, p=1.54%). Uit de regressie analyse kunnen we besluiten dat er geen evolutie optreedt van de grootheid γ_a in functie van de leeftijd, noch bij matig noch bij ernstig geatheroscleroseerde aorta's. Daarnaast kunnen we tevens vaststellen dat de mediaan van γ_a voor de ernstig aangetaste thoracale aorta's beduidend lager is dan deze voor de matig aangetaste aorta's. Op figuur 5.4 is dit gevisualiseerd.
De grootheid γ_a is een maat voor de interactie tussen de verschillende collageen vezels op het binnenste ringetje in het bloedvat. Is deze grootheid klein dan betekent dit dat de collageen vezels, snel hun toestand bereiken waarbij ze op hun initiële lengte zijn, en met andere woorden dat ze weinig voorbij elkaar kunnen schuiven, binnen een bundel. Dat maakt dat deze grootheid γ_a eveneens een maat is voor de stijfheid van een bundel collageen vezels, zonder dat de intrinsieke stijfheid van de vezels zelf in rekening hoeft gebracht te worden. Dat bij de ernstig aangetaste bloedvaten deze waarde kleiner is dan bij de matig aangetaste aorta's betekent derhalve dat de ernstig aangetaste aorta's stijver zijn dan de matig aangetaste.

5.4.5 Atherosclerose en $P(\mu_a)$ i.f.v. de leeftijd.

De evolutie van de druk $P(\mu_a)$, die kan geïnterpreteerd worden als de overgangs druk waar het bloedvat van een soepel regime overgaat in een stijf regime, werd onderzocht bij matig (M.Ath) en ernstig (E.Ath) geatheroscleroseerde thoracale aorta's.

Tabel 5.4.5.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = P(\mu_a)$ [Pa] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

$P(\mu_a)$	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
M.Ath	15200 ± 700	-40 ± 11	5.8e+5	0.61	3.65	0.13	++	25
E.Ath	12800 ± 1800	-14 ± 25	1.1e+6	0.14	0.56	58.	NS	18

Tabel 5.4.5.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = P(\mu_a)^{M.Ath}$, $Y2 = P(\mu_a)^{E.Ath}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	16	23	1.934	15.	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	39	1.155	58.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	2.328	27.	NS

samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	- 41 ± 10	41	4.12	0.02	++
a	15100 ± 700				

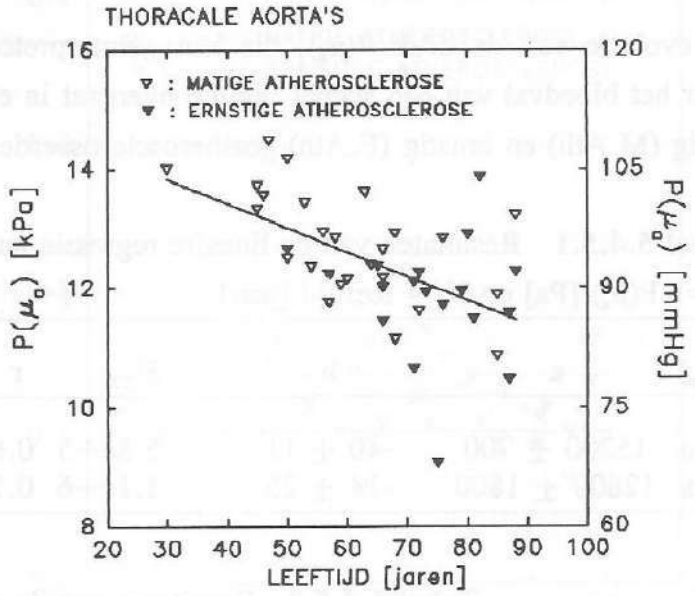
Gemiddelden ± SE :

$<P(\mu_a)>^{M.Ath}$ = (12740 ± 190) Pa en $<P(\mu_a)>^{E.Ath}$ = (11830 ± 240) Pa. $<AGE>^{M.Ath}$ = (60.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{E.Ath}$ = (73.7 ± 2.4) jaar.

Bespreking.

Covariantie analyse (tabel 5.4.5.2) geeft weer dat er geen verschil is tussen beide steekproeven, en dat ze dus kunnen samengevoegd worden om als een geheel onderzocht te worden naar het effect van de leeftijd op de operationele druk. Dit resulteert dan in de

regressie-coëfficiënten zoals vermeld onder "samengevoegd" in tabel 5.4.5.2. Een t-test bevestigt wat reeds blijkt uit figuur 5.5, namelijk dat de helling significant verschilt van nul. Het afnemen met de leeftijd van de operationele druk wijst erop dat het bloedvat bij steeds kleinere drukken in de toestand geraakt waarin de collageen-vezels hun initiële lengte bereiken. Voorbij deze lengte gedraagt het bloedvat zich veel stijver aangezien het elastisch gedrag vanaf daar veeleer bepaald wordt door de collagene component dan door de elastine component. Derhalve zal het bloedvat in zijn geheel stijver lijken, wanneer de operationele druk $P(\mu_o)$ lager is dan wanneer hij hoger is. Dit betekent dat, bij oudere patiënten, voor eenzelfde opgelegde druk door het hart voortgebracht, de bloedvaten in een mechanisch stijver gebied opereren. Deze minder elastische respons op een drukgolf zal resulteren in een hogere pulsdruk (verschil tussen systole en diastole bloeddruk) bij deze patiënten. Dit is effectief wat er geconstateerd wordt. Tevens vindt men in de literatuur (Bates, 1987) dat bij atherosclerose en veroudering, een verhoogde pulsdruk optreedt, t.g.v. verhoogde stijfheid van de aortawand.



Figuur 5.5

5.4.6 Besluit betreffende atherosclerose en de model parameters.

Voor de thoracale aorta kunnen de gegevens aangaande E_C, E_E, en $P(\mu_o)$ samengevoegd worden onafgezien van de mate van atherosclerose, daar de covariantie-analyses erop wijzen dat er geen significant onderscheid waar te nemen is tussen matige en ernstige atherosclerose betreffende het effect van de leeftijd op deze 4 parameters. Voor ϵ_μ en γ_o dient men wel onderscheid te maken, en kunnen in principe niet alle thoracale gegevens samengevoegd worden.

5.5 INVLOED VAN GESLACHT OP DE EVOLUTIE VAN DE MODEL-PARAMETERS ifv DE LEEFTIJD.

Er werd bij de 43 thoracale aorta's nagegaan of er een verschil te constateren was ten gevolge van een verschil in sex. Regressie analyse en covariantie analyse werd daarom toegepast op de gegevens.

5.5.1 Invloed van geslacht en de evolutie van E_C ifv de leeftijd.

De modelparameter E_C wordt nu onderzocht naar invloed van het geslacht op de evolutie met de leeftijd.

Tabel 5.5.1.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \log(E_C)$ [log(Pa)] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

log(E_C)	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Man	7.48 ± 0.21	0.0166 ± 0.0023	0.021	0.84	7.08	10^{-4}	++	23
Vrouw	7.55 ± 0.17	0.0152 ± 0.0026	0.029	0.81	5.78	10^{-3}	++	20

Tabel 5.5.1.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = \log(E_C)^{MAN}$, $Y2 = \log(E_C)^{VROUW}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	21	1.348	51.	NS
b1=b2	1	39	0.154	61.	NS
a1=a2	1	40	0.196	68.	NS

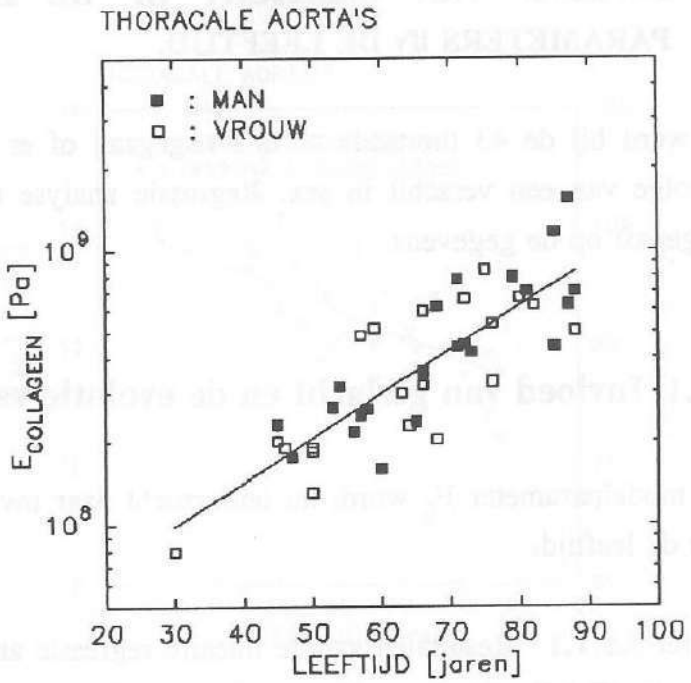
samengevoegd	vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b 0.0160 ± 0.0017	43	9.49	10^{-10}	++
a 7.51 ± 0.11				

Gemiddelden ± SE:

$<E_C>^{MAN}$ = (0.50 ± 0.07) GPa en $<E_C>^{VROUW}$ = (0.39 ± 0.05) GPa.
$<AGE>^{MAN}$=(68.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{VROUW}$=(63 ± 3) jaar.

Bespreking.

Deze analyse toont aan dat er geen onderscheid te maken valt tussen de mannelijke en vrouwelijke thoracale aorta's. Bijgevolg kunnen deze gegevens samengevoegd worden. De regressie coëfficiënten zijn weergegeven in tabel 5.5.1.2 onder samengevoegd. Figuur 5.6 weerspiegelt de resultaten.
Ook Langewouters heeft geen onderscheid kunnen vaststellen tussen mannelijke en vrouwelijke thoracale aorta's bij onderzoek van E_{inc}.



Figuur 5.6

5.5.2 Invloed van geslacht en de evolutie van E_E ifv de leeftijd.

Tabel 5.5.2.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b X$ met $Y = E_E$ [MPa] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

E_E	a	b	S^2_{YX}	r	t: β=0	p [%]	NS ?	n
Man	2.21 ± 0.24	-9000 ± 3000	0.05	0.52	2.67	1.5	+	22
Vrouw	1.5 ± 0.3	300 ± 5000	0.21	0.013	0.057	96	NS	19

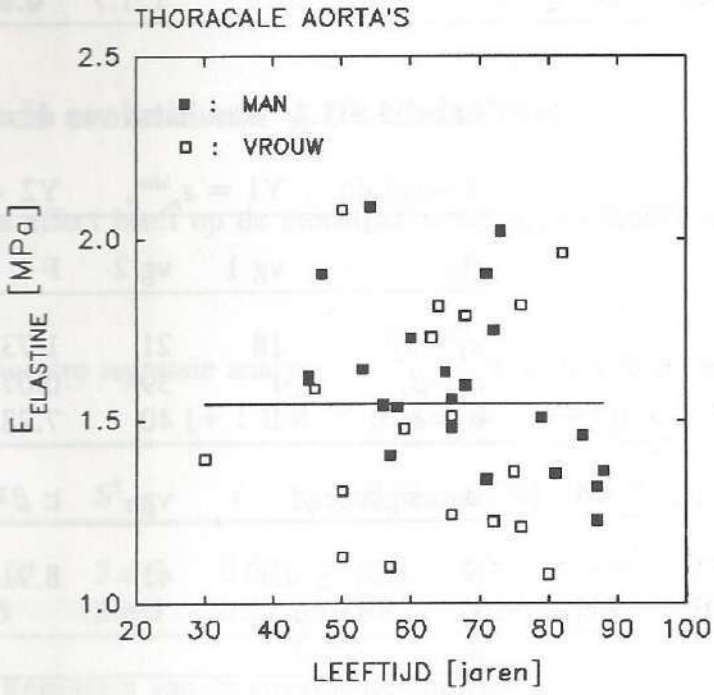
Tabel 5.5.2.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd,		Y1 = E_E^{Man},		Y2 = E_E^{Vrouw}
H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	17	20	2.358	6.9	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	37	2.309	27	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	38	1.984	33	NS

samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	-4000 ± 3000	39	1.128	27	NS
a	1.77 ± 0.21				

Gemiddelden ± SE:

$<E_E>^{MAN}$ = (1.59 ± 0.05) MPa en $<E_E>^{VROUW}$ = (1.50 ± 0.07) MPa.
$<AGE>^{MAN}$ = (67.7 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{VROUW}$ = (62 ± 3) jaar.



Figuur 5.7

Bespreking.

De covariantie gegevens (tabel 5.5.2.2) wijzen uit dat er geen onderscheid waarneembaar is tussen de mannen en de vrouwen betreffende de evolutie met de leeftijd van E_E. Er is hoegenaamd geen evolutie want de richtingscoëfficiënt b is niet significant verschillend van nul, zoals ook op figuur 5.7 te zien is.

Er werden twee uitbijters weggelaten onder de gegevens, wat verantwoord was volgens een test van Doornbos (De Jonge, 1964). Deze test geeft een maat van hoe ver een waarde buiten het gemiddelde van de steekproef mag liggen om nog beschouwd te kunnen worden van dezelfde steekproef.

5.5.3 Invloed van geslacht en de evolutie van ϵ_μ ifv de leeftijd.

Hier wordt nagegaan wat de invloed is van het geslacht op de afgeleide modelparameter ϵ_μ in functie van de ouderdom.

Tabel 5.5.3.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \epsilon_\mu$ [%] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

ϵ_μ	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Man	128. ± 10.	-1.00 ± 0.14	75.99	0.84	7.17	10^{-5}	++	23
Vrouw	124. ± 12.	-1.07 ± 0.18	131.7	0.82	5.97	10^{-3}	++	20

Tabel 5.5.3.2 Resultaten van de covariantie analyse.

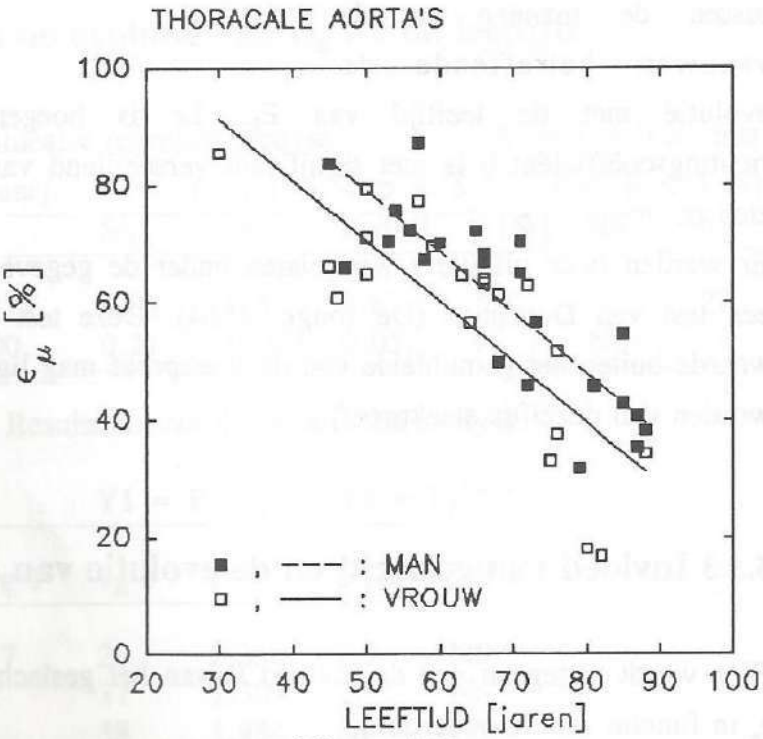
X=leeftijd, $Y1 = \epsilon_\mu^{Man}$, $Y2 = \epsilon_\mu^{Vrouw}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	21	1.733	23.	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	39	0.074	43.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	7.28	2.03	+
samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	-1.04 ± 0.11	41	8.91	10^{-9}	++
a_1	130.6				
a_2	122.3				

Gemiddelden ± SE:

$<\epsilon_\mu>^{MAN}$ = (60 ± 3) % en $<\epsilon_\mu>^{VROUW}$ = (57 ± 4) %

$<AGE>^{MAN}$=(68.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{VROUW}$=(63 ± 3) jaar.



Figuur 5.8

Bespreking.

Covariantie analyse geeft als resultaat dat bij mannen zowel als bij vrouwen de grootheid ϵ_μ op dezelfde wijze verandert

met de leeftijd, en eveneens dat er een klein verschil is tussen de gemiddelden, en dus de intercepten van beide steekproeven, zoals blijkt uit figuur 5.8. Dit verschil wijst erop dat bij mannen de thoracale aorta's iets soepeler lijken dan bij vrouwen aangezien de rek ϵ_μ kleiner is bij deze laatsten. Globaal is ook hier de algemene toename van stijfheid van de thoracale aorta's waar te nemen in functie van de ouderdom.

5.5.4 Invloed van geslacht en de evolutie van γ_a ifv de leeftijd.

Er wordt onderzocht of het geslacht effect heeft op de modelparameter γ_a, in functie van de leeftijd.

Tabel 5.5.4.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \gamma_a$ [cm] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

γ_a	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Man	0.028 ± 0.005	(-2.2 ± 0.7)10^{-4}	2.e-5	0.57	3.20	0.4	++	23
Vrouw	0.017 ± 0.005	-7e-5± 7e-5	2.e-5	0.22	0.98	34.	NS	20

Tabel 5.5.4.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = \gamma_a^{Man}$, $Y2 = \gamma_a^{Vrouw}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	21	1.168	73.	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	39	2.264	28.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	0.331	92.	NS

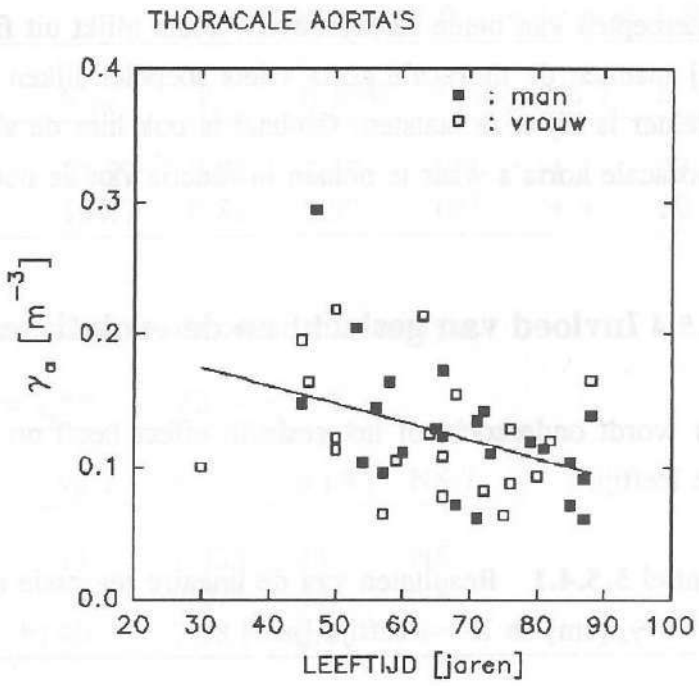
Gemiddelden ± SE :

$<\gamma_a>^{MAN} = (1.26 \pm 0.11)\ 10^{-2}$ cm en $<\gamma_a>^{VROUW} = (1.25 \pm 0.10)\ 10^{-2}$ cm.
$<AGE>^{MAN} = (68.4 \pm 2.8)$ jaar en $<AGE>^{VROUW} = (63 \pm 3)$ jaar.

Bespreking.

Deze analyse wijst uit dat er geen onderscheid te bemerken is tussen mannen en vrouwen

wat betreft de evolutie van γ_a in functie van de leeftijd. Lineaire regressie kan bijgevolg uitgevoerd worden op al de gegevens tezamen, met als resultaat de parameters zoals weergegeven in tabel 5.5.4.3. In figuur 5.9 staat het visuele resultaat. Duidelijk is dat ook hier een indicatie is dat de stijfheid (omgekeerd evenredig met γ_a) toeneemt met de leeftijd.



Figuur 5.9

Tabel 5.5.4.3 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \gamma_a$ [mm] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

γ_a	a	b	S^2_{YX}	r	t	p [%]	NS ?	n
	0.22 ± 0.03	-0.0014 ± 0.0005	2.0e-4	0.40	2.78	0.8	++	43

5.5.5 Invloed van geslacht en de evolutie van $P(\mu_a)$ i.f.v. de leeftijd.

Hier wordt nagegaan in hoeverre de werkzame druk verschillend evolueert bij mannen of vrouwen, bekeken in functie van de leeftijd.

Tabel 5.5.5.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = P(\mu_a)$ [Pa] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

$P(\mu_a)$	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Man	15700 ± 700	-52 ± 10	4.e+5	0.75	5.13	0.	++	23
Vrouw	14300 ± 1200	-28 ± 18	1.e+5	0.34	1.55	13.	NS	20

Tabel 5.5.5.2 Resultaten van de covariantie analyse.

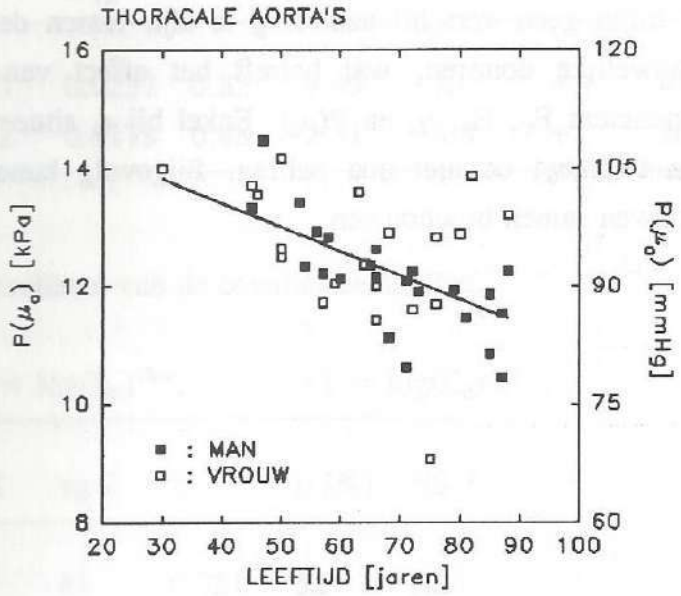
X=leeftijd, Y1 = $P(\mu_a)^{Man}$, Y2 = $P(\mu_a)^{Vrouw}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	21	3.33	0.96	++
$\beta_1=\beta_2$	1	39	1.42	48.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	40	0.722	100.	NS

Gemiddelden ± SE :

$<P(\mu_a)>^{MAN}$ = (12.14 ± 0.19) kPa en $<P(\mu_a)>^{VROUW}$ = (12.59 ± 0.27) kPa.
$<AGE>^{MAN}$ = (68.4 ± 2.8) jaar en $<AGE>^{VROUW}$ = (63 ± 3) jaar.

Bespreking.



Figuur 5.10

Uit de F-waarde voor de vergelijking van de varianties kunnen we afleiden dat beide steekproeven niet met elkaar kunnen vergeleken worden met behulp van een covariantie-analyse. Vandaar dat we een Mann-Whitney test hebben uitgevoerd om na te gaan of de steekproeven uit dezelfde populatie komen. De toetsingsgrootheid is t_s = 1.704 wat een drempelwaarde heeft van p=8.9%. Bijgevolg kunnen we aannemen dat beide steekproeven uit dezelfde populatie komen en kunnen we, aangezien al de overige parameters onafhankelijk blijken te zijn van het geslacht, ook hier de gegevens samenvoegen. Dit resulteert dan in figuur 5.10 en tabel 5.5.5.3.

Er dient wel vermeld te worden dat strikt genomen een Model I regressie niet toegelaten is vermits $\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$. Er zou namelijk een regressie moeten uitgevoerd worden waarbij de

ongelijke varianties in rekening gebracht worden.

Tabel 5.5.5.3 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = P(\mu_a)$ [Pa] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

$P(\mu_a)$	a	b	S^2_{YX}	r	$t\,\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
	15100 ± 700	-41 ± 9	8.2e+5	0.54	4.12	0.02	++	43

5.5.6 Besluit aangaande de invloed van het geslacht op de modelparameters.

Er blijkt geen verschil aanwezig te zijn tussen de thoracale aorta's van mannelijke en vrouwelijke donoren, wat betreft het effect van de leeftijd op de evolutie van de parameters E_C, E_E, γ_a en $P(\mu_a)$. Enkel bij ϵ_μ situeert zich een onderscheid, zij het enkel qua intercept en niet qua helling. Bijgevolg kunnen we de gegevens van mannen en vrouwen samen beschouwen.

5.6 MODEL-PARAMETERS ifv LEEFTIJD BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S.

5.6.1 E_C ifv leeftijd.

De evolutie van Young modulus E_C in functie van de leeftijd wordt onderzocht bij de twee type aorta's (thor=thoracaal, abd=abdominaal). Er wordt weerom een logaritmische transformatie uitgevoerd op E_C.

Tabel 5.6.1.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \log(E_C)$ [log(Pa)] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

log(E_C)	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Thor	7.51 ± 0.11	0.0160 ± 0.0017	0.0237	0.83	9.49	10^{-9}	++	43
Abd	8.19 ± 0.13	0.0051 ± 0.0022	0.0178	0.48	2.31	3.3	+	20

Tabel 5.6.1.2 Resultaten van de covariantie analyse.

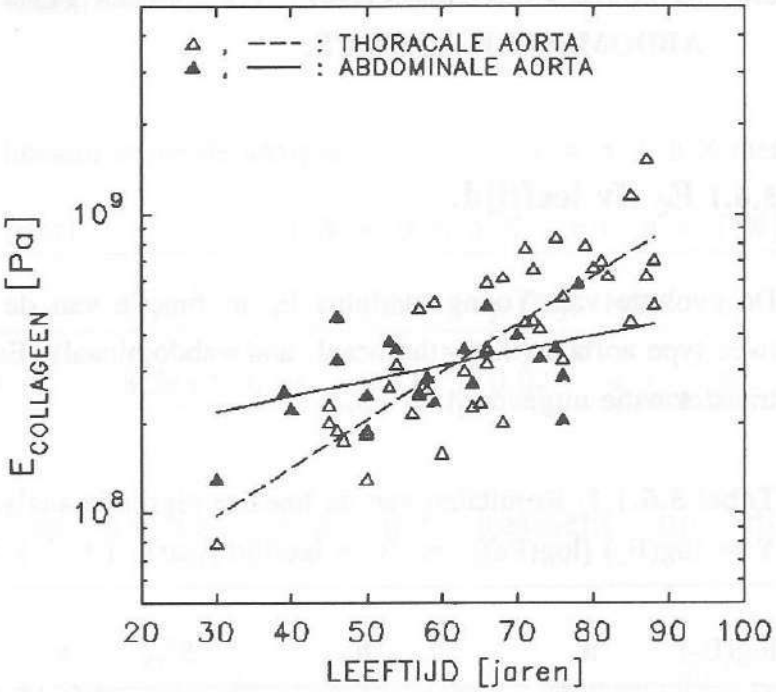
X=leeftijd, $Y1 = \log(E_C)^{Thor}$, $Y2 = \log(E_C)^{Abd}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	41	0.751	52	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	59	14.0	0.08	++
$\alpha_1=\alpha_2$	1	60	0.04	32	NS

Gemiddelden ± SE :

$\langle E_C \rangle^{THOR}$ = (0.45 ± 0.04) GPa en $\langle E_C \rangle^{ABD}$ = (0.323 ± 0.024) GPa.
$\langle AGE \rangle^{THOR}$ = (66.0 ± 2.1) jaar en $\langle AGE \rangle^{ABD}$ = (59 ± 3) jaar.

Bespreking.



Figuur 5.11

Uit de covariantie analyse volgt dat de thoracale en abdominale gegevens voor E_C niet samengevoegd mogen worden, aangezien er een duidelijk verschillende evolutie in functie van de leeftijd te constateren valt bij beide aorta types, zoals op figuur 5.11 ook duidelijk te zien is. De verhouding van de richtingscoëfficiënten bedraagt: $b^{thor} / b^{abd} = 3.14$, wat aantoont dat collageen vezels in de thoracale aorta 3 x sneller stijver worden in functie van de leeftijd dan de collageen vezels van de abdominale aorta. Dit wordt bevestigd door voor gepaarde leeftijden E_C van de abdominale aorta's uit te zetten in functie van E_C van de thoracale aorta's. Wordt op dit stel gegevens een lineaire regressie toegepast, dan geeft dit als resultaat voor de richtingscoefficient voor de gepaarde gegevens: b(gepaard) = $E_C^{abd} / E_C^{thor} = 0.30 \pm 0.10$, r=0.61, t-test(b=1)=-6.63, vg=14. De t-test wordt nu gebruikt om na te gaan of deze rechte de bissectrise is tussen de twee assen. Uit deze gegevens volgt dat de waarschijnlijkheid dat de richtingscoëfficiënt door toeval gelijk is aan 1: p=0.001 %, dus wordt de nulhypothese, H_0: $\beta=1$, verworpen.

5.6.2 ALGEMENE CONCLUSIES BETREFFENDE DE STIJFHEID VAN DE COLLAGEEN-COMPONENT BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S.

Aangezien we nu beschikken over alle nodige gegevens betreffende E_C voor de diverse meetomstandigheden, kunnen we volgende algemene besluiten treffen:

- de stijfheid van de collageencomponent (E_C) bij de thoracale aorta's mag voor alle thoracale aorta's samen onderzocht worden, onafhankelijk van de mate van

atherosclerose of het geslacht van de donorpatiënten.

- de stijfheid van de collageencomponent neemt 3x sneller toe met de leeftijd bij de thoracale aorta's dan bij de abdominale aorta's.
- de stijfheid van de collageenvezels in een thoracale aorta van een donor van 90 jaar is ± 9 maal stijver dan E_C bij de aorta van een 30 jarige donor. Immers, aan de hand van de regressie coëfficiënten uit tabel 5.6.1.1 kunnen we berekenen wat de waarden zijn voor log(E_C) bij 30 en 90 jaar. Kennen we deze verhouding (die we de notatie R_{log} geven) $R_{log} = \log(E_C^{90})/\log(E_C^{30})$, dan kunnen we de verhouding (notatie R) zonder logaritmen berekenen als: $R = E_C^{90}/E_C^{30} = E_C^{30}x(R_{log}-1)$. De waarde van deze verhouding is R = 9.12.
- bij de abdominale aorta is deze verhouding R = 2.02, wat erop wijst dat het verouderingsproces bij de collageenvezels in de abdominale aorta veel minder uitgesproken is dan bij de thoracale aorta. Misschien zou een deel van de verklaring hiervoor te vinden zijn in het feit dat de thoracale aorta een veel grotere Windkessel functie heeft, die een zwaardere last oplegt aan de wand van de thoracale aorta, dan voor de abdominale aorta het geval is.
- de gemiddelde waarden voor de stijfheid E_C van de collageencomponent zijn bij beide type aorta's niet significant verschillend, volgens een Mann-Whitney U-test; H_0: $<E_C>^{thor} = <E_C>^{abd}$; $t_s = 1.30$, p = 19 %. Dit dient onder voorbehoud geïnterpreteerd te worden want zoals figuur 5.11 duidelijk illustreert, is wegens het verschil in richtingscoëfficiënten er moeilijk een algemene uitspraak te vellen over welk van beide aorta's de stijfste is.
- de absolute waarde voor $<E_C>$ ligt zeer uitgesproken binnen de grenzen die te vinden zijn in de literatuur voor de stijfheid van collageen, namelijk $E_C^{lit} = 0.1\text{-}1.0$ Gpa, cfr hoofdstuk 1.
- de waarde voor E_C is genormaliseerd voor de hoeveelheid collageen aanwezig in de aortawand, zodat rekening gehouden wordt met verandering in hoeveelheid collageen met de leeftijd.

Globaal gezien kunnen we besluiten dat de stijfheid van de collageenvezels toeneemt met de leeftijd, zowel voor de thoracale als de abdominale aorta's. Dit besluit kan genomen worden zonder voorwaarden aangaande de druk waarbij gemeten werd, wat het grote contrast vormt met de incrementele modulus zoals gehanteerd door vele auteurs.

5.6.3 E_E ifv leeftijd.

De evolutie van Young modulus E_E met de leeftijd wordt nu onderzocht bij thoracale en abdominale aorta's.

Tabel 5.6.3.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b\,X$ met $Y = \log(E_E)$ [log(Pa)] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

$\log(E_E)$	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Thor	6.24 ± 0.07	$(-0.8 \pm 1.0)10^{-3}$	0.0087	0.13	0.81	42.	NS	43
Abd	5.85 ± 0.19	0.007 ± 0.003	0.0375	0.47	2.27	3.6	+	20

Tabel 5.6.3.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = \log(E_E)^{Thor}$, $Y2 = \log(E_E)^{Abd}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	41	4.287	0.01	++
$\beta_1=\beta_2$	1	59	9.473	0.6	++
$\alpha_1=\alpha_2$	1	60	7.199	1.9	+

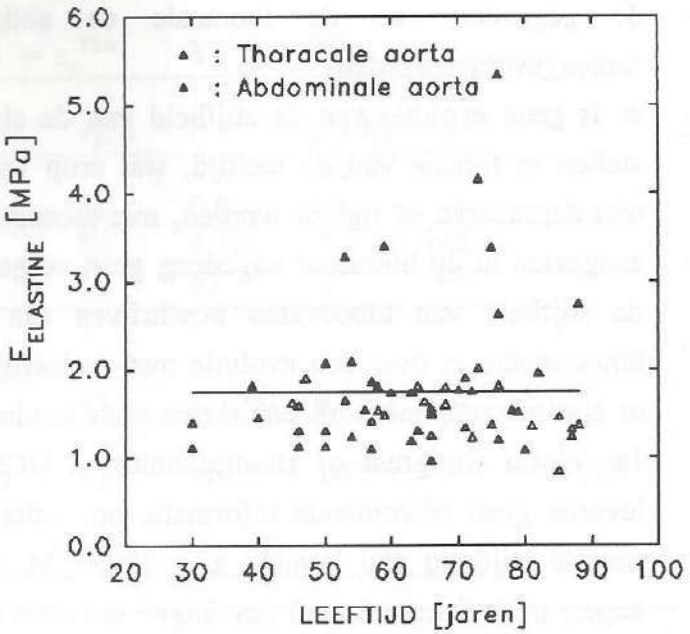
Gemiddelden + SE :

$\langle E_E \rangle^{THOR} = (1.56 \pm 0.05)$ MPa en $\langle E_E \rangle^{ABD} = (2.14 \pm 0.27)$ MPa.
$\langle AGE \rangle^{THOR} = (66.0 \pm 2.1)$ jaar en $\langle AGE \rangle^{ABD} = (59 \pm 3)$ jaar.

Bespreking.

Een eerste vaststelling betreft de niet Gaussische verdeling van de y-waarden van beide aortatypes, wanneer bekeken bij een bepaalde leeftijd, zoals uit figuur 5.12 ook blijkt. Vandaar dat de resultaten van de lineaire regressie onder voorbehoud dienen geïnterpreteerd te worden. Covariantie analyse bevestigt eveneens dat de beide varianties significant verschillen van elkaar. Vandaar dat de niet-parametrische Mann-Whitney U-test wordt gebruikt om toch enigszins te kunnen nagaan in hoeverre E_E van de beide type aorta's verschillen. Deze test, waarbij de nulhypothese gegeven is als $H_0 : \mu_1 = \mu_2$ waar μ_i de medianen van beide steekproeven voorstellen, geeft een toetsingsgrootheid $t_s=0.731$ wat een waarschijnlijkheidsdrempel meebrengt van p = 47%, of m.a.w. de nulhypothese

kan aanvaard worden. Om dan verder na te gaan wat het effect is van de leeftijd op de stijfheidsmodulus van de elastinevezels, hebben we beide samples bijeengevoegd, en een t-test uitgevoerd om de nulhypothese $H_0 : \beta = 0$ te testen. Dit resulteerde in tabel 5.6.3.3 waarin volledigheidshalve de resultaten van zowel de lineaire regressie op E_E als op $\log(E_E)$ in functie van de leeftijd werden uitgezet voor samengevoegde data van thoracale en abdominale aorta's samen.



Figuur 5.12

Tabel 5.6.3.3 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b X$ met $Y = E_E$ [MPa] en $Y = \log(E_E)$ [log(Pa)] en X = leeftijd [jaar].

(+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

Thor + Abd	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
E_E	1.3 ± 0.4	6.e-3 ± 7.e-3	0.59	0.12	0.93	35.	NS	63
$\log(E_E)$	6.16 ± 0.09	0.0008 ± 0.0013	0.0220	0.08	0.62	54.	NS	63

5.6.4 ALGEMENE CONCLUSIES BETREFFENDE DE STIJFHEID VAN DE ELASTINE-COMPONENT BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S.

Aangezien we nu beschikken over alle nodige gegevens betreffende E_E voor de diverse meetomstandigheden, kunnen we volgende algemene besluiten treffen:

- de stijfheid van de elastinecomponent (E_E) bij de thoracale aorta's mag voor alle thoracale aorta's tezamen onderzocht worden, onafhankelijk van de mate van

atherosclerose of het geslacht van de donorpatiënten.

- de gegevens van de thoracale en abdominale aorta's mogen eveneens samengevoegd worden.
- er is geen evolutie van de stijfheid van de elastinevezels in de aortawand vast te stellen in functie van de leeftijd, wat erop wijst dat de elastinevezels mechanisch niet degraderen of rigider worden, met toenemende ouderdom.
- aangezien in de literatuur nagenoeg geen vergelijkbare modellen te vinden zijn, die de stijfheid van bloedvaten beschrijven aan de hand van de stijfheid van de bouwstenen, is over een evolutie met de leeftijd van de stijfheid van de collageen- of elastinecomponent bij ons weten niets te vinden. Ook uitgebreide navraag op het 1st World Congress of Biomechanics in UCSD, San Diego in september 1990, leverde geen bijkomende informatie op, zelfs geen indicatie van hoe de evolutie van de stijfheid zou kunnen zijn. Enkel M. Roach (natuurkunige, reeds 40 jaar expert in de biorheologie) bevestigde dat elastine vanaf een leeftijd van 30 jaar niet meer verandert qua stijfheid terwijl collageen vanaf 30 jaar pas stijver wordt.
- de gemiddelde waarde voor de stijfheid van de elastinevezels is: $<E_E> = (1.74 \pm 0.10)$MPa.
- deze waarde voor E_E benadert goed het gebied zoals in de literatuur opgegeven wordt als Young Modulus van elastine; $E_E^{lit} = 0.1 - 1.0$ MPa.
- de waarde voor E_E is genormaliseerd voor de hoeveelheid elastine aanwezig in de aortawand, zodat rekening gehouden wordt met verandering in hoeveelheid elastine met de leeftijd.

5.6.5 Rek ϵ_μ ifv de leeftijd.

In volgende tabellen worden de resultaten van lineaire regressie en covariantie analyse weergegeven, toegepast op de rek bij μ_a voor beide type aorta's.

Tabel 5.6.5.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b X$ met $Y = \epsilon_\mu$ [%] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

ϵ_μ	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Thor	123. ± 8.	-0.98 ± 0.12	114.6	0.79	8.34	10^{-8}	++	43
Abd	126. ± 10.	-1.42 ± 0.16	93.4	0.90	8.94	10^{-6}	++	20

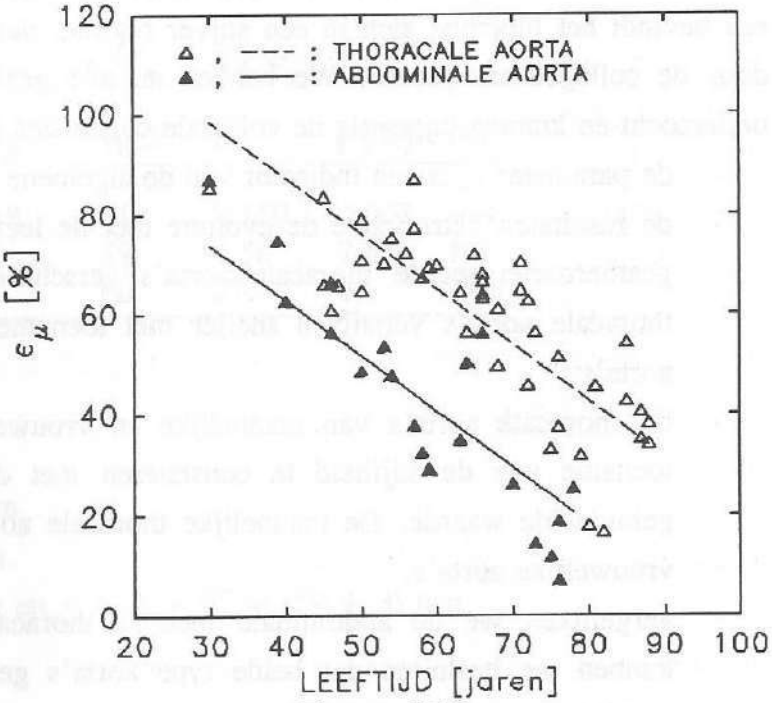
Tabel 5.6.5.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd,	Y1 = ϵ_μ^{Thor}		Y2 = ϵ_μ^{Abd}		
H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	41	0.815	65.	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	59	4.66	7.	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	60	67.	0.	++

samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	-1.05 ± 0.10	61	-10.5	10^{-13}	++
a_1	132.0				
a_2	107.5				

Gemiddelden ± SE :

$<\epsilon_\mu>^{THOR}$ = (58.4 ± 2.6) % en $<\epsilon_\mu>^{ABD}$ = (42 ± 5) %. $<AGE>^{THOR}$ = (66.0 ± 2.1) jaar en $<AGE>^{ABD}$ = (59 ± 3) jaar.



Figuur 5.13

Bespreking.

Beide aortatypes vertonen een identieke evolutie van de grootheid ϵ_μ in functie van de leeftijd, aangezien de covariantie analyse aantoont dat de respectievelijke richtingscoëfficiënten niet significant verschillen. Er is tevens een duidelijke dalende trend van deze rek ϵ_μ in functie van de leeftijd (figuur 5.13), wat erop wijst dat bij steeds kleinere rekken alle collageenvezels reeds op hun initiële vezellengte gebracht zijn, en dit is eveneens een uiting van het feit dat het bloedvat stijver wordt met de leeftijd. Het absolute verschil tussen de gemiddelde $<\epsilon_\mu>^{thor}$ en $<\epsilon_\mu>^{abd}$ waarbij de laatste kleiner is dan de eerste (a2<a1, uit covariantie-analyse tabel 5.6.5.2) betekent dat bij de abdominale aorta's de gemiddelde lengte van de collageenvezels bij een

systematisch kortere rek reeds bereikt wordt, of anders geformuleerd dat reeds bij een kleinere rek de collageencomponent een bijdrage gaat leveren aan de mechanische krachtopbouw. Dit wijst dus globaal op een stijvere abdominale aorta dan een thoracale aorta. In de literatuur vindt men algemeen dat de stijfheid van de bloedvaten toeneemt met de afstand van het hart (o.a. Berne 1988).

5.6.6 ALGEMENE CONCLUSIES BETREFFENDE DE PARAMETER ϵ_μ BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S.

Zoals reeds opgemerkt is de parameter ϵ_μ een indicator van het macroscopische elastisch gedrag van de bloedvaten, aangezien het een maat is voor de rek waarbij de collageenvezels een rol beginnen te spelen op de wandspanning-straal curve. Voorbij deze rek bevindt het bloedvat zich in een stijver regime, dat voornamelijk gedomineerd wordt door de collageencomponent. We hebben nu alle gegevens betreffende deze parameter onderzocht en kunnen bijgevolg de volgende conclusies treffen.

- de parameter ϵ_μ is een indicator van de algemene stijfheid van de bloedvaten.
- de resultaten betreffende de evolutie met de leeftijd van ϵ_μ bij matige en ernstige geatheroscleroseerde thoracale aorta's verschillen significant. Ernstig aangetaste thoracale aorta's verstijven sneller met toenemende leeftijd dan matig aangetaste aorta's.
- bij thoracale aorta's van mannelijke en vrouwelijke donoren is wel een gelijke toename van de stijfheid te constateren met de leeftijd, maar een verschil in gemiddelde waarde. De mannelijke thoracale aorta's zijn iets minder stijf dan de vrouwelijke aorta's.
- vergelijken we de abdominale met de thoracale gegevens betreffende ϵ_μ, dan kunnen we besluiten dat beide type aorta's gelijkaardig stijver worden met de leeftijd, maar dat absoluut gezien de thoracale iets minder stijf zijn dan de abdominale aorta's.

5.6.7 γ_a ifv de leeftijd.

De 4de model-parameter γ_a geeft de spreiding weer (volledige breedte bij halve hoogte) van de beginlengtes van de collageenvezels rond het maximum van de Lorentz verdeling voor het binnenste ringetje. Hoe kleiner deze waarde is hoe bruusker de meeste

collageenvezels hun beginlengte bereiken, en dit uit zich derhalve in een stijver zijn van het gehele sample. Lineaire regressie en covariantie analyse resulteren in volgende tabellen:

Tabel 5.6.7.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b X$ met $Y = \gamma_a$ [mm] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

γ_a	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Thor	0.22 ± 0.03	$(-14 \pm 5)10^{-4}$	$2.0\ 10^{-4}$	0.40	2.78	0.8	++	43
Abd	0.059 ± 0.017	$(2.7 \pm 2.9)10^{-4}$	$3.0\ 10^{-4}$	0.21	0.92	37.	NS	20

Tabel 5.6.7.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = \gamma_a^{Thor}$, $Y2 = \gamma_a^{Abd}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2 = \sigma_2^2$	18	41	0.150	0.007	++
$\beta_1 = \beta_2$	1	59	4.56	7.4	NS
$\alpha_1 = \alpha_2$	1	60	27.	0.	++

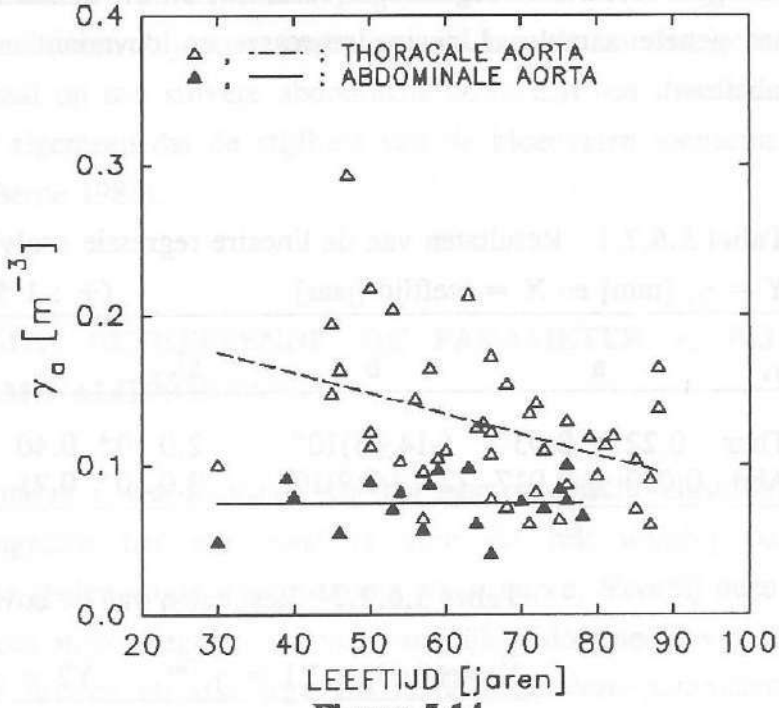
Gemiddelden ± SE:

$<\gamma_a>^{THOR} = (1.26 \pm 0.07)10^{-2}$ cm
$<\gamma_a>^{ABD} = (0.75 \pm 0.04)10^{-2}$ cm.
$<AGE>^{THOR} = (66.0 \pm 2.1)$ jaar en $<AGE>^{ABD} = (59 \pm 3)$ jaar.

Bespreking.

Uit deze analyse kunnen we besluiten dat er geen covariantie analyse kan gedaan worden omdat beide varianties niet gelijk zijn. Een Mann-Whitney U-test wordt uitgevoerd om na te gaan of beide steekproeven uit populaties komen met dezelfde mediaan. De toetsingsgrootheid is $t_s = 4.127$ wat een p-waarde oplevert van $p<0.005\%$, dus de nulhypothese $H_0 : \gamma_a^{thor} = \gamma_a^{abd}$ dient verworpen te worden. Derhalve kunnen we beide samples ook niet tezamen voegen, maar moeten we ze als aparte steekproeven behandelen

(zie figuur 5.14). De thoracale γ_a's vertonen een significante ($p<1\%$) daling in functie van de leeftijd, wat weerom erop wijst dat de collageen component in de thoracale aorta's stijver wordt naarmate de leeftijd toeneemt. Bij de abdominale aorta's kan een dergelijke daling niet aangetoond worden. Ook dit is consistent met het voorgaande aangezien er bij abdominale aorta's niet zo'n duidelijke toename van de stijfheidsmodulus van de collageencomponent kon vastgesteld worden, waar deze bij de thoracale aorta's veel prominenter was.



Figuur 5.14

5.6.8 ALGEMENE CONCLUSIES BETREFFENDE DE PARAMETER γ_a BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S.

Deze parameter γ_a is indirect een maat voor de stijfheid van het gehele bloedvat aangezien het weergeeft hoe "gemakkelijk" de collageenvezels in een bundel voorbij elkaar glijden, zoals toegelicht in hoofdstuk 3. Gegeven de verschillende resultaten van de statistische behandeling van γ_a bij de diverse omstandigheden kunnen we ook hier algemene conclusies treffen aangaande de stijfheid van de aorta's.

- matig geatherosclerose erde thoracale aorta's zijn minder stijf aangezien de parameter γ_a groter is dan bij ernstig geatherosclerose erde aorta's. Deze parameter vertoont in beide gevallen geen verandering met de leeftijd.
- bij mannelijke of vrouwelijke thoracale aorta's is geen onderscheid te maken wat betreft γ_a.
- bij thoracale aorta's is er een significante daling van γ_a in functie van de leeftijd waar te nemen, wat wijst op een duidelijk stijver worden van de thoracale aorta.
- bij abdominale aorta's is geen evolutie van γ_a met toenemende ouderdom

merkbaar, wat consistent is met de veel kleinere toename van E_C bij abdominale aorta's dan bij thoracale aorta's.

- de gemiddelde waarde voor γ_s is bij thoracale aorta's significant hoger dan bij abdominale aorta's, erop wijzend dat de thoracale aorta minder stijf is in zijn geheel beschouwd dan de abdominale aorta. Dit is ook consistent met de bevindingen betreffende ϵ_μ en de literatuur (Berne 1988).

5.6.9 $P(\mu_s)$ ifv de leeftijd.

Lineaire regressie en covariantie analyse van de werkzame druk resulteren in volgende tabel:

Tabel 5.6.9.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b X$ met $Y = P(\mu_s)$ [kPa] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

$P(\mu_s)$	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Thor	15.1 ± 0.7	-0.041 ± 0.009	8.2e+5	0.54	4.12	0.02	++	43
Abd	12.1 ± 0.8	2e-3 ± 15e-3	4.7e+5	0.03	0.12	90.	NS	20

Tabel 5.6.9.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = P(\mu_s)^{Thor}$, $Y2 = P(\mu_s)^{Abd}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	14	41	0.576	26.	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	55	4.23	8.9	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	56	3.47	14.	NS

samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	$(-26 \pm 8)10^{-3}$	57	-3.22	0.21	++
a	14.0 ± 0.5				

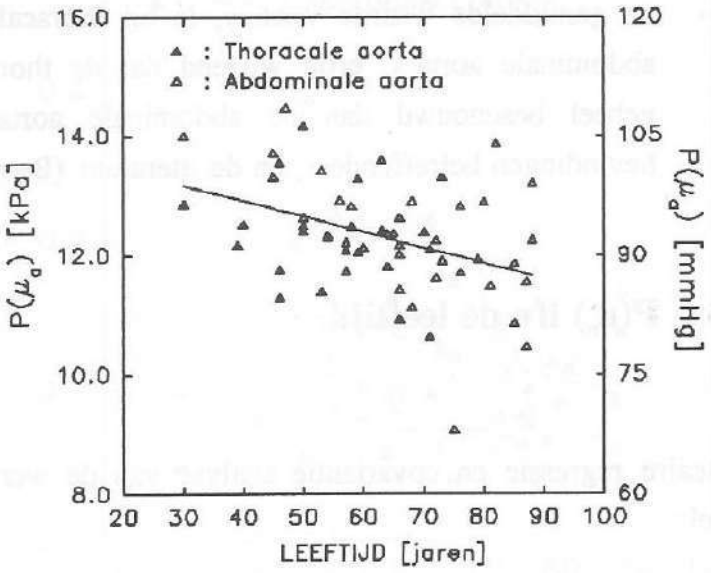
Gemiddelden ± SE:

$<P(\mu_s)>^{THOR}$ = (12.36 ± 0.16) kPa en $<P(\mu_s)>^{ABD}$ = (12.22 ± 0.17) kPa

$<AGE>^{THOR}$ = (66.0 ± 2.1) jaar en $<AGE>^{ABD}$ = (59 ± 3) jaar.

Bespreking.

Uit de covariantie analyse volgt dat er geen significant verschil is tussen beide steekproeven, wanneer gecorrigeerd wordt voor het leeftijdseffect. Dit maakt dat bijgevolg beide steekproeven samengenomen mogen worden om vervolgens op het gehele sample van gegevens van thoracale en abdominale aorta samen een lineaire regressie te verrichten (zie figuur 5.15). Dit resulteert dan in de coëfficiënten onder "samengevoegd" in tabel 5.6.9.2.



Figuur 5.15

5.6.10 ALGEMENE CONCLUSIES BETREFFENDE DE PARAMETER P(μ_s) BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S.

Aangezien we ook wat betreft P(μ_s) beschikken over al de gegevens van de diverse aorta's kunnen we de volgende conclusies treffen.

- de parameter P(μ_s) reflecteert de plaats waar de meeste collageenvezels uitgerokken zijn, en bijgevolg bevindt het bloedvat zich voorbij deze druk in een stijver regime. Deze parameter is derhalve eveneens een indicator van het algemene stijfheidsgedrag van de bloedvaten. Hoe groter P(μ_s), hoe stijver het bloedvat.
- de gegevens betreffende P(μ_s) kunnen van alle aorta's samengevoegd worden aangezien de statistische behandeling aantoont dat er geen significant onderscheid waar te nemen is tussen matige of ernstig geatheroscleroseerde, mannelijke of vrouwelijke, thoracale of abdominale aorta's.
- een significante dalende trend voor P(μ_s) met stijgende leeftijd wordt algemeen vastgesteld bij alle onderzochte aorta's. Dit betekent weerom dat de bloedvaten stijver worden bij toenemende leeftijd.

- de gemiddelde waarde voor de mechanisch operationele druk bedraagt $<P(\mu_a)> = (12.32 \pm 0.13)$ kPa (= 92.3±0.9 mmHg), wat een goede overeenkomst vertoont met de gemiddelde arteriële druk.

5.7 GEOMETRIE-VERANDERINGEN IN FUNCTIE VAN DE LEEFTIJD.

Om een aanvullend beeld te geven van veranderingen van de aorta's in functie van de leeftijd worden in volgende tabellen de statistische resultaten geschetst van de evolutie van de wanddikte en beginstraal van de thoracale en abdominale aorta's. Deze hebben enkel betrekking op de macroscopische eigenschappen van de aorta's en staan los van enig model.

5.7.1 Wanddikte H [cm], (bij $\Delta p=0$) van thoracale en abdominale aorta's.

In volgende tabellen wordt de verandering van de wanddikte onderzocht.

Tabel 5.7.1.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b X$ met Y = H [cm] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 % , ++: p < 1 %)

H	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Thor	0.17 ± 0.04	0.0017 ± 0.0006	0.0034	0.37	2.59	1.3	+	43
Abd	0.18 ± 0.04	0.0007 ± 0.0006	0.0015	0.25	1.08	30	NS	20

Tabel 5.7.1.2 Resultaten van de covariantie analyse.

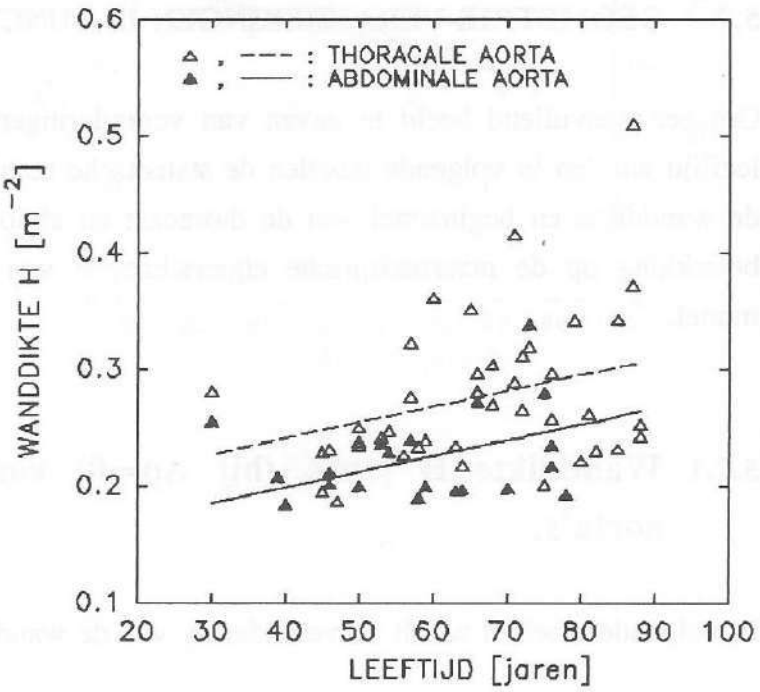
X=leeftijd, $Y1 = H^{Thor}$, $Y2 = H^{Abd}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	41	0.427	5.4	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	59	0.87	100	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	60	8.21	1.15	+

samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	0.0013 ± 0.0005	61	2.73	0.8	++
a_1	0.187				
a_2	0.145				

Gemiddelden ± SE :

$<H>^{THOR}$ = (0.276 ± 0.009) cm en $<H>^{ABD}$ = (0.224 ± 0.009) cm.
$<AGE>^{THOR}$ = (66.0 ± 2.1) jaar en $<AGE>^{ABD}$ = (59 ± 3) jaar.



Figuur 5.16

Bespreking

Uit de covariantie analyse kunnen we besluiten dat er enerzijds geen verschil is tussen de evolutie in functie van de leeftijd van de wanddikte H bij thoracale en abdominale aorta's, maar dat er anderzijds wel een absoluut verschil is tussen de intercepten a1 en a2, of m.a.w dat $<H>_{thor} > <H>_{abd}$. De regressie van de samengevoegde data geeft een richtingscoëfficiënt b die duidelijk significant verschillend is van nul, en zoals uit figuur 5.16 kan afgeleid worden, neemt de wanddikte toe met toenemende leeftijd, zelfs met 25 % over een tijdspanne van 50 jaar.

5.7.2 Begin-straal a [cm] (bij $\Delta p=0$) van thoracale en abdominale aorta's.

In volgende tabellen wordt de verandering van beginstraal onderzocht.

Tabel 5.7.2.1 Resultaten van de lineaire regressie analyse: $Y = a + b X$ met Y = a [cm] en X = leeftijd [jaar]. (+ : 1 % < p < 5 %, ++: p < 1 %)

straal a	a	b	S^2_{YX}	r	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?	n
Thor	0.21 ± 0.06	0.0082 ± 0.0009	0.0070	0.83	8.94	0.	++	43
Abd	0.26 ± 0.08	0.0049 ± 0.0014	0.0074	0.63	3.48	0.3	++	20

Tabel 5.7.2.2 Resultaten van de covariantie analyse.

X=leeftijd, $Y1 = a^{Thor}$, $Y2 = a^{Abd}$

H_0	vg 1	vg 2	F	p [%]	NS ?
$\sigma_1^2=\sigma_2^2$	18	41	1.057	85	NS
$\beta_1=\beta_2$	1	59	3.83	11	NS
$\alpha_1=\alpha_2$	1	60	39.4	10^{-5}	++

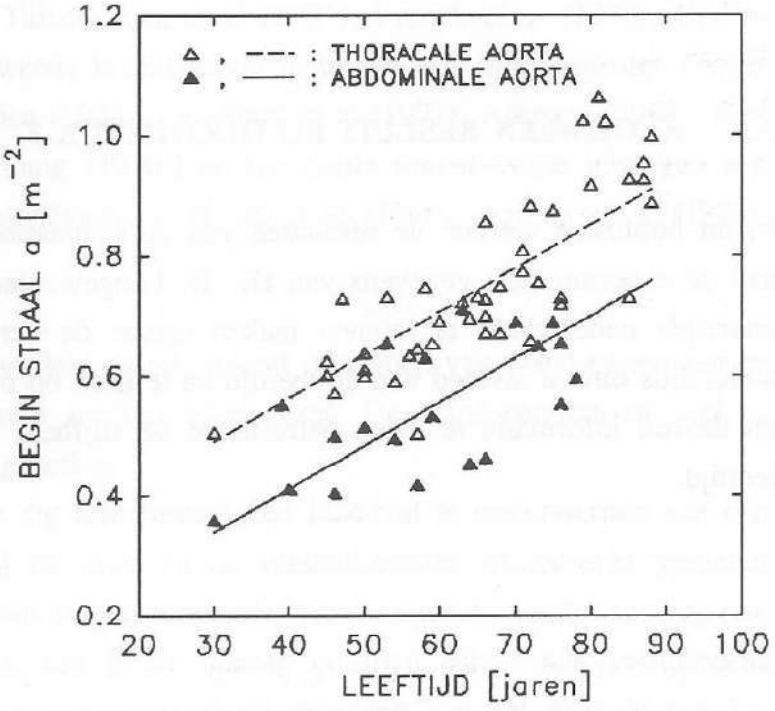
samengevoegd		vg	t: $\beta \neq 0$	p [%]	NS ?
b	$(68 \pm 8)10^{-4}$	61	8.60	10^{-10}	++
a_1	0.276				
a_2	0.124				

Gemiddelden ± SE :

$\langle a \rangle^{THOR}$ = (0.750 ± 0.022) cm en $\langle a \rangle^{ABD}$ = (0.546 ± 0.024) cm.
$\langle AGE \rangle^{THOR}$ = (66.0 ± 2.2) jaar en $\langle AGE \rangle^{ABD}$ = (59 ± 3) jaar.

Bespreking.

De evolutie van de beginstraal a [cm], met de leeftijd is dezelfde voor de thoracale en abdominale aorta's, maar de gemiddelde waarde van a is



Figuur 5.17

voor de thoracale meer dan twee maal deze van de abdominale aorta's. De regressie van de samengevoegde b is duidelijk significant verschillend van nul, er eveneens op wijzend dat de diameter van de aorta's duidelijk toeneemt met de leeftijd, zoals figuur 5.17 illustreert. Deze toename is zelfs van de orde van
40 % over 50 jaar.

5.7.3 BESLUIT BETREFFENDE DE GEOMETRIE-VERANDERINGEN BIJ THORACALE EN ABDOMINALE AORTA'S.

De toename van de wanddikte en diameter van de aorta's heeft onvermijdelijk zijn repercuties op het mechanisch gedrag van deze bloedvaten. Op zich geven deze parameters echter weinig informatie betreffende de stijfheid van de bloedvaten. De toename van de straal a geeft wel een belangrijke rechtvaardiging voor het invoeren van de genormaliseerde parameter ϵ_μ in hoofdstuk 3 in plaats van de parameter μ_a die wegens de toename van de beginstraal eveneens significant toeneemt met de ouderdom en dus een vergelijking tussen verschillende aorta's veel gecompliceerder maakt.

5.8 ALGEMEEN BESLUIT BIJ HOOFDSTUK 5.

In dit hoofdstuk werden de resultaten van de aanpassing door het 2-componenten model aan de experimentele gegevens van Dr. G. Langewouters statistisch behandeld, ten einde enerzijds onderscheid te kunnen maken tussen de verschillende klinische gegevens en anderzijds om de invloed van de leeftijd na te gaan op de modelparameters E_C, ϵ_μ, γ_a, E_B, en daaruit informatie te halen betreffende de stijfheid van de aorta's in functie van de leeftijd.

Hoofdstuk 6.

Meetapparatuur beschrijving.

6.1 INLEIDING.

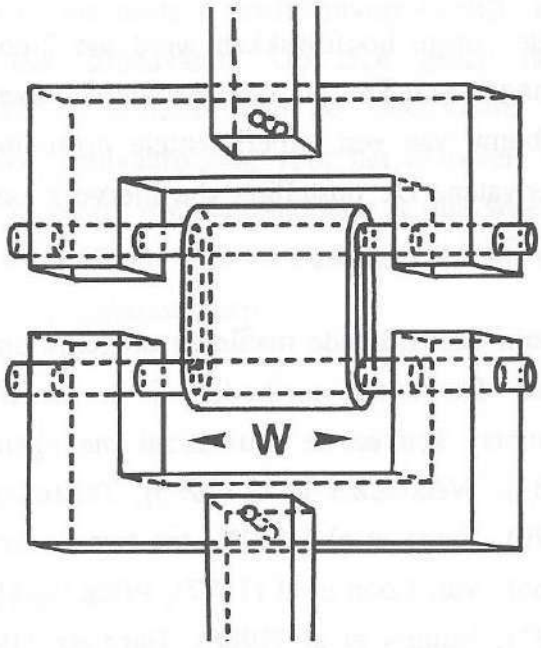
In de vorige hoofdstukken werd het 2-componenten model opgebouwd en toegepast op metingen van Dr. G. Langewouters. Eveneens maakt deel uit van deze doctoraatsstudie de bouw van een experimentele opstelling om eigenhandig metingen uit te voeren op bloedvaten. De opstelling die hiervoor ontwikkeld werd, zal in dit hoofdstuk toegelicht worden.

Er zijn verschillende manieren mogelijk om de elastische eigenschappen van bloedvaten te meten. De meeste methoden uit de literatuur zijn echter te ressorteren onder drie grote noemers: Ten eerste druk-straal metingen van een cilindrisch segment (Wiegand et al (1987), Weizsacker et al (1983), Takamizawa et al (1987), Fronek et al (1976), Hudetz (1979), Busse et al (1981)), ten tweede kracht-lengte metingen aan ringsegmenten (Apter (1966), Van Loon et al (1977), Price (1984), Goedhard et al (1973), Attinger (1968), Cox (1982), Minten et al (1986), Hardung (1970)) en ten derde kracht-lengte metingen aan stukjes (strips) gesneden uit de bloedvatwand (Goto et al (1966), Azuma et al (1973), Wegner et al (1976)).

Het model dat in deze thesis voorgesteld wordt, rekent in termen van wandspanningen en stralen om redenen die reeds eerder werden uiteengezet. De wandspanning op zich is echter geen rechtstreeks meetbare grootheid.
De hogervermelde eerste methode die erin bestaat een bloedvat te onderwerpen aan een toenemende interne druk, waarbij de druk en de buitendiameter rechtstreeks gemeten worden, laat echter toe de wandspanning te berekenen via de uitdrukking $T=p_i r_i - p_o r_o$ (zie formule (3.6)). De binnenstraal r_i kan in de meeste gevallen echter niet rechtstreeks gemeten worden. Hiervoor doet men een beroep op metingen van het gewicht van het bloedvat en de eenvoudig meetbare dimensies (lengte en breedte van een overlangs

doorgesneden cilindrisch segment) om aldus een maat voor het volume en de wanddikte te bekomen. Vaak wordt deze wanddikte wel onterecht aanzien als constant tijdens de meting.
Bij zeer kleine transparante bloedvaten zoals capillairen en arteriolen slaagt men wel om tegelijkertijd de binnen- en buitendiameter te meten, dit met behulp van video-technieken (Halpern et al, 1984, 1985). Recent is het oplossend vermogen van ultrasone technieken eveneens zodanig toegenomen dat ook van grotere bloedvaten de binnen en buitendiameter continue kunnen geregistreerd worden (Tardy et al, 1991).
De buitendiameter wordt doorgaans gemeten met contact verplaatsingsopnemers (Langewouters 1982, Minten 1985) alhoewel er ook optische technieken bestaan (Schabert et al 1980).

De tweede methode om langs indirecte weg de wandspanning te bepalen is deze waarbij ringsegmenten van bloedvaten worden opgehangen aan 2 staafjes zoals afgebeeld op figuur 6.1. De kracht en de lengteverplaatsing worden gemeten terwijl het bloedvat in de radiale richting uitgerokken wordt. De omrekening naar wandspanning gebeurt door de kracht te delen door de breedte W (cfg. fig 6.1) van het gemeten specimen.



Figuur 6.1 : Methode van ophanging van een bloedvat.

Een nadeel verbonden aan deze methode is dat de circulaire geometrie niet meer behouden blijft. Een voordeel van deze techniek is zijn grote eenvoud en het is evident dat dit een manipulatie van het bloedvat teweegbrengt die veel minder omslachtig is dan bij de druk-straal experimenten, wat fysiologisch gezien een voordeel is. Evenals bij de druk-straal metingen laat deze opstelling het in eerste benadering niet toe om zowel de binnen als de buitendiameter continu te registreren.
Deze methode van werken is wel erg in trek bij de farmacologen die de vasculaire reactiviteit onderzoeken op diverse chemische stoffen en farmaca (De Meyer 1991).

Deze tweede methode werd verkozen bij de constructie van de meetopstelling, voornamelijk omdat de electro-mechanische componenten van de opstelling reeds waren opgebouwd door M. Maes (1984) tijdens zijn doctoraat, steunend op het doctoraat van W.

Decramer (1977). In een vroeg stadium van ons doctoraatswerk werd deze opstelling geautomatiseerd ten einde kracht-lengte relaties bij pezen van de rattestaart te meten. De omvorming naar een opstelling die voor bloedvaten geschikt was, hield een aanzienlijk kleinere tijdsinvestering in dan een volledig nieuwe opstelling te bouwen om druk-experimenten te verrichten. In de volgende secties wordt systematisch de meetopstelling toegelicht, waarbij de klemtoon ligt op de computersturing. Er wordt eveneens een beeld geschetst van het verloop van een experiment.

6.2 HOOFDDOEL VAN DE MEETOPSTELLING EN CHRONOLOGISCH VERLOOP VAN EEN EXPERIMENT.

De meetopstelling dient de experimentator in staat te stellen wandspanning-straal relaties van bloedvaten te meten. Dit op reproduceerbare wijze en onder de gewenste condities. De experimentator moet tevens kunnen opleggen hoeveel en hoe snel het bloedvat dient uitgerokken te worden. Daarenboven is het zeer wenselijk per experiment een zeker aantal wandspanning-straal relaties te bekomen die onder dezelfde omstandigheden opgenomen zijn, ten einde een betere statistische behandeling te kunnen uitvoeren op de uiteindelijk resultaten.

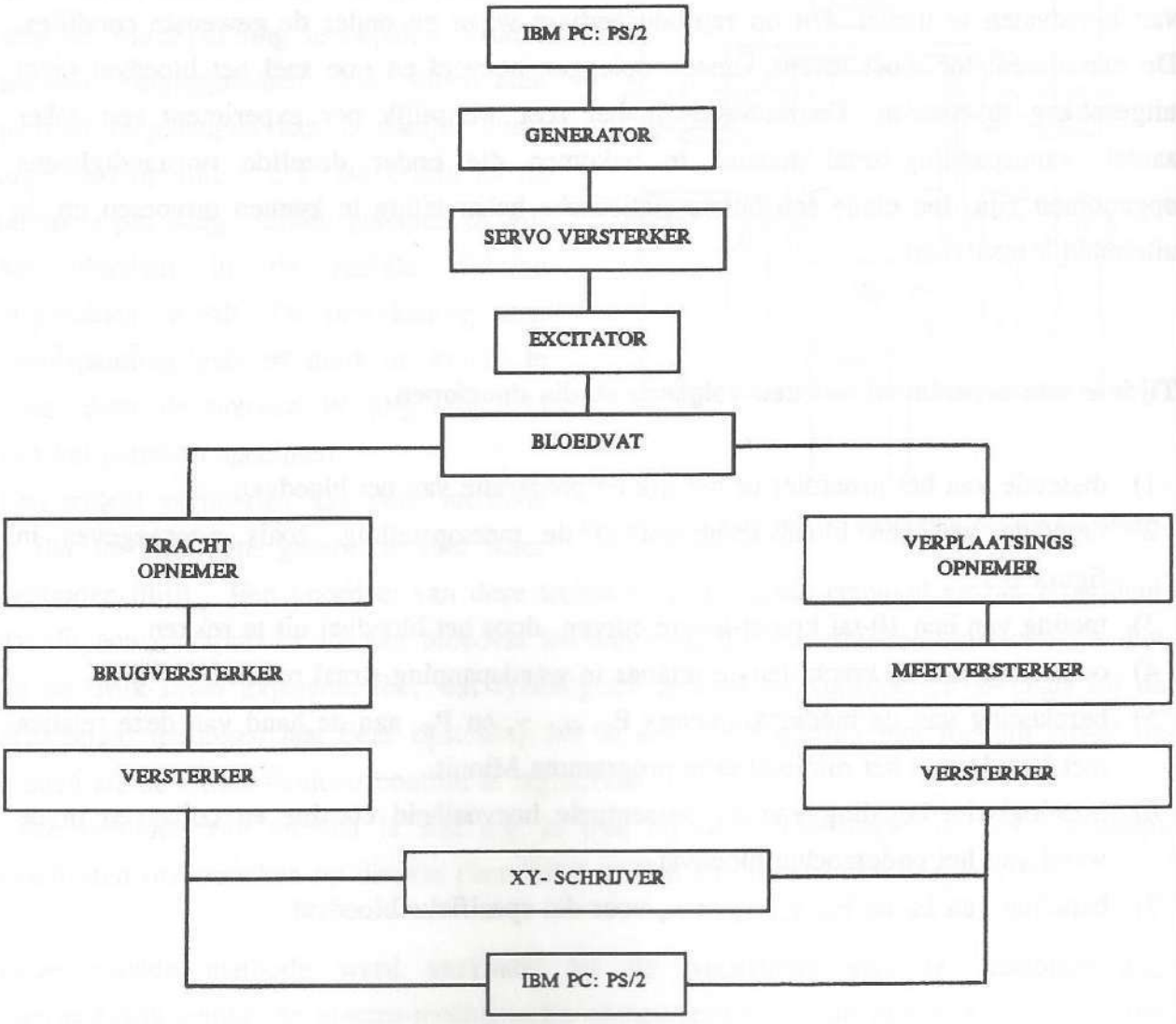
Tijdens een experiment worden volgende stadia doorlopen.

1) dissectie van het proefdier of het lijk en preparatie van het bloedvat.
2) montage van een bloedvatsegment in de meetopstelling, zoals weergegeven in figuur 6.1.
3) meting van een 10-tal kracht-lengte curven, door het bloedvat uit te rekken.
4) omzetting van de kracht-lengte relaties in wandspanning-straal relaties.
5) berekening van de modelparameters P_C, μ_a, γ_a en P_E aan de hand van deze relaties met behulp van het minimalisatie-programma Minuit.
6) histologische bepaling van de procentuele hoeveelheid elastine en collageen in de wand van het onderzochte bloedvat.
7) bepaling van E_C en E_E, ϵ_μ, γ_a en μ_a voor dat specifieke bloedvat.

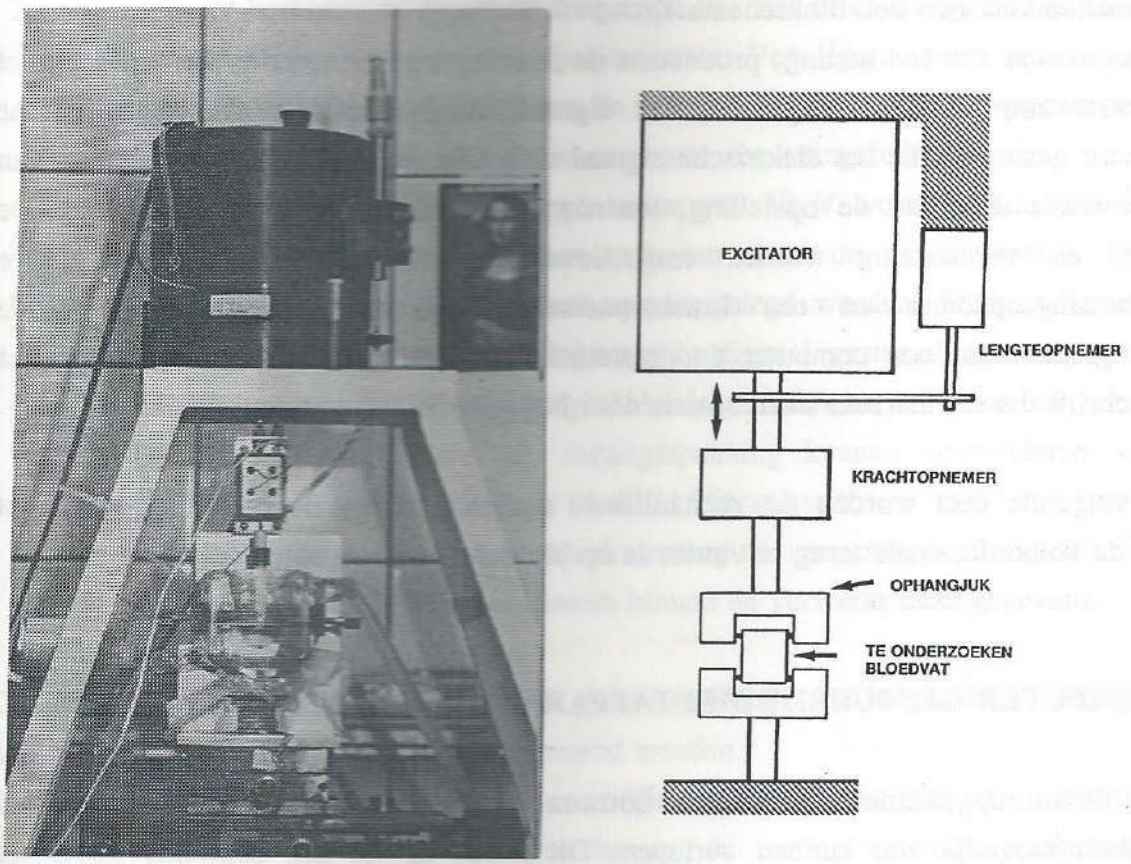
6.3 BASISCOMPONENTEN VAN DE MEETOPSTELLING.

De opstelling die aan bod komt in de stappen 2 tot 4 van de chronologische schets, kan opgedeeld worden in een aantal elementaire eenheden, die terug te vinden zijn in het blokschema 1 en in figuur 6.2:

- de meet-eenheid met het bloedvat in het orgaanbad
- de verplaatsings-eenheid met
  a) functiegenerator
  b) excitator
  c) verplaatsingsopnemer
- de kracht-eenheid met krachtopnemer
- de computer-eenheid met IBM PC

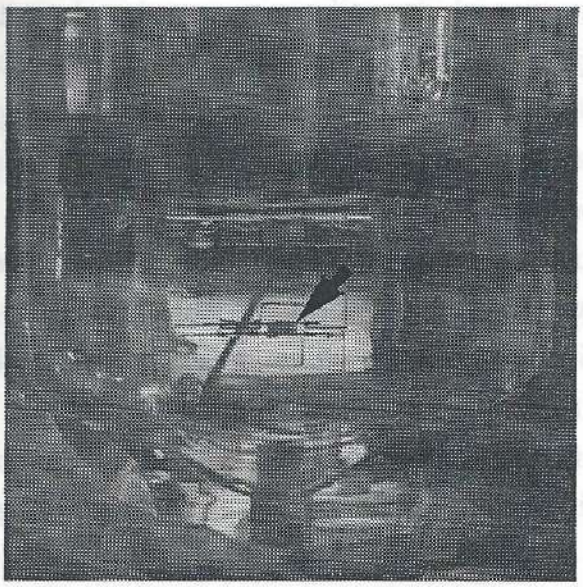


Blokschema 1: schematische voorstelling van de meetopstelling.



Figuur 6.2 : Reële en schematische voorstelling van de essentiele delen van de meetopstelling.

Figuur 6.2 geeft de essentiële onderdelen van de opstelling weer enerzijds schematisch en anderzijds reëel. Duidelijk herkenbaar zijn de excitator met rechts erop gemonteerd de verplaatsingsopnemer (naast de Mona Lisa), en centraal de krachtopnemer met daaronder de specimenhouders met bloedvat. Het orgaanbad zelf rust op een electromagneet die gemonteerd werd op translatietafels. In figuur 6.3 staat een afbeelding van de centrale specimen-eenheid met het bloedvat (pijltje) in het orgaanbad.



Figuur 6.3 : Centrale specimeneenheid met bloedvat (pijltje).

In essentie wordt de kracht-lengte relatie veroorzaakt door de volgende aaneenschakeling

van gebeurtenissen (zie ook blokschema 1):

Bij het starten van een meting, produceert de functiegenerator een driehoeksignaal, met gewenste amplitude en frequentie. Dit signaal wordt naar een electromagnetische excitator gestuurd, die het elektrische signaal omzet in een mechanische beweging van de bovenste arm van de opstelling, waardoor het bloedvat uitgerokken wordt. De kracht en verplaatsing worden respectievelijk geregistreerd door een lineaire verplaatsingsopnemer en een krachtopnemer. Na versterking worden beide meetsignalen naar een computer doorgestuurd, die deze verwerkt en in een formaat wegschrijft dat rechtstreeks bruikbaar is door het minimalisatieprogramma.

In het volgende deel worden de verschillende onderdelen van de opstelling toegelicht waarbij de volgorde, zoals terug te vinden is op blokschema 1, wordt gevolgd.

6.4 COMPUTER GESTUURDE MEETAPPARATUUR - BESCHRIJVING.

Eén van de vooropgestelde doelen bij het bouwen van de opstelling was dat de meting zo automatisch mogelijk zou kunnen verlopen. Dit houdt in dat een computer naast het registreren en verwerken van de metingen afkomstig van de kracht en lengteopnemers, eveneens de verplaatsing zou sturen, ten einde een zeer reproduceerbare verlenging te kunnen verkrijgen tijdens opeenvolgende metingen.
Bij de ontwikkeling van de softwareprogramma's voor het uitvoeren van deze taak werd echter geconstateerd dat de ADDA (analoog-digitaal-digitaal-analoog) computerkaart, die instaat voor het omzetten van analoge in digitale signalen en omgekeerd, deze taak niet kon vervullen. Bijgevolg werd een semi automatische oplossing nagestreefd. Hierbij wordt enerzijds het binnenlezen van de meetsignalen door de computer verricht, terwijl anderzijds een functiegenerator, getriggerd door de computer, het eigenlijke analoge driehoeksignaal voortbrengt dat aan de bron ligt voor de lineaire verplaatsing.
Dus zowel de frequentie, de amplitude als het startmoment worden door de computer geregeld, evenals het binnenlezen en verwerken van de meetsignalen; enkel het analoge driehoeksignaal wordt door een externe generator voortgebracht.

De semi automatische werking bestaat voornamelijk uit vier onderdelen:

1. de computer geeft het start-signaal (trigger) aan de generator, door het genereren van een stapfunctie aan een externe ingang van de generator. De generator produceert hierop een driehoek-signaal met een amplitude van 10V.

2. de computer berekent de gewenste frequentie van het driehoeksignaal, al naargelang de reksnelheid opgelegd door de experimentator. Vervolgens levert de computer een spanning aan een externe ingang van de generator die door deze omgezet wordt in een frequentie, rekening houdend met een vaste omzettingsformule.
3. de vaste uitgangsspanning van de generator van 10 V wordt gereduceerd tot een kleinere spanning, die overeenkomt met een door de experimentator bepaalde hoeveelheid rek die aan het bloedvat mag opgelegd worden. Deze reductie wordt door een "multiplying DAC" chip geregeld, digitaal gestuurd door de computer. Deze 8-Bit multiplying DAC (Digital/Analog Converter) bestaat uit een serie geschakelde weerstanden die een ingangsspanning kunnen verminderen van een gegeven maximale spanning tot nul, en dit in 256 stappen.
4. De computer leest na het starten van de meting de versterkte spanningen afkomstig van de kracht- en verplaatsingsopnemers binnen en verwerkt deze gegevens.

Op deze wijze kunnen eens het bloedvat gemonteerd is in het orgaanbad, metingen van achter het toetsenbord herhaaldelijk uitgevoerd worden.
In een volgend deel worden de afzonderlijke componenten van de meetopstelling besproken, inclusief het computerprogramma dat de meting volstrekt automatisch laat uitvoeren.

6.4.1. Computer IBM PS/2.

A. Kenmerken

Het centrale niet-mechanische deel van de meetopstelling is de personal computer IBM PS/2 serie 80 (16 MHz) met de volgende kenmerken :

Hoofd processor : Intel 80386
Co-processor : Intel 80287
640 RAM geheugen, 1.4 MB uitgebreid geheugen.
Computing Index relatief tov IBM/XT : 17.6
Disk Index relatief tov IBM/XT : 3.2
Performance Index relatief tov IBM/XT : 12.8
Micro channel bus.
ADDA kaart MC-MIO-16L-25

DOS versie 3.3

De soft-ware die deze computer in staat stelt om de ADDA kaart te sturen is het softwarepakket Labwindows.

B. Labwindows

Het software-pakket LABWINDOWS 1.0 werd gebruikt om een programma te ontwikkelen dat met behulp van de ADDA kaart de experimentele opstelling stuurt en de meetsignalen inleest en verwerkt. De programmeertaal die LABWINDOWS gebruikt is een specifieke taal die veel wegheeft van Quick Basic of C, maar desalniettemin vele eigen notaties en schrijfwijzen bezit.

De ontwikkeling van het meetprogramma dat door ons speciaal ontwikkeld werd om de opstelling te sturen heeft verschillende stadia doorlopen waarbij telkens diverse verbeteringen aangebracht werden, zodat na enige tijd een goed werkend, gebruiksvriendelijk programma ontstond, dat met bijgaande apparatuur, spannings-rek metingen kan uitvoeren aan bloedvaten.

Schematisch overzicht.

Het meetprogramma werkt volgens het volgende schema:

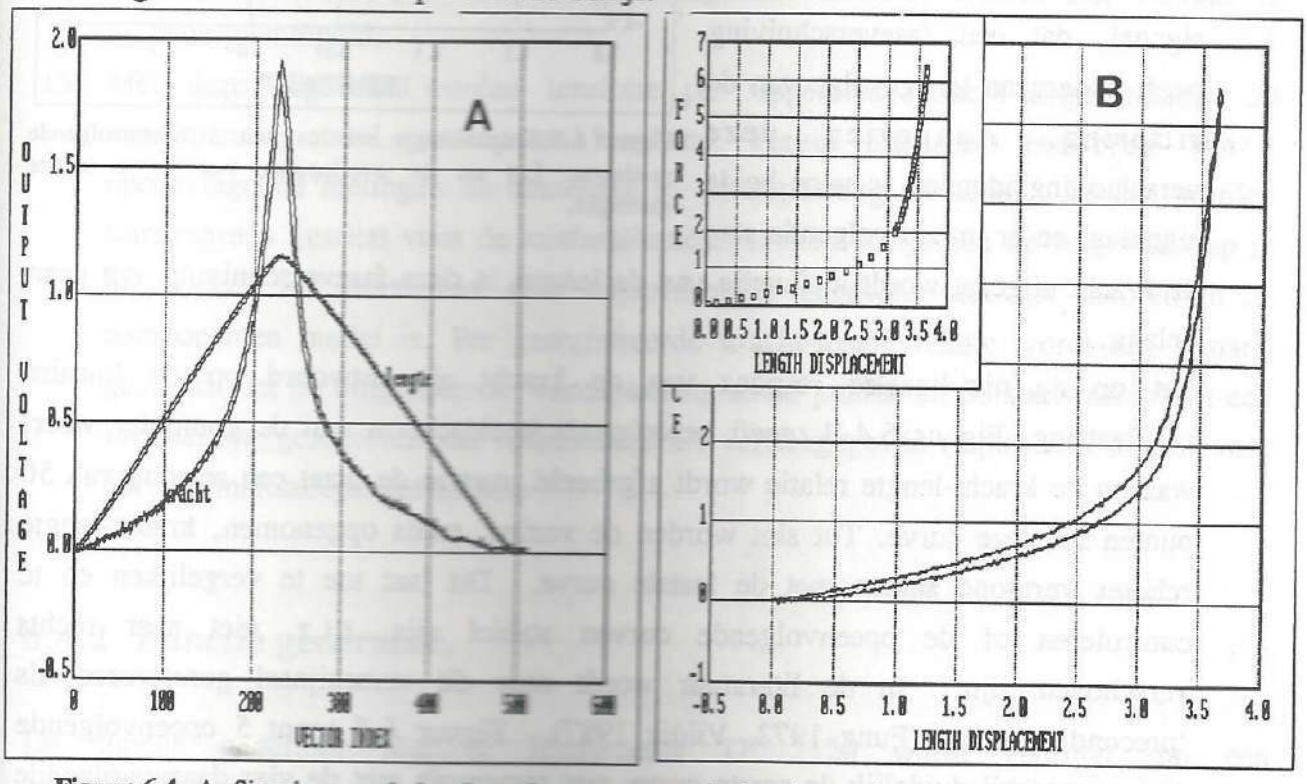
1. Het programma begint met op te vragen aan de experimentator hoeveel de beginafstand l_0 bedraagt tussen de ophangdraden waar het bloedvat op hangt, overeenkomstig de toestand waarbij er nog net geen uitrekking is.
2. Vervolgens wordt aan de experimentator gevraagd hoeveel rek en reksnelheid gewenst zijn (bv. rek: 50% en reksnelheid: 10%/s).
3. Met deze gegevens berekent het programma de absolute rek en reksnelheid.
4. Vervolgens bepaalt het programma de digitale code nodig om de gewenste spanningsverdeling te bekomen die het generator signaal van 10V omvormt tot een kleinere amplitude.
5. Het programma berekent daarnaast de spanning nodig om de generator in te stellen op een frequentie overeenkomend met de gewenste rek-snelheid. Aangezien de absolute verplaatsing en de snelheid opgegeven zijn, is de frequentie hieruit direct af te leiden. Hiervoor wordt de volgende formule gebruikt eigen aan de generator:

$$\text{Freq} = F_o(1 + k_2 V_p)$$

waarbij : Freq = de gewenste frequentie
F_o = een manueel ingestelde constante
k_2 = 0.1 Hz/V
V_p = de extern (door de computer) opgelegde spanning

Op deze wijze kan de gewenste rek-snelheid bereikt worden wanneer de computer V_p levert aan een externe ingang van de generator.

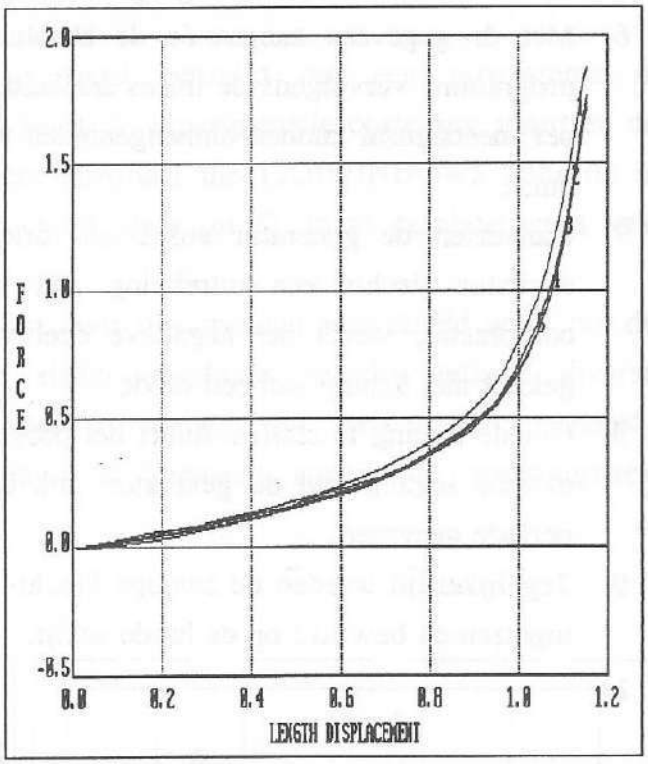
6. Met de gegevens aangaande de absolute duur van de verplaatsing berekent het programma vervolgens de inlees snelheid (sampling rate) zodat er steeds 512 punten per meetsignaal kunnen binnengenomen worden, onafgezien van hoe lang de meting duurt.
7. Aangezien de generator enkel een driehoeksignaal geeft startend bij nul en de excitator slechts een uitrekking van het specimen mag veroorzaken en geen compressie, wordt het negatieve deel van de uitgangsspanning van de generator geklipt met behulp van een diode.
8. Om de meting te starten stuurt het programma vervolgens een triggerpuls naar een externe ingang van de generator, die daarop het driehoek signaal gedurende één periode genereert.
9. Tegelijkertijd worden de analoge kracht- en verplaatsingssignalen door de computer ingelzen en bewaard op de harde schijf.



Figuur 6.4: A. Signalen van de kracht en lengteopnemers in functie van de vectorindex of, equivalent ermee, de tijd. B. Kracht-lengte relatie met in de inset de selectie van 50 punten.

10. Een digitale laagdoorlaat filter (Butterwordth) met afsnijfrequentie 50 Hz en orde 2 wordt gebruikt om de hoogfrequente ruis weg te werken. Dit omdat per meetsignaal 512 punten worden binnengelezen en er nadien 50 punten uit gedistileerd dienen te worden. Zonder ruiszuivering kan dit vertekenende resultaten opleveren. Tevens is de enige ruis die mogelijk eigen zou kunnen zijn aan het sample laagfrequent (< < 50 Hz) en deze mag niet weggewerkt worden. (bv. spontane spiercontracties)

11. Op het beeldscherm van de computer verschijnen de zopas opgenomen signalen voor de kracht en de lengte onder de vorm van vectoren, afgebeeld in functie van hun vectorindex (0 tot 512), wat equivalent is aan de tijd, gezien de constante sampleinleessnelheid. Eveneens worden de gefilterde signalen weergegeven. Figuur 6.4-A. is een replica van het beeldscherm. Het meest linkse van beide signalen is het gefilterde signaal, dat een faseverschuiving heeft ondergaan ten gevolge van de filtering. Aangezien deze verschuiving identiek is voor beide signalen, en er in een volgende stap de kracht uitgezet wordt in functie van de lengte, is deze faseverschuiving van geen belang.



Figuur 6.5:Kracht-lengte relaties van 5 opeenvolgende metingen. Let op de overlapping van de 4 laatste metingen.

Let op de niet-lineaire respons van de kracht als antwoord op de lineaire verplaatsing. Figuur 6.4-B. geeft hetvolgende beeldscherm van de computer weer, waarop de kracht-lengte relatie wordt afgebeeld, met in de inzet een selectie van 50 punten uit deze curve. Tot slot worden de vorige, reeds opgenomen, kracht-lengte relaties vertoond samen met de laatste curve. Dit laat toe te vergelijken en te controleren of de opeenvolgende curven stabiel zijn, t.t.z. niet naar rechts verschoven zijn. In de literatuur wordt naar dit verschijnsel gerefereerd als 'preconditioneren' (Fung 1972, Viidik 1987). Figuur 6.5 toont 5 opeenvolgende curven waarbij duidelijk de eerste curve niet samenvalt met de vier daaropvolgende relaties. Dit heeft te maken met het verbreken van bepaalde verbindingen in het

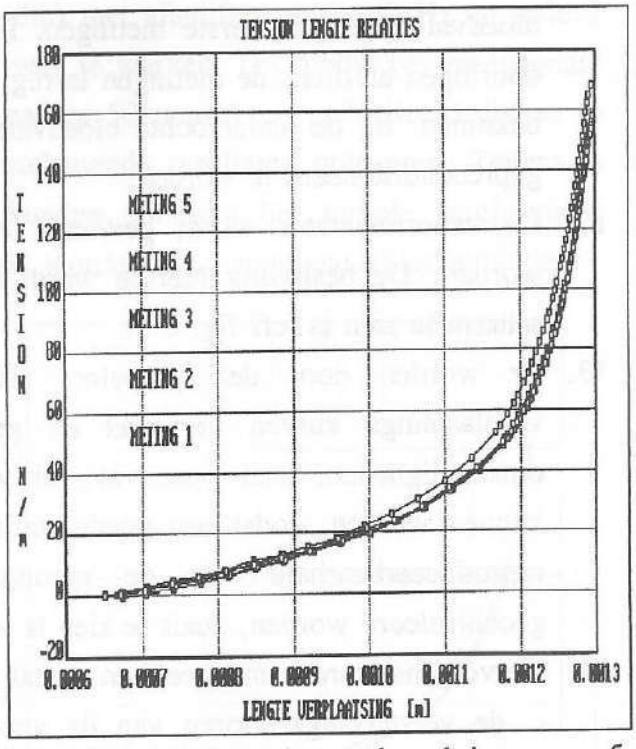
bloedvat tijdens de eerste metingen. Het is aangewezen om eerst enkele kurven te doorlopen alvorens de metingen te registreren ten einde reproduceerbare metingen te bekomen. Bij de onderzochte bloedvaten diende er meestal slechts één a twee maal gepreconditioneerd te worden.

12. De experimentator wordt gevraagd of er een nieuwe meting dient verricht te worden. De beslissing hiertoe wordt direct beïnvloed door wat op het computerscherm te zien is (cfr fig. 6.6).
13. Er worden door de computer, indien gewenst, vijf opeenvolgende kracht-verplaatsings kurven verwerkt en gestockeerd. Dit maakt dat onder dezelfde omstandigheden, snel opeenvolgend vijf identieke kracht-lengte relaties gemeten kunnen worden, zodat een goede statistische behandeling achteraf mogelijk is. De reproduceerbaarheid van de metingen kan op deze wijze eveneens goed gecontroleerd worden, zoals te zien is op figuur 6.5 of figuur 6.6.
14. Vervolgens worden manueel een aantal externe parameters ingevoerd, namelijk
    - de versterkingsfactoren van de versterkers voor de signalen afkomstig van de lengte- en krachtopnemers.
    - de gevoeligheidsfactoren van de lengte- en krachtopnemers.
    - de macroscopische afmetingen van het sample.
    - temperatuur en pH van de physiologische vloeistof waarin het sample is ondergedompeld.
15. Met deze gegevens worden tenslotte per opgemeten kracht-lengte relatie, 50 wandspanning-straal puntenparen berekend. Figuur 6.6 geeft een beeld van 5 opeenvolgende metingen na omzetting in wandspanning en straal. Tevens worden startwaarden geschat voor de minimalisatieparameters aangezien de volgende stap in het proces het fitten van deze experimentele gegevens aan het theoretisch 2-componenten model is. Per geregistreerde kracht-lengte relatie wordt een bestand gemaakt met de omgerekende wandspanning-straal punten en de startwaarden in een formaat weggeschreven dat rechtstreeks als vertrekgegeven (input) kan dienen voor het minimalisatiepakket Minuit.

6.4.2 Functie generator.

De functie generator Marconi Instruments TF 2120 wordt gebruikt om een driehoekssignaal te genereren voor de excitator die dit omzet in een mechanische lineaire verplaatsing. Het frequentiebereik gaat van 0.001 Hz tot 10 kHz. Er wordt slechts bij

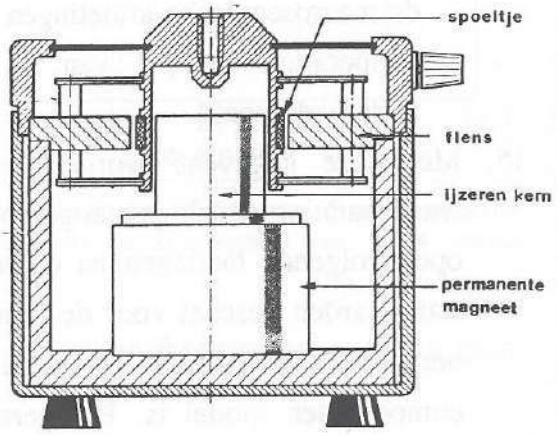
lage frequenties (0.1 - 1 Hz) gemeten. Na aanpassing van de amplitude wordt dit signaal doorgegeven aan de excitator. Omdat de generator niet genoeg vermogen kan leveren om de excitator een mechanische beweging te laten uitvoeren identisch aan het opgelegde signaal, wordt het signaal eerst via een servoversterker gestuurd, waarbij het signaal van de verplaatsingsopnemer aan de ingang van deze versterker teruggekoppeld wordt ten einde een lineaire verplaatsing van de specimenhouder te bekomen.



Figuur 6.6: Wandspanning-straal relaties van 5 opeenvolgende metingen.

6.4.3 Trillings excitator.

Om het electrisch signaal van de generator om te zetten in een mechanische beweging, wordt gebruik gemaakt van een excitator type Brüel and Kjaer 4809, waarvan de inwendige constructie getoond wordt in figuur 6.7.
Op een permanente magneet bevindt zich een cilindervormige ijzerkern. Rond deze kern is een ijzeren flens geplaatst die verbonden is met de andere pool van de permanente magneet. In de op deze wijze ontstane circulaire luchtspleet heerst een radiaal symmetrisch magnetisch veld.



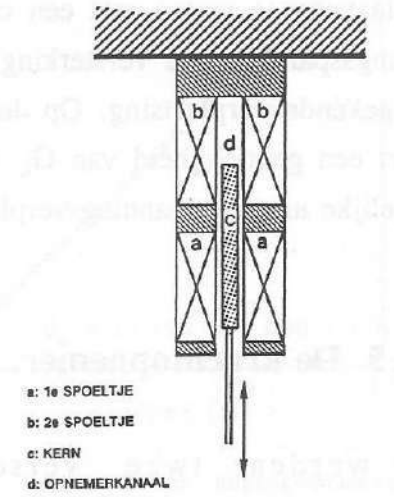
Figuur 6.7: Trillingsexcitator.

In de luchtspleet, die ongeveer 1.5 mm breed is, bevindt zich een solenoide, zodanig geplaatst dat de normaal op het circeloppervlak van de draadwindingen samen valt met de symmetrie-as van het magnetisch veld. De inductie van het magnetisch veld op de plaats van de draad windingen bedraagt ongeveer 1 Tesla. De draadwindingen zijn bevestigd op een holle cilinder, die aan één zijde afgesloten is door het vibratie-platform. De werking steunt op het principe van de magnetische kracht op een stroomvoerende geleider.
De maximale kracht die de excitator kan leveren bedraagt 44.5 N, en het bereik van de excitator is 4 mm bij de (trage) frequenties waarbij gemeten wordt. Dit volstaat ruim om

het specimen de nodige rek te geven. De resonantiefrequentie is 20 kHz bij onbelaste tafel.

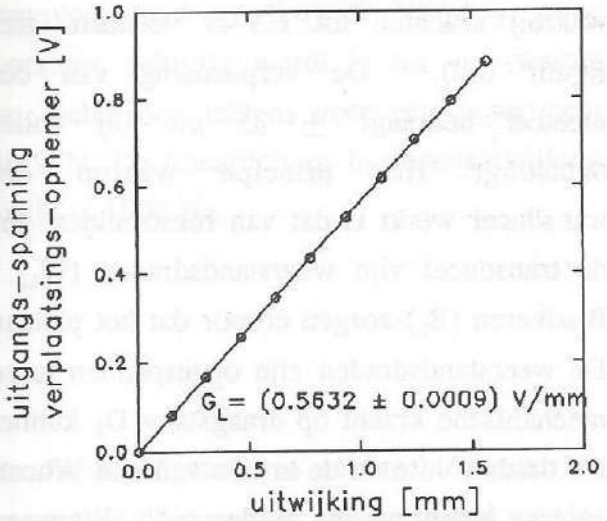
6.4.4 Verplaatsingsopnemer.

De verplaatsingsopnemer (LVDT) van Hottinger Baldwin type W10 K, bestaat uit een ferromagnetische kern die vast verbonden is aan de bewegende as die de bovenste ophangstaaf, waaraan het bloedvat hangt, doet op en neer gaan. De huls waarin zich twee spoeltjes bevinden is bevestigd aan de buitenkant van de excitator, zoals geillustreerd op figuur 6.2. In figuur 6.8 staat een schematische voorstelling. Wanneer de kern verplaatst wordt, zal de zelfinductie van het ene spoeltje dalen en van het andere spoeltje stijgen.



Figuur 6.8: Verplaatsingsopnemer.

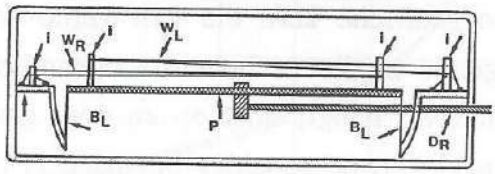
De twee spoeltjes vormen twee armen van een impedantie brug, die vervolledigd wordt door twee precisieweerstanden in de meetversterker (Hottinger Baldwin type KWS 3071). De brug wordt gevoed met een wisselspanning van 5 Khz. Wordt de uitgangsspanning van de brug voor de meting afgesteld op nul, dan krijgen we een signaal dat een maat is voor de verplaatsing van de bovenste arm van de beweegbare ophanging van het sample. Aangezien de draaggolf een wisselspanning is, is de uitgangsspanning eveneens een wisselspanning die door de verandering van inductie gemoduleerd is in amplitude. In de meetversterker wordt deze gemoduleerde wisselspanning versterkt en door een laagdoorlaatfilter gestuurd zodat we aan de uitgang een veranderlijke gelijkspanning krijgen die evenredig is met de verplaatsing van de kern. De gevoeligheid van deze opnemer wordt opgegeven door de fabrikant en bedraagt 103.1 mV/mm, terwijl

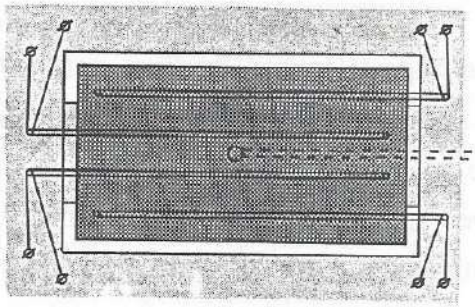


Figuur 6.9: Relatie tussen de uitgangsspanning en de uitwijking van de verplaatsingsopnemer.

zijn bereik 10 mm is. De lineariteit en hysteresis afwijking bedraagt minder dan 0.2% van de maximale uitwijking.
Er werd telkens voor een reeks experimenten opnieuw gekalibreerd, door een externe verplaatsing te meten met een cathetometer met een nauwkeurigheid van 0.01 mm. De uitgangsspanning, na versterking met de meetversterker wordt vervolgens gemeten voor een gekende verplaatsing. Op deze punten wordt een lineaire regressie uitgevoerd en dit levert een gevoeligheid van G_L = (0.5585 ± 0.0017) V/mm op. Figuur 6.9 toont een dergelijke uitgangsspanning-verplaatsing relatie.

6.4.5 De krachtopnemer.

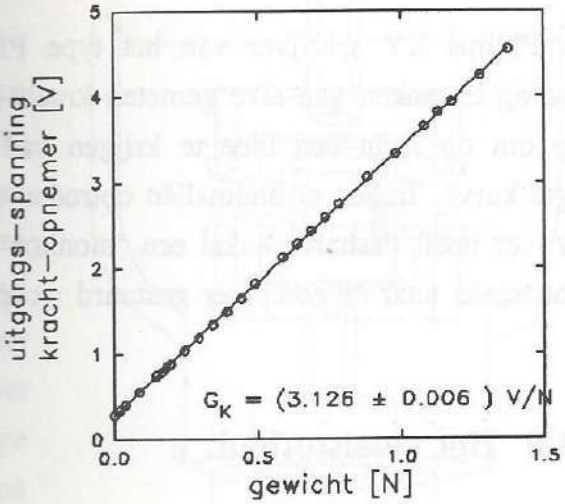




Figuur 6.10: Zij- en bovenaanzicht van de krachtopnemer type Swema.

Er werden twee verschillende krachtopnemners gebruikt afhankelijk van de gevoeligheid en het bereik dat nodig was voor de metingen. Enerzijds wordt een transducer van het type Swema Dynamometer UFI gebruikt voor metingen waarbij krachten tot 1.5 N voorstaan (zie figuur 6.2). De verplaatsing van de meetcel bedraagt ± 35 μm bij volle belasting. Het principe waarop de transducer werkt is dat van rekstrookjes. In de transducer zijn weerstandsdraden (W_L) gespannen zoals aangetoond op figuur 6.10. Bladveren (B_L) zorgen ervoor dat het plateau (P) enkel in de zijdelingse richting beweegt. De weerstandsdraden zijn opgespannen tussen isolatiesteunen (i). Onder invloed van een mechanische kracht op draagstang D_R kunnen deze weerstandsdraden uitgerokken worden. De draden vormen de armen van een Wheatstone-brug, die in evenwicht is indien er geen externe kracht aan de draden trekt. Wanneer de draden uitgerokken worden dan verandert de uitgangsspanning van de brug, en deze spanning is recht evenredig met de opgelegde kracht. Via een brugversterker (instelbaar op x1 of x10) wordt het signaal doorgestuurd naar een tweede versterker. De gevoeligheid van de krachtopnemer bedraagt: G_K = (3.15363 ± 0.00014) V/N. Om afwijkingen hiervan te kunnen nagaan wordt telkens voor een reeks metingen de transducer gecalibreerd. Dit gebeurt met behulp van gekende gewichtjes, die bij belasting van de krachtopnemer een zekere uitgangsspanning geven. Op deze punten wordt vervolgens een lineaire regressie toegepast, zie figuur 6.11. De

lineariteitsafwijking bedraagt 0.2% VS (van de volle schaal) en de hysteresisafwijking is 0.5% VS. De resonantiefrequentie is 200 Hz, en de temperatuurscoëfficiënt bedraagt 0.5% VS/10^{0}C.



Figuur 6.11 : Relatie tussen uitgangsspanning en belasting van de krachttransducer.

Voor metingen waarbij grotere krachten gemeten worden, wordt gebruik gemaakt van een piëzoresistieve krachtopnemer, van het type Sensotec 31. De verplaatsing bedraagt 4 μm bij volle belasting, van 0.5 kg. Deze opnemer is gebaseerd op het gebruik van halfgeleiders als rekstrookjes. Vervorming van het halfgeleidermateriaal heeft een verandering in interatomaire afstanden tot gevolg en dit resulteert in een andere bandenstructuur. De verandering in aantal ladingsdragers die hiermee gepaard gaat, leidt tot een weerstandsverandering, die gemeten kan worden. Een van de nadelen van een dergelijke krachtopnemer is zijn temperatuursgevoeligheid ($\pm$ 0.015% VS/ ^{0}C), maar aangezien de opnemer steeds bij kamertemperatuur gebruikt wordt is dit van weinig belang. De kalibratiefactor van deze opnemer, welke ook telkens voor een experiment werd bepaald, bedraagt: G_k=(116.84 $\pm$ 0.21)mV/N. De lineariteit en hysteresisafwijking bedragen $\pm$ 0.20% VS, en de resonantiefrequentie is 1000 Hz.

6.4.6 Differentiaalversterkers.

De differentiaalversterkers die gebruikt worden om het signaal van de krachtopnemer en de verplaatsingsopnemer te versterken alvorens ze naar de computer doorgestuurd worden zijn van het type HP 8875A. Ze worden meestal gebruikt met een versterkingsfactor 3x tot 10x. Ook deze versterkers worden voor een reeks metingen steeds gecalibreerd, met behulp van een ijk-spannings-bron.

6.4.7 XY schrijver.

Een Philips XY schrijver van het type PM 8120 wordt gebruikt om een "real time" tekening te maken van elke gemeten kracht-lengte relatie. Deze grafieken zijn slechts een hulp om op zicht een idee te krijgen van de degelijkheid van een uitgevoerde kracht lengte kurve. Indien er anomaliën optreden dan kan hierop vlug gereageerd worden. Deze schrijver heeft derhalve enkel een 'monitor' functie, aangezien de kracht lengte metingen rechtstreeks naar de computer gestuurd worden.

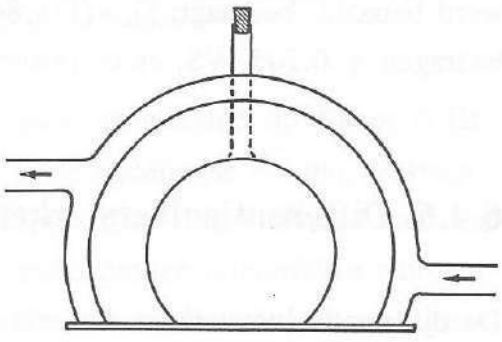
6.4.8 Het vloeistofbad.

Het vloeistofbad is een glazen constructie die speciaal ontworpen werd voor deze opstelling.

Kenmerken van de container zijn

1) het kan een fysiologische oplossing bevatten
2) aan één zijde is een vlakke wand
3) aan de onderzijde kan een vlies gespannen worden
4) er is een dubbele wand aanwezig om temperatuurregeling toe te laten.

Dit heeft geresulteerd in het ontwerp zoals afgebeeld in bovenaanzicht op figuur 6.12.

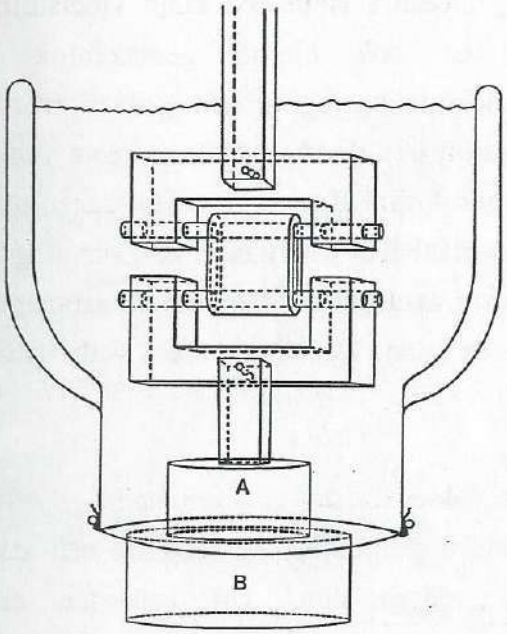


Figuur 6.12 : Bovenaanzicht van het orgaanbad.

De wateroplossing waarmee het vloeistofbad gevuld wordt is de physiologische Ringer-Krebs oplossing waarvan de chemische samenstelling luidt: (concentraties in mM); NaCl : 118, KCl : 4.7, $MgSO_4$: 1.2, KH_2PO_4 : 1.2, $CaCl_2.6H_2O$: 1.25, $NaHCO_3$: 25, Glucose : 4.5.
Deze oplossing wordt doorborreld met carbogeen gas (95% O_2, 5% CO_2) en op een temperatuur van 37°C gehouden, zodat zoveel mogelijk het natuurlijk milieu van het bloedvat nagebootst wordt.
De vlakke wand is nodig om met een cathetometer nauwkeurig en zonder afbuigingsfouten, de dimensies van het bloedvat in het orgaanbad te meten. Het vlies komt later aan bod.

6.5 DE BEVESTIGING VAN HET BLOEDVAT.

Bij de montering van de kleine bloedvaten (dimensies van de binnendiameter: ± 1.5 mm, wanddikte: 0.25mm) is het belangrijk in het oog te houden dat er een minimum aan manipulaties buiten en binnen het vloeistofbad dienen verricht te worden. Immers, een verkeerde handeling kan gemakkelijk het bloedvat te ver uitrekken en het dientengevolge onherroepelijk beschadigen. Vandaar dat er na enige tijd experimenteren een methode gevonden werd waarbij er een minimum aan handelingen gedaan moet worden om het vers gedisseceerde bloedvat te monteren in de meetopstelling.



Figuur 6.13: Orgaanbad met bloedvathouders en onderaan het vlies en de electromagneet.

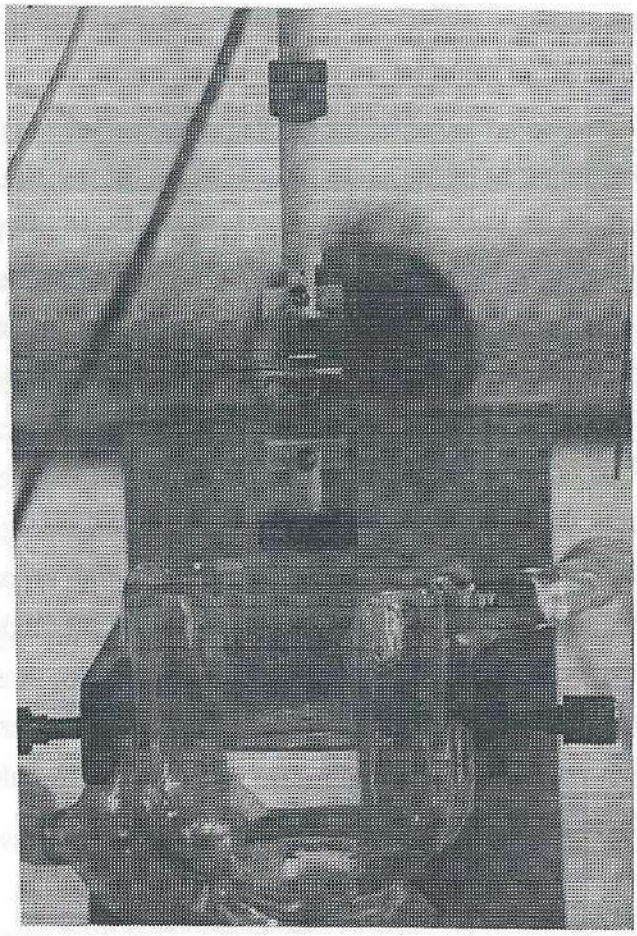
In figuur 6.13 wordt het orgaanbad in zijn geheel getoond, met de twee U-vormige houders.

Met behulp van boortjes van 0.4 mm werden twee gaatjes geboord nabij het bovenvlak van beide houders. De boortjes zelf, die makkelijk in en uit de gaatjes gaan, worden gebruikt om het bloedvat op te hangen. Vervolgens wordt het geheel bestaande uit (zie ook figuur 6.14) -van boven naar onder-een draagstang, de bovenste houder, het bloedvat, de onderste houder en een draagstang met onderaan een ferromagneet (8.5 g), in het vloeistofbad gebracht. Hierbij wordt de bovenste draagstang eenvoudig vastgemaakt via een inschuifsysteem aan een draagstang die met de krachtopnemer verbonden is. Dit stadium is afgebeeld op figuur 6.14. Het vloeistofbad dat op een statief staat, wordt omhoog gebracht tot de ferromagneet rust op de onderzijde van het vloeistofbad. Deze onderkant bestaat uit een dun vlies gemaakt van vinyl, dat is opgespannen zoals bij een trommel. Het orgaanbad steunt met dit vlies op een electromagneet, zoals afgebeeld op figuur 6.13.(B) Wanneer de experimentator deze electromagneet activeert, wordt de onderzijde van de specimenhouder (i.e. de ferromagneet) vastgeklonken, zonder dat er iets verschoven of verplaatst wordt in het orgaanbad. Deze werkwijze laat toe een minimum aan handelingen te verrichten om het bloedvat te monteren in het vloeistofbad. De electromagneet werd gekozen omdat het manueel vastvijzen van de onderste houder

A

erg moeilijk is in een klein vloeistofbad, en er ook hierbij gemakkelijk een verkeerde beweging kan gedaan worden, waarbij het bloedvat plots extreem ver zou uitgerokken kunnen worden. Een ander materiaal dan vinyl is te dik om nog een goede aantrekking van de electromagneet toe te laten. Het dient tevens waterdicht te zijn.

Het vloeistofbad is gemonteerd op twee translatie tafeltjes, die zelf op een statief gemonteerd zijn. Dit laat toe enige korrecties van uitlijning uit te voeren eens het bloedvat ter plaatse is gebracht. Het geheel is dan nog eens gemonteerd op een platform dat met trillingsdempende poten op een zware marmeren tafel staat, ten einde de trillingen van de omgeving zoveel mogelijk te vermijden.



Figuur 6.14: Momentopname uit de montering van het bloedvat in het orgaanbad, net voor het bad omhooggebracht wordt.

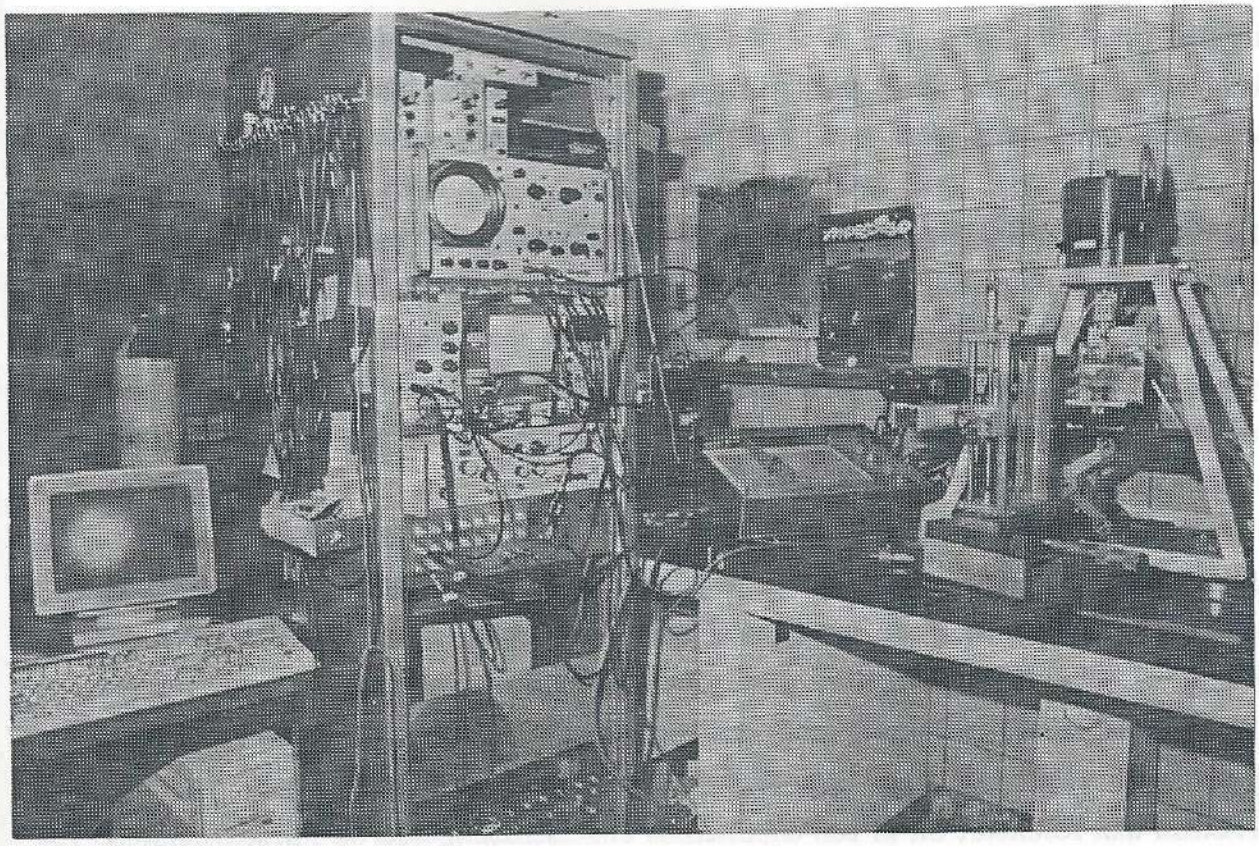
In figuur 6.15 wordt het geheel van de opstelling getoond met links de computer, in het midden de electronische apparatuur en rechts de meeteenheid op het trillingsvrij statief. Voor het statief staat de cathetometer waarmee de afstand tussen de ophangstaven wordt opgemeten.

6.6 VERLOOP VAN EEN EXPERIMENT.

Hier volgt nu een korte chronologische beschrijving van een experiment.

Tijdens de voorbereiding, daags voor het experiment, worden de diverse transducers en versterkers geijkt, na een ruime opwarmingsperiode.

Het eigenlijke experiment vangt aan met de dissectie van het te onderzoeken bloedvat. Het is nodig dat bij dergelijke metingen het materiaal zo vers mogelijk is om geen



Figuur 6.15: Overzichtsfoto van de experimentele meetopstelling.

artefacten te meten ten gevolge van post-mortem degeneratie van het biologisch weefsel. Eens een stuk bloedvat van ongeveer 20 mm verwijderd is uit het cadaver, (de proefdieren worden steeds voor het experiment verdoofd en pijnloos gedood), dient het bloedvat zuiver gemaakt te worden, wat betekent dat alle los aanhangend materiaal dient verwijderd te worden.

Vervolgens wordt een stukje van ongeveer 4 mm afgesneden waarvan de dimensies nauwkeurig worden gemeten door middel van een meetbinoculair (Type Wild M5 met Wild Heerbrugg Sensor) die een nauwkeurigheid heeft varierend van 0.01 tot 0.05 mm bij 6x, 12x en 25x.

Als derde stap wordt het bloedvat, buiten het orgaanbad, bevestigd aan de ophangboren die afgebeeld zijn op figuur 6.1. Het geheel van 'bovenste staaf-bloedvat-onderste staaf met ferromagneet' wordt vervolgens in het orgaanbad gebracht waar het boven- en onderaan vastgemaakt wordt, waarbij een minimum aan manipulatie nodig is dank zij het electromagneetsysteem. Om een equilibriumtoestand te bereiken laten we het bloedvat gedurende 30 minuten rusten. Onderwijl wordt van het resterende stuk bloedvat een klein

ringetje gesneden, dat gebruikt wordt om de wanddikte te bepalen. Hiertoe wordt het ringetje plat gelegd zodat de wanddikte gemeten kan worden met de binoculair met Wild Sensor. Meerdere metingen worden gedaan om enige inhomogeniteiten uit te middelen.

De volgende stap uit het experiment bestaat erin dat, na de equilibriumperiode, het hierboven beschreven computerprogramma opgestart wordt door de experimentator.
Een eerste vraag die door het programma gesteld wordt, betreft de afstand l_0 tussen de ophangboren waarbij het bloedvat nog net niet uitgerokken is. Deze afstand wordt gemeten met een cathetometer (zie fig. 6.16) die doorheen de vlakke wand van het orgaanbad deze afstand bepaalt tot op 0.01 mm nauwkeurig.
Vervolgens vraagt de computer aan de experimentator om de gewenste hoeveelheid rek en reksnelheid op te geven voor het uitrekken van het bloedvat. Doorgaans wordt de rek geleidelijk aan opgevoerd tijdens opeenvolgende uitrekkingen om uiteindelijk een rek van ongeveer 80 tot 100% te bereiken. Een dergelijk grote rek is nodig omdat de wandspanning-straal curve in een lineair eindgebied dient te komen, zodat een symmetrische kromme rond de bocht bekomen wordt. Wordt hieraan niet tegemoet gekomen dan resulteert dit in een significante onderschatting van de stijfheidsbijdrage van de collageencomponent, en zijn de aanpegaste parameters niet erg betrouwbaar. Op figuur 4.1 staan metingen van Dr T Matsumoto (persoonlijke correspondentie) waarbij de druk in het bloedvat verhoogd wordt van 0 tot 33 kPa (250 mmHg). De binnenstraal neemt daarbij toe met 105%. Dit is nog volstrekt fysiologisch aanvaardbaar, want bloeddrukken van 25 cmHg (33 kPa) zijn niet zeldzaam bij hypertensieve patiënten.
De reksnelheid bedraagt steeds 9%/s, die overeenkomt met de in vivo pulsering van het bloed. Dit werd afgeleid aan de hand van metingen van Y. Tardy (1991, en persoonlijke correspondentie) waarbij in vivo bij mensen de verandering van diameter van de arteria radialis gemeten werd in functie van de tijd. Een andere bron is Fung (1972) die eveneens 9%/s als maat neemt. Desalniettemin werden er wel experimenten gedaan om de invloed na te gaan van de snelheid op de model-parameters. Hierbij kon geen verschil aangetoond worden tussen metingen gedaan bij een snelheid van 2%/s tot 15%/s.

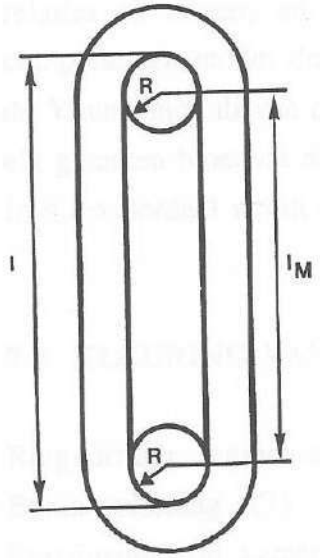
Nadat enkele kracht-lengte relaties van het bloedvat werden opgenomen, worden deze gestockeerd op de harde schijf van de computer.

Als laatste stap is er vervolgens het minimalisatieprogramma dat aan de hand van de metingen de parameters P_C, μ_a, γ_a en P_E bepaalt voor elk van de opgenomen relaties.

Na het experiment wordt het bloedvat uit het orgaanbad gehaald, en wordt het in Bouin oplossing gedaan om er achteraf histologische coupes van te maken. Deze stellen ons in staat de exacte hoeveelheden collageen en elastine in de bloedvatwand te bepalen. Dit is immers nodig om aan de hand van P_C en P_E de Young moduli E_C en E_E te berekenen. Uiteindelijk volgt dan een statistische behandeling van de modelparameters in functie van de onderzochte problematiek, zoals atherosclerose, leeftijd enz...

6.7 OMREKENING VAN KRACHT-LENGTE NAAR WANDSPANNING-STRAAL.

Tot slot dient de overgang van kracht-lengte naar wandspanning-straal nog toegelicht te worden. Er werd reeds beschreven hoe de overgang van kracht naar wandspanning geschied, en de omrekening van lengte naar straal gebeurt als volgt (figuur 6.16):



Figuur 6.16 : Zijaanzicht van het bloedvat en de staven.

Gegeven dat R de straal is van de ophangstaven, l de geregistreerde lengte tussen de staven met inbegrip ervan, l_M de lengte tussen de middelpunten van de staven en C de binnenomtrek, dan kan de straal van het bloedvat ρ_a berekend worden volgens volgende uitdrukkingen:

$$\text{binnenomtrek} \quad C_i = 2\pi\rho_a = 2l_M + 2\pi R$$

$$\text{met} \quad l_M = l - 2R \qquad (6.1)$$

$$\text{zodat} \quad \rho_a = \frac{l}{\pi} + R\left(1 - \frac{2}{\pi}\right)$$

Een nadeel dat hiermee verbonden is de bepaling van de afstand tussen de ophangdraden die overeenstemt met de begin-straal waarbij nog geen kracht te meten is. Deze straal is equivalent met de toestand waarbij het drukverschil over de wand gelijk aan nul is. De experimentator kan echter deze afstand vrij reproduceerbaar bepalen wanneer hij (met een cathetometer) in het vlak van de ophangdraden kijkt naar het specimen. Dan heeft hij een zijaanzicht zoals op figuur 6.16 en kan dan vrij nauwkeurig de afstand tussen de ophangdraden bepalen die overeenkomt met een nog net niet opgespannen zijn van het bloedvat. Deze stand valt samen met die afstand tussen de ophangstaven waarbij nog geen kracht gedetecteerd wordt door de krachtopnemer, en deze kan eveneens vrij reproduceerbaar bepaald worden indien men de gevoeligheid van de opnemer hoog instelt.

Hoofdstuk 7.

Histologische bepaling van elastine en collageen in de bloedvatwand.

7.1 INLEIDING.

De experimentele opstelling stelt ons in staat om van een bloedvat wandspanning-straal relaties te meten, en het minimalisatieprogramma berekent aan de hand van het 2-componenten model de modelparameters P_C, μ_a, γ_a, P_E. De laatste stap ter bepaling van de Young moduli van collageen en elastine bestaat uit het histologisch onderzoek dat voor elk gemeten bloedvat de wandcomponenten collageen en elastine bepaalt.
In dit onderdeel wordt de procedure weergegeven van dit histologisch onderzoek.

7.2 KLEURING VAN DE COUPES.

Ringvormige segmenten van de bloedvaten worden gedurende 24 uur gefixeerd in een Bouin-oplossing (75 ml verzadigd picrinezuur, 20 ml formaldehyde 40%, 5 ml ijsazijnzuur) bij kamertemperatuur. Daarna worden de weefselstukjes in 70 % ethanol gebracht, opgevoerd volgens het volgende vaste schema en ingebed in paraffine (Medium-Plast ® 58).
Schema : Ethanol 70%, 80%, 90% telkens 3 uur, ethanol 90 % 1 uur, ethanol 100 % twee maal 1 uur; methylbenzoaat 2 maal 2 uur; tolueen 2 maal 0.5 uur; paraffine 2 maal 2 uur; inbedding.
Aan de hand van een rotatiemicrotoom worden 5-7 μm coupes gesneden en op een draagglaasje gebracht. Vervolgens worden de coupes gekleurd volgens de Verhoeff's elastine methode. Dit gebeurt volgens de volgende procedure: Na verwijderen van de paraffine en hydratering worden de coupes gedurende 15 minuten in een oplossing van Verhoeff gebracht. (samenstelling Verhoeff's elastine oplossing : 1 g haematoxyline (Merck ®) in 22 ml absolute ethanol, 8 ml $FeCl_3$ 10%, 8 ml lugol oplossing.) De coupes

worden met water gespoeld en gedifferentieerd voor 30 seconden in 2% $FeCl_3$, opnieuw gespoeld met water en voor 5 minuten in 5% $Na_2S_2O_5$ gebracht. Nadat de coupes gespoeld zijn met lopend leidingwater worden zij gebeitst in een oplossing van 1 deel 5% fosforwolframzuur en 1 deel 5% molybdeenzuur gedurende 15 minuten. Na spoeling in water worden de coupes gedurende 3 minuten gekleurd in een anilineblauw oplossing. (samenstelling: 2.5 g anilineblauw (Merck ®) in 200 ml aqua dem., 2 ml ijsazijn.)
Vervolgens wordt gedehydrateerd in 80 en 100% ethanol, opgeklaard met Parasolven (Proran®) en tenslotte ingesloten met DePex (Gurr ®).
Met deze methode worden elastinevezels donker (zwart) gekleurd terwijl het collageen bindweefsel blauw wordt gekleurd. Het spierweefsel en de andere wandcomponenten worden niet specifiek gekleurd.

7.3 MORFOMETRIE VAN ELASTINE EN COLLAGEEN IN DE BLOEDVATWAND.

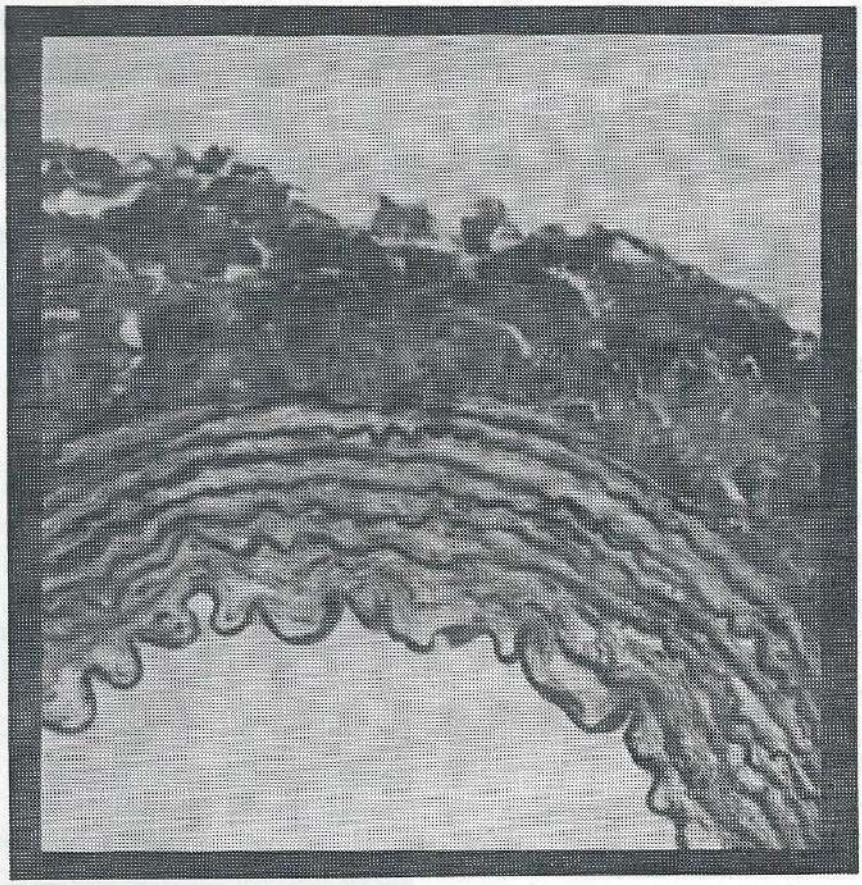
Aan de hand van de gekleurde coupes worden de procentuele hoeveelheden elastine en collageen bepaald ten opzichte van de totale hoeveelheid weefsel in de wand. Hiertoe wordt het beeldanalysesysteem SEM-IPS van Kontron ® gebruikt, aanwezig op het laboratorium voor electronenmicroscopie aan de UIA, bij Dr. W. Jacob.
Het beeld van de coupe, afkomstig van een Leitz Ortholux II microscoop, uitgerust met een Zeiss interferentiefilter met kleine bandbreedte, wordt opgenomen door een wit-zwart Newvicon TV camera MTI 68, on line verbonden met het Kontron SEM-IPS beeldverwerkingssysteem. Drie beelden van de achtergrond en van het bloedvatsegment worden opgenomen bij 650 nm, 550 nm en 490 nm en vervolgens opgeslagen in het video buffer geheugen. Na correctie voor de achtergrond en normalisatie van de kleurgefilterde beelden, worden de groene en gecombineerde rood/blauw beelden gestockeerd en tegelijkertijd afgebeeld op de video monitor. Dit beeld wordt het reële kleurbeeld genoemd.

7.3.1 Bepaling van de elastinecomponent en het referentie oppervlak.

Voor de meting van de elastine en het referentie oppervlak wordt interactief gewerkt met het beeld opgenomen met de roodfilter (650 nm), gecorrigeerd voor de achtergrond en genormaliseerd. In dit beeld hebben alle beeldpixels een grijswaarde tussen 0 (zwart) en

255 (wit).
Voor elastine dat op de histologische coupe donker gekleurd is wordt een grijswaardeband ingesteld, variërend van 0-80 tot 0-100 pixels. Telkens wordt deze selectie van grijswaarden afgebeeld op het reële kleurbeeld om aldus een interactieve evaluatie te maken van de geselecteerde grijswaarden-band. Figuur 7.1 geeft een dergelijk beeld weer. Het aantal pixels dat het best overeenkomt met de elastinecomponent wordt genoteerd.

Voor het referentieoppervlak wordt een grijswaardeband ingesteld gaande van 0-200 tot 0-230. Ook deze selectie wordt afgebeeld op het reële kleurbeeld om aldus een interactieve evaluatie mogelijk te maken. Het aantal pixels wordt genoteerd dat het best de realiteit weergeeft.



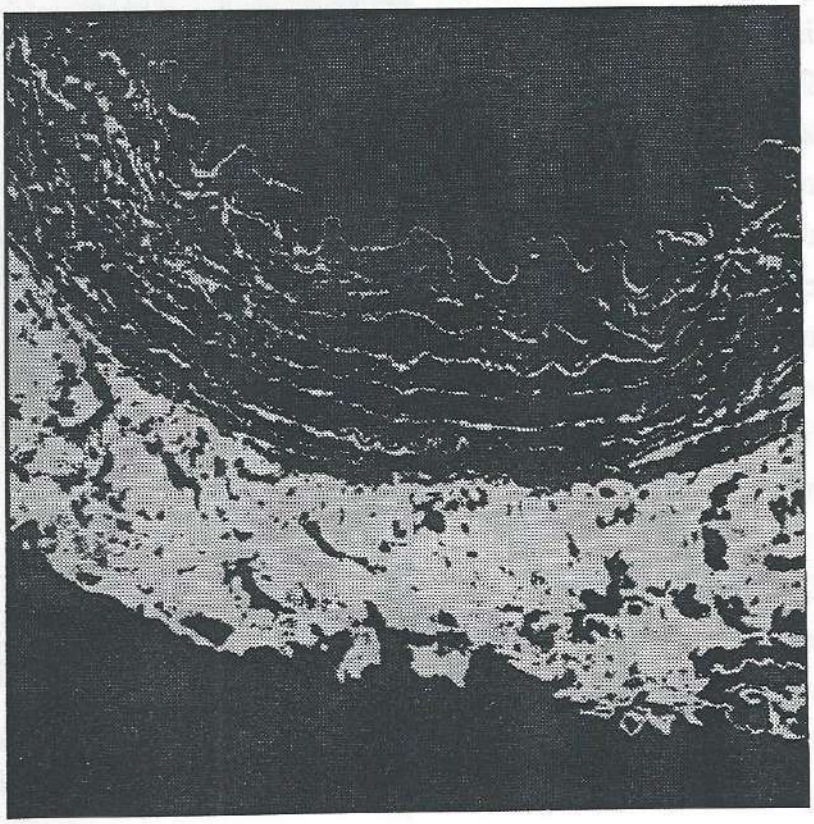
Figuur 7.1: Elastine-identificatie zoals weergegeven door het beeldverwerkingssyteem. De donkere golvende lijnen zijn de elastine platen. (Dr Van Meir, Dr. Jacob)

De verhouding van het aantal pixels dat met elastine overeenkomt ten opzichte van het aantal pixels dat het geheel markeert is de grootheid N_EA_E. Er dient wel nog opgemerkt te worden dat deze hoeveelheid N_EA_E de relatieve hoeveelheid van het drooggewicht weergeeft. De bloedvatwand bevat in vivo en in vitro 70% water, wat maakt dat we N_EA_E nog eens moeten vermenigvuldigen met 0.3. E_E wordt dan tenslotte berekend volgens $E_E = P_E / (N_EA_E \times 0.3)$.

7.3.2 Bepaling van de collageencomponent.

Voor de meting van collageen wordt interactief gewerkt met het reële kleurbeeld. De onderzoeker plaats op het beeld van het bloedvatsegment de cursor op een 25-tal punten, die beschouwd worden als collageen bindweefsel. De computer registreert dan telkens van een matrixgebied van 3x3 pixels rond het aangeduide punt de minimale en maximale grijswaarden voor de drie gefilterde beelden. Aldus wordt een grijswaardeband bekomen voor de collageencomponent in het rood-, groen- en blauwgefilterde beeld. De selectie van de pixels die simultaan binnen de drie grijswaardebanden liggen worden afgebeeld op de monitor. De onderzoeker accepteert deze selectie op voorwaarde dat een dunne collageenrand waarneembaar is naast de elastinebanden op de coupe. Dit wordt op figuur 7.2 getoond.

Het totaal aantal pixels wordt vervolgens genoteerd. Deze bewerking wordt 5 maal herhaald en is waarschijnlijk een lichte onderschatting van de reële waarde omdat enkel individuele pixels geteld worden. Bij de meting van de elastine en het referentieoppervlak wordt het aantal pixels geteld binnen een contour, zoals te zien is op foto 1.



Figuur 7.2: Selectie van de collageencomponent in de wand (verschijnt als wit). (Dr. Van Meir, Dr. Jacobs)

Uiteindelijk wordt weerom de verhouding gemaakt van het aantal pixels dat collageen vertegenwoordigt ten opzichte van het aantal pixels dat het referentieoppervlak weergeeft, wat de grootheid N_CA_C oplevert. Ook hier geldt dat we rekening moeten houden met het feit dat 70% van de wand bestaat uit water. Vandaar dat we N_CA_C nog moeten vermenigvuldigen met 0.3 om een juiste relatieve hoeveelheid collageen te bekomen in de wand. Hieruit kan dan E_C berekent worden volgens $E_C = P_C / (N_CA_C \times 0.3)$. Per segment worden meerdere metingen van N_CA_C gedaan en per coupe worden twee segmenten op dezelfde wijze gemeten.

7.4 MORFOMETRIE VAN DE BLOEDVATWANDDIKTE.

De wanddikte van de bloedvaten wordt planimetrisch gemeten. Hiertoe worden de coupes van de bloedvaten geobserveerd met een Leitz Ortholex II microscoop die uitgerust is met een tekenspiegel. De coupes worden bekeken bij een objectiefvergroting van 4x. Onder de tekenspiegel is een magnetische tablet geplaatst die verbonden is met een MOP AMDZ microprocessor van Kontron ®. Met de cursor wordt de binnen- en buitenomtrek bepaald en op twee plaatsen van de wand wordt de wanddikte gemeten. De bekomen waarden worden genoteerd. Deze metingen worden ter controle gebruikt voor de bepaling van de wanddikte welke tijdens het experiment verricht werden. Zijn te grote afwijkingen vastgesteld dan wordt de minimalisatieprocedure opnieuw gestart met de meer realistische waarde voor de wanddikte.

Hoofdstuk 8.

Atherosclerose en de stijfheid van de arteria carotis bij het konijn.

8.1 INLEIDING.

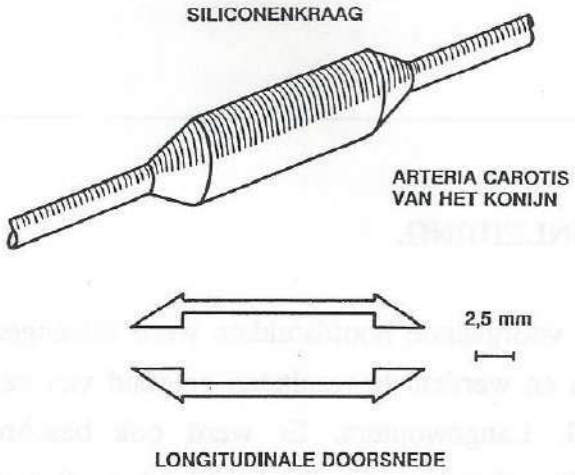
In de voorgaande hoofdstukken werd uiteengezet hoe het 2-componenten model tot stand kwam en werden de resultaten getoond van de toepassing van het model op metingen van Dr G. Langewouters. Er werd ook beschreven hoe de zelfgebouwde experimentele opstelling functioneert. Dit hoofdstuk geeft weer wat het resultaat is van rek-experimenten welke door ons uitgevoerd werden op vers gedisseceerde arteriën.
Er werd nagestreefd om bij deze metingen een zo interessant mogelijke toepassing te vinden om het model voor aan te wenden. Hiervoor werden contacten gelegd met het laboratorium voor Farmacologie onder leiding van Prof A. Herman aan de UIA, waar oa Dr. Guido De Meyer bezig was met atherosclerose verschijnselen bij de arteria carotis (halsslagader) van konijnen. Daar waar de onderzoekers van dit farmacologisch labo voornamelijk geïnteresseerd zijn in de vasculaire reactiviteit (contractie en dilatatie) van door atherosclerose aangetaste bloedvaten, zouden wij enige informatie kunnen geven betreffende de mechanische stijfheid van deze bloedvaten. Bijgevolg werden enkele normale en aangetaste bloedvaten ter onzer beschikking gesteld om rek-experimenten op uit te voeren en aldus na te gaan in hoeverre de model-parameters onderling verschillen bij beide bloedvaten.

8.2 ATHEROSCLEROSE EN NEO-INTIMA VORMING.

In hoofdstuk 5. sectie 5.4.0 werd reeds uiteengezet wat atherosclerose algemeen inhoudt. Evenwel dient er hier nog iets aan toegevoegd te worden.
In een vroeg stadium van atherosclerose is er de vorming van een intima (binnenste laag, zie hoofdstuk 1) in de arteriewand. Bij de geboorte hebben arteriën en venen bij de mens

geen intima, zodat de endothele cellen rechtstreeks op het interne elastische membraan rusten. Geleidelijk aan echter ontwikkelen zich gladde spier(achtige) cellen tussen beide lagen, welke gelegen zijn in de longitudinale richting (in contrast tot de normaal circulaire richting). Collageen- (o.a. type IV) en elastinevezels worden eveneens gesignaleerd. Het blijkt dat de vorming van deze neo-intima direct gerelateerd is met atherosclerose, als een soort 'conditio sine qua non'.

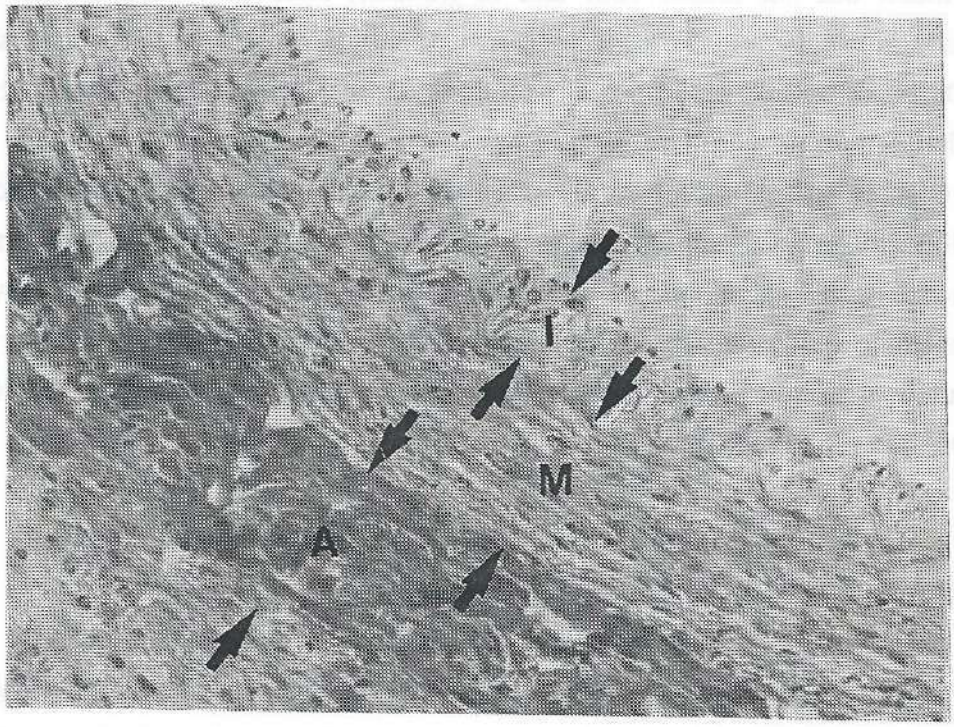
Om dit verschijnsel te onderzoeken wordt beroep gedaan op verschillende methoden die atherosclerose induceren bij proefdieren. Dit laat toe de evolutie te onderzoeken van de neo-intima vorming, en de repercuties hiervan op de vasculaire reactiviteit. De methode die op het labo van Farmacologie aan de UIA wordt toegepast, is een zeer recente techniek (Booth et al, 1989) waarbij een siliconen huls over het bloedvat geplaatst wordt over een lengte van 2 cm.



Figuur 8.1: Siliconen huls welke over de arterie geplaatst wordt.

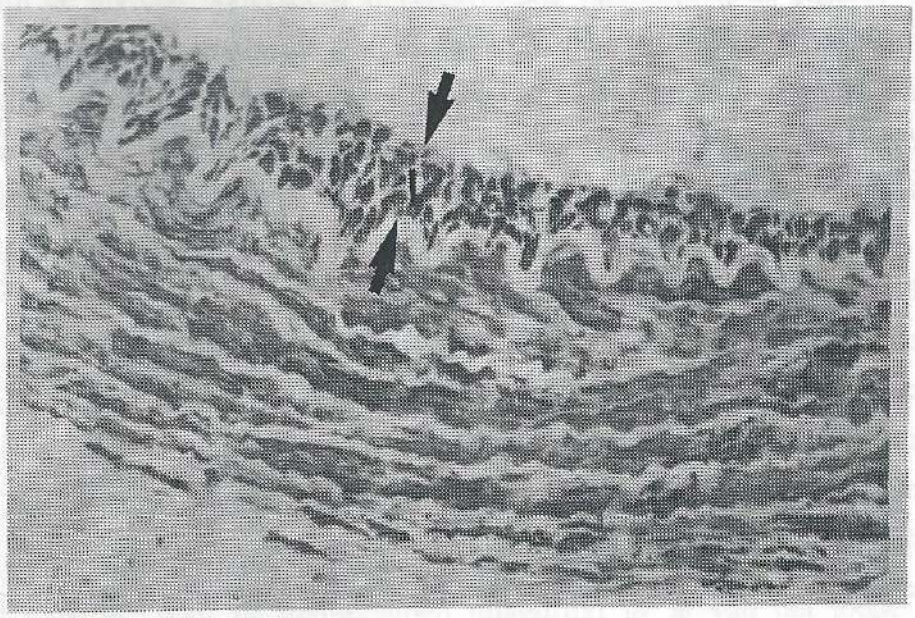
Hiertoe werd deze huls aan één zijde overlangs doorgesneden, rondom het bloedvat aangebracht en vervolgens terug dichtgemaakt met siliconenlijm.

Deze manchet of huls, afgebeeld op figuur 8.1, induceert de vorming van een neo-intima met als voornaamste voordelen ten eerste dat in een



Figuur 8.2: Neo-intima vorming bij arteria carotis, na 14 dagen. I: Neo-Intima, M: Media, A: Adventitia. (Sirius Hematoxyline kleuring. Dr. M. Kockx, Anatome Pathologie AZ-Middelheim.)

periode van 7 dagen reeds duidelijk een effect te zien is, ten tweede dat dit effect zeer plaatselijk voorkomt en ten derde dat er geen andere organen bij betrokken zijn of gekwetst kunnen worden. Het bloedvat dat op dergelijke wijze behandeld wordt, is de arteria carotis van het konijn. Op figuur 8.2 wordt het effect van de huls na twee weken getoond en figuur 8.3 is een opname na 4 weken. Duidelijk is de aangroei aan de binnenzijde van het bloedvat, aangeduid met I (neo-Intima) op de afbeelding, welke in normale bloedvaten niet aanwezig is. Deze aanwas is een beginstadium van atherosclerose. (De Meyer, 1991)



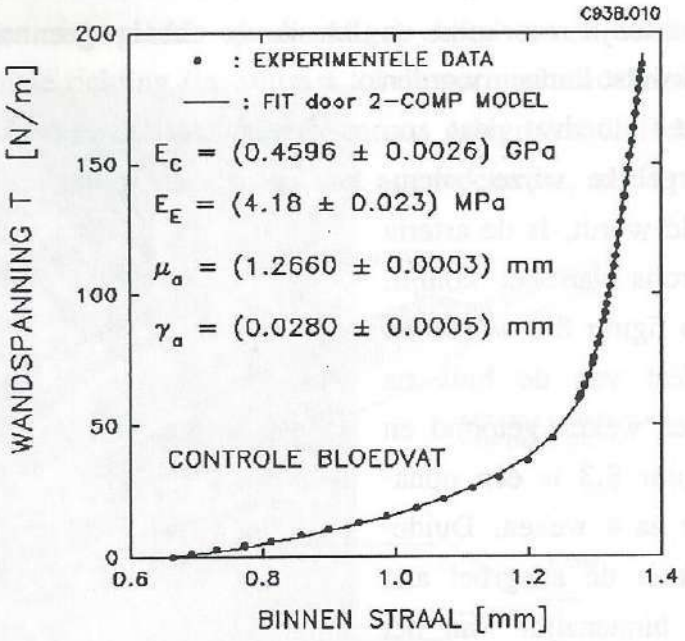
Figuur 8.3: Neo-intima (I) vorming na 30 dagen. (Immunohistochemische kleuring voor α-SMC Actine. Dr. M. Kockx, Anatome Pathologie, AZ-Middelheim)

Het doel van het onderzoek door ons verricht op deze bloedvaten behelst de elasticiteit in functie van de neo-intima vorming. Hiertoe werd bij 6 dieren de manchet geplaatst rond één van de twee arteria carotica. Tijdens deze operatie werd het contra-laterale bloedvat op een gelijkaardige manier behandeld, uitgezonderd het aanbrengen van de manchet. Na één week werd het aangetaste en het controle bloedvat verwijderd uit het konijn en na preparatie onderworpen aan rek experimenten zoals beschreven in hoofdstuk 6. De stukjes waarop niet gemeten werd, werden telkens bij 6 °C bewaard in fysiologisch Ringer-Krebs oplossing.

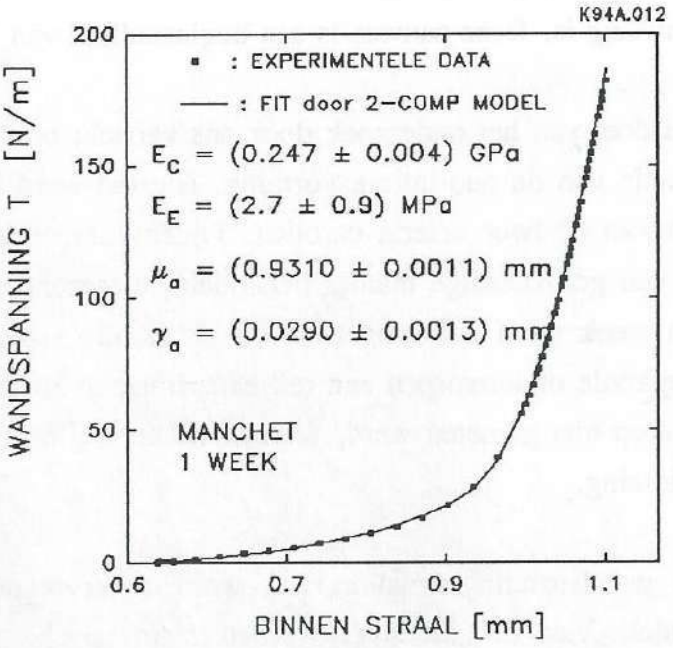
De wandspanning-straal curven werden vervolgens aangepast door het 2-componenten model. Van elk bloedvat werden histologische coupes gemaakt ter bepaling van de hoeveelheid elastine en collageen aanwezig in de wand, zoals beschreven in hoofdstuk 7. Aldus werden de modelparameters E_C, E_E, ϵ_μ en γ_a bepaald. Hiermee kunnen de nodige conclusies getroffen worden in verband met het effect op de elasticiteit van de geïnduceerde atherosclerose bij de arteria carotis van het konijn. In wat volgt zullen de resultaten van deze metingen besproken worden.

Er dient opgemerkt te worden dat het aantal metingen meer dan zes bedraagt, aangezien van elk dier er meerdere stukjes werden gebruikt. Zo werden er in totaal 14 controle en 10 aangetaste bloedvaten onderworpen aan de rekexperimenten.

In de figuren 8.4 en 8.5 zijn voor een controle bloedvat en een aangetaste carotis de experimentele wandspanning-straal relaties afgebeeld met de bijbehorende aanpassingen en de model-parameters. Er werd telkens de fout opgegeven zoals deze door het minimalisatiepakket werd berekend.



Figuur 8.4 : Wandspanning-straal relatie en model-aanpassing van een controle arteria carotis.



Figuur 8.5 : Wandspanning-straal relatie en model-aanpassing van een arteria carotis met neo-intima vorming. (1 week)

8.3 RESULTATEN VAN DE EXPERIMENTELE METINGEN.

In de volgende delen wordt de invloed onderzocht van neo-intima vorming op de parameters van het 2-componenten model evenals de aanverwante grootheden N_CA_C en N_EA_E zijnde de relatieve hoeveelheden collageen en elastine.
In de figuren worden de controle bloedvaten voorgesteld door het symbool : □ en de atherosclerotische bloedvaten door het symbool: ■.

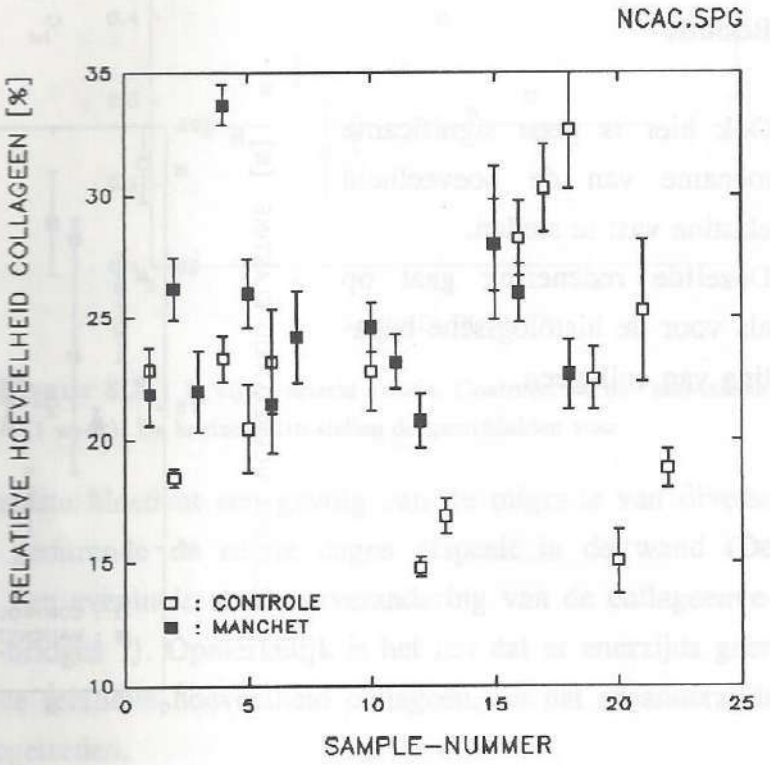
8.3.1 Relatieve hoeveelheid collageen bij de controle en aangetaste bloedvaten.

Er werd histologisch nagegaan wat de toename van collageen bedroeg bij de arteria carotis met neo-intima vorming. In figuur 8.6 staan de resultaten uitgezet in functie van het sample-nummer. De waarden voor de gemiddelden uitgedrukt in % van het totale drooggewicht zijn:

$<N_CA_C>^{CONTROLE}$ = (22.7 ± 1.3)% n=15
$<N_CA_C>^{MANCHET}$ = (24.7 ± 1.0) % n=13
t-test (H_0: $\mu_1=\mu_2$) = 1.15
p = 26 % : H_0 aanvaard.

Besluit.

Er is geen significante toename van de procentuele hoeveelheid collageen bij de vorming gedurende één week van een neo-intima, blijkens de t-test, en zoals ook kan vastgesteld worden op figuur 8.6. Ondanks de toename van de wand-dikte is deze t.o.v. de totale wanddikte toch eerder nog gering. De grootste



Figuur 8.6 :Relatieve hoeveelheid collageen [% drooggewicht] in de wand van de arteria carotis. Controle: □, met neo-intima: ■. (1 week)

hoeveelheid collageen is aanwezig in de media en adventitia, zoals te zien is op afbeelding 8.2, zodat het weinige collageen dat erbij komt in de neo-intima geen duidelijke verhoging van de totale hoeveelheid collageen teweegbrengt.

8.3.2 Relatieve hoeveelheid elastine bij de controle en aangetaste bloedvaten.

Er werd histologisch nagegaan wat de toename van de hoeveelheid elastine bedroeg bij de arteria carotis met neo-intima vorming. In afbeelding 8.7 zijn de resultaten weergegeven. De waarden voor de gemiddelden uitgedrukt in % van het totale drooggewicht zijn:

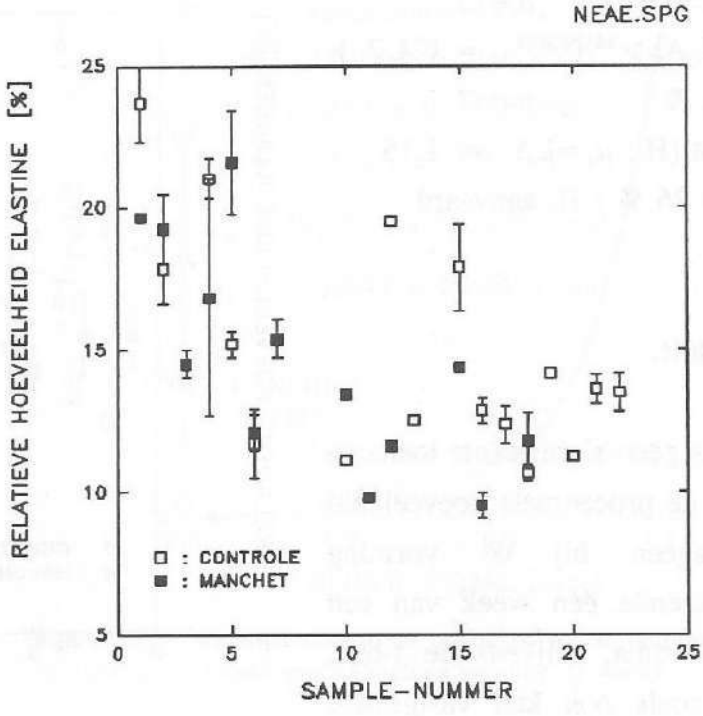
$<N_E A_E>^{CONTROLE} = (14.9 \pm 1.0)$ % n=15

$<N_E A_E>^{MANCHET} = (14.6 \pm 1.1)$ % n=13

t-test (H_0: $\mu_1 = \mu_2$) = 0.227 p = 82 % : H_0 aanvaard.

Besluit.

Ook hier is geen significante toename van de hoeveelheid elastine vast te stellen.
Dezelfde redenering gaat op als voor de histologische bepaling van collageen.



Figuur 8.7 : Relatieve hoeveelheid elastine [% drooggewicht] in de wand van de arteria carotis. Controle: □, met neo-intima: ■. (1 week)

8.3.3 E_C bij de controle en aangetaste arteria carotis.

Wellicht de meest interessante modelparameter is de Young modulus van de collageenvezels in de wand. Figuur 8.8 toont deze parameter bij controle en aangetast bloedvaten. De gemiddelden bedragen:

$<E_C>^{\text{CONTROLE}}$ = (0.49 ± 0.03) GPa n=14

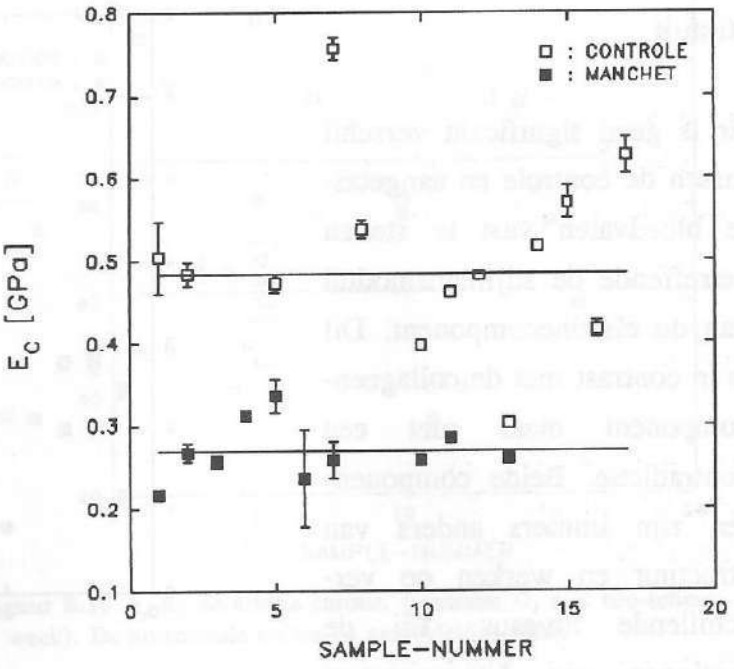
$<E_C>^{\text{MANCHET}}$ = (0.269 ± 0.011) GPa n=10

t-test (H_0: $\mu_1=\mu_2$) = 5.27 p = 0.0027 % : H_0 verworpen.

CAREC.SPG

Besluit

Er is duidelijk een verschil in elasticiteit te onderscheiden tussen beide groepen. De collageenvezels in het aangetaste bloedvat zijn ongeveer de helft minder stijf dan de collageenvezels in de controle bloedvaten. Dit effect werd vastgesteld bij bloedvaten die gedurende 1 week een manchet hebben ondergaan. Een verklaring hiervoor is niet direct zo voor de hand liggend, maar vermoedelijk is de verzwakking van de stijfheid in het aangetaste bloedvat een gevolg van de migratie van diverse cellen en celstructuren die zich gedurende de eerste dagen afspeelt in de wand (De Meyer, 1991), gecombineerd met een eventuele structuurverandering van de collageenvezels zelf (ter hoogte van de cross-bridges ?). Opmerkelijk is het feit dat er enerzijds geen verandering optreedt wat betreft de relatieve hoeveelheid collageen, en dat er anderzijds wel een structuurverandering is opgetreden.



Figuur 8.8 : E_c bij de arteria carotis. Controle: □, met neo-intima: ■ (1 week). De horizontalen stellen de gemiddelden voor.

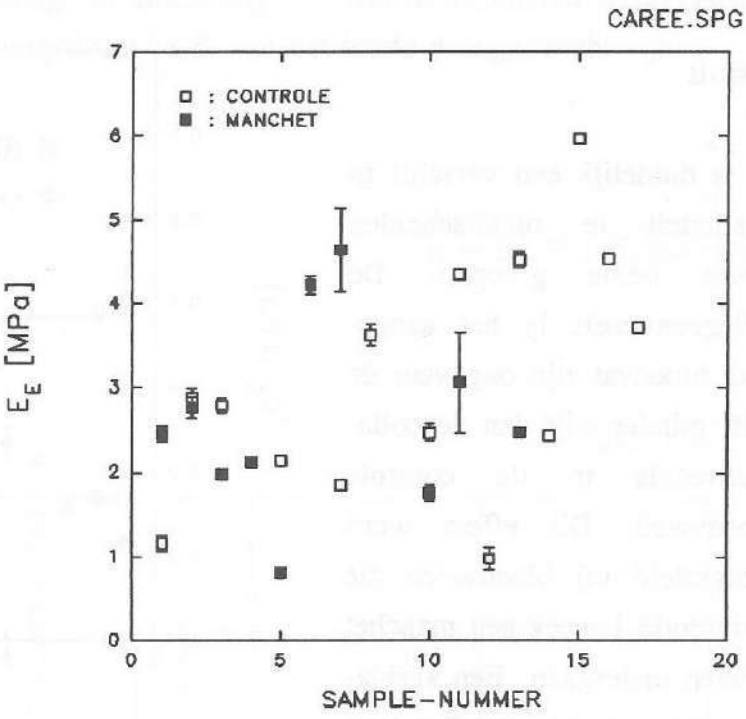
8.3.4 E_E bij de controle en aangetaste arteria carotis.

De stijfheidmodulus van elastine, weergegeven door E_E wordt voorgesteld in figuur 8.9. De gemiddelde waarden bedragen voor beide type bloedvaten:

$<E_E>^{CONTROLE}$ = (3.1 ± 0.4) MPa n=14
$<E_E>^{MANCHET}$ = (2.6 ± 0.4) MPa n=10
t-test (H_0: $\mu_1=\mu_2$) = 0.867 p = 40 % : H_0 aanvaard.

Besluit

Er is geen significant verschil tussen de controle en aangetaste bloedvaten vast te stellen betreffende de stijfheidsmoduli van de elastinecomponent. Dit is in contrast met de collageencomponent maar niet een contradictie. Beide componenten zijn immers anders van structuur en werken op verschillende niveaus. Bij de metingen van Langewouters werd er evenmin een significante verandering geconstateerd betreffende E_E in functie van de leeftijd, terwijl dit duidelijk wel het geval was met de Young modulus E_C.



Figuur 8.9 : E_e bij de arteria carotis. Controle: □, met neo-intima: ■ (1 week).

8.3.5 ϵ_μ bij de controle en aangetaste arteria carotis.

De parameter ϵ_μ die afgeleid is van de model parameter μ_a als : $\epsilon_\mu=(\mu_a\text{-}a)/a*100$ waarbij a de beginstraal vertegenwoordigt, geeft een indicatie van bij welke rek de collageencomponent haar bijdrage gaat leveren aan de krachtopbouw. Hoe kleiner deze waarde, hoe

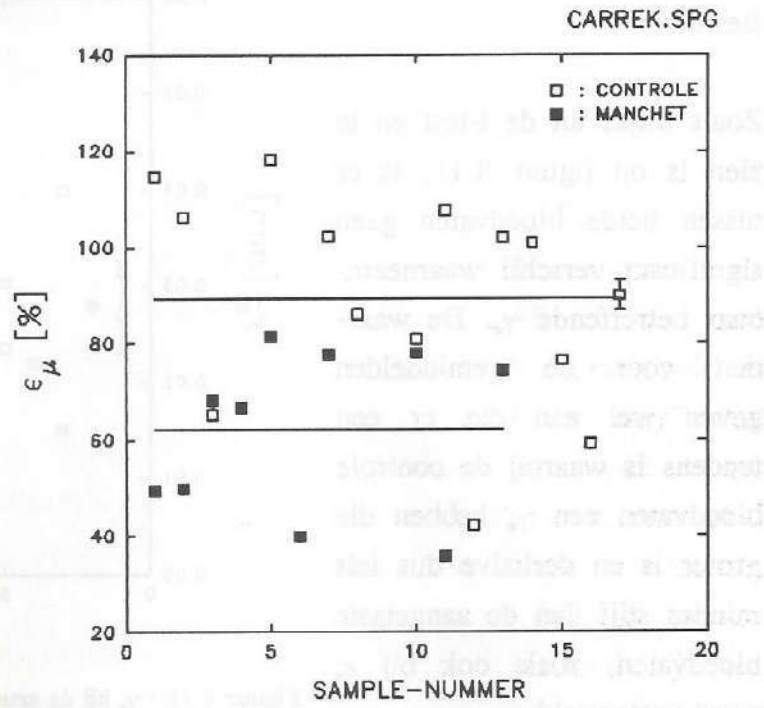
stijver het gehele bloedvat. Het is derhalve een indicator van de globale stijfheid van het bloedvat. Voor de controle en aangetaste arteria carotis geeft dit de volgende gemiddelden:

$<\epsilon_\mu>^{\text{CONTROLE}} = (89 \pm 6)\ \%$ n=14

$<\epsilon_\mu>^{\text{MANCHET}} = (62 \pm 5)\ \%$ n=10

t-test (H_0: $\mu_1=\mu_2$) = 3.24 p = 0.38 % : H_0 verworpen.

Besluit



Figuur 8.10: ϵ_μ **bij de arteria carotis. Controle: □, met neo-intima: ■ (1 week). De horizontale stellen de gemiddelden voor.**

Ondanks de vrij grote spreiding is er een significant verschil tussen beide arteria carotis, zoals ook op figuur 8.10 kan vastgesteld worden. Dit betekent dat de aangetaste arteria carotis globaal gezien stijver is dan het controle bloedvat. Dit is niet in strijd met de conclusies betreffende de stijfheid van de collageencomponent, aangezien E_C de structurele stijfheid vertegenwoordigt van de vezels zelf. Een vergelijkbare situatie treedt op bij de statistische verwerking van de experimenten van Langewouters zoals beschreven in hoofdstuk 5. Onderzoekt men E_C van de thoracale aorta's bij mannen en vrouwen dan kan men geen verschil vaststellen, alhoewel de mannelijk thoracale aorta's een ϵ_μ hebben die duidelijk groter is (zie fig 5.6 en 5.8). Een analoge situatie is er bij de parameters E_C en ϵ_μ van thoracale en abdominale aorta's (zie fig 5.11 en 5.13).

8.3.6 γ_s bij de controle en aangetaste arteria carotis.

De modelparameter γ_s die de breedte weergeeft bij halve hoogte, van de verdelingsfunctie van de lengte van de collageenvezels op het binnenste ringetje, is tevens een indicator van

de mechanische interactie tussen de verschillende collageenvezels. De gemiddelde waarden bedragen:

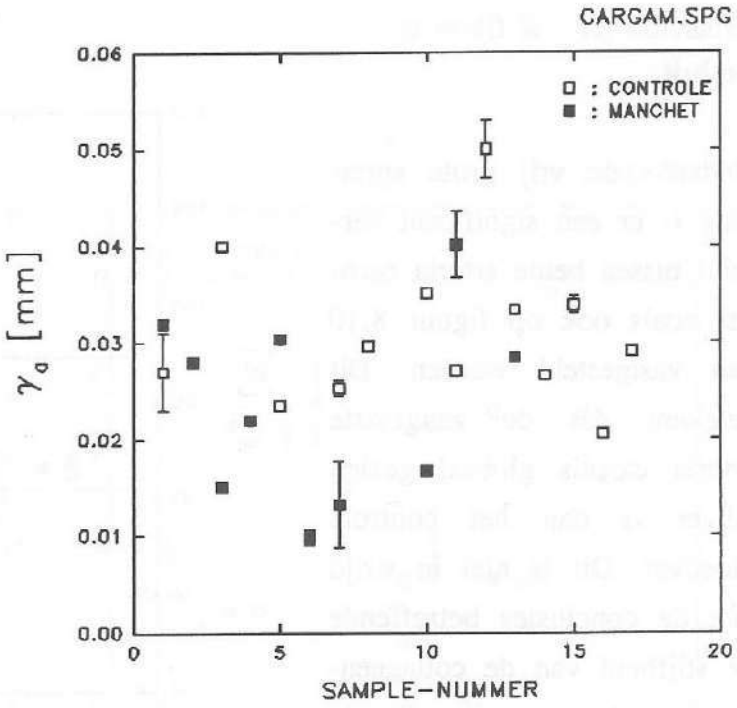
$<\gamma_a>^{\text{CONTROLE}}$ = (0.0307 ± 0.0020) mm n=14

$<\gamma_a>^{\text{MANCHET}}$ = (0.024 ± 0.003) mm n=10

t-test (H_0: $\mu_1=\mu_2$) = 2.02 p = 5.6 % : H_0 aanvaard.

Besluit

Zoals blijkt uit de t-test en te zien is op figuur 8.11, is er tussen beide bloedvaten geen significant verschil waarneembaar betreffende γ_a. De waarden voor de gemiddelden geven wel aan dat er een tendens is waarbij de controle bloedvaten een γ_a hebben die groter is en derhalve dus iets minder stijf dan de aangetaste bloedvaten, zoals ook bij ϵ_μ werd vastgesteld.



Figuur 8.11 : γ_a bij de arteria carotis. Controle: □, met neo-intima: ■ (1 week).

8.4 EINDCONCLUSIE BETREFFENDE DE INVLOED VAN NEO-INTIMA VORMING OP DE MODEL-PARAMETERS.

Als voornaamste besluit kan men stellen dat, met de experimentele techniek in combinatie met het 2-componenten model, er reeds na 1 week een significant verschil meetbaar is tussen de controle en aangetaste arteria carotica. De verandering situeert zich voornamelijk bij de Young modulus E_C van de collageenvezels. Zij wijst op een structurele stijfheidsverandering van de collageencomponent, die bij het aangetaste bloedvat minder stijf is dan bij het controle bloedvat. De stijfheidsmodulus E_E van de elastinecomponent

ondervindt geen significante invloed van de neo-intima vorming, noch de parameter γ_a. De grootheid ϵ_μ onthult de tendens dat het controle bloedvat in zijn geheel genomen minder stijf is dan het aangetaste bloedvat.

BESLUIT.

In het eerste luik van dit werk wordt een constitutieve vergelijking voorgesteld die de wandspanning-straal relaties van bloedvaten beschrijft. Het model steunt op het concept dat in de bloedvatwand twee krachtdragende elementen aanwezig zijn, namelijk circulair georiënteerde lineair elastische collageen- en elastinevezels. Daarenboven wordt als principe gesteld dat de beginlengten van de collageenvezels verdeeld is volgens een Lorentz distributiefunctie. De combinatie van deze beginselen resulteert in een adequate beschrijving van de typisch niet-lineaire kracht-lengte relatie van bloedvaten. Er worden door dit 2-componenten model vier parameters ingevoerd waarvan er twee de Young moduli (E_C en E_E) van de collageen- en elastinevezels vertegenwoordigen. De andere twee parameters (μ_s en γ_s) karakteriseren de Lorentz-verdelingsfunctie en zijn indirecte indicatoren van de globale schijnbare rekbaarheid van het bloedvat.

Beide Young moduli zijn genormeerd, doordat de hoeveelheden collageen en elastine geïncorporeerd zijn. Als voornaamste eigenschap van dit model geldt dat de vier modelparameters E_C, E_E, μ_s en γ_s constant en uniek bepaald zijn voor het onderzochte bloedvat.
Dit gehele concept laat toe de elasticiteitseigenschappen van verschillende bloedvaten met elkaar te vergelijken, door middel van de stijfheidskenmerken van de constituenten uit de wand.

Dit structureel 2-componenten model houdt een aanzienlijke verbetering in ten opzichte van de gebruikelijke methode uit de literatuur, die steunt op de incrementele modulus. Deze modulus is functie van de plaats op de wandspanning-straal curve waarbij gemeten wordt, en zodoende is deze parameter hoegenaamd niet eenduidig. Het vergelijken van de stijfheid van verschillende bloedvaten is derhalve quasi onmogelijk indien men deze incrementele modulus gebruikt.

Als tweede luik van het werk werd het 2-componenten model toegepast op metingen van menselijke aorta's, afkomstig uit de literatuur.
Een eerste algemeen besluit is dat de aanpassing van het model aan de experimentele gegevens zeer goed is (getuige ook de figuur op de omslag). Ten tweede zijn de absolute

waarden van de aangepaste Young moduli van collageen en elastine in goede concordantie met de waarden uit de literatuur.

Ten derde kan men voor het specifieke geval van de humane aorta's besluiten dat er een significante, eenduidig gequantifieerde, stijfheidstoename met de leeftijd waarneembaar is, wat betreft de collageencomponent.

Een derde luik uit dit werk behelst de constructie van een opstelling, waarmee op computergestuurde wijze, wandspanning-straal relaties van bloedvaten kunnen gemeten worden.

Het vierde luik bestaat uit het bepalen van de stijfheidseigenschappen van arteria carotica van het konijn. In dit bloedvat werd het beginstadium van atherosclerose gesimuleerd. Met behulp van de meetopstelling werden wandspanning-straal relaties gemeten en vervolgens aangepast door het model. Bij deze arteriën werd een significante verandering van de rekbaarheid waargenomen, en dit na een behandeling van slechts één week.

Het 2-componenten model opent de weg voor het eenduidig quantifiëren van de stijfheid van diverse bloedvaten. De invloed van atherosclerose, leeftijd, farmaca en andere invloedsfactoren op de elasticiteit en de stijfheid van de structurele wandcomponenten kan aldus bepaald worden.
Dagelijks worden veneuze enten en artificiële bloedvaten aangewend om zeer ernstig geatheroscleroseerde coronaire arteriën te vervangen (coronaire bypass). Desalnietemin zijn de elasticiteitseigenschappen van venen en arteriën zeer verschillend. Rheologisch onderzoek van de mechanische eigenschappen van diverse bloedvaten zou er toe kunnen leiden bloedvaten te kiezen als ent, die vrij goed het elastisch gedrag van de coronaire arterie benaderen.
De Incrementele modulus methode laat dergelijke studies niet toe, maar het 2-componenten model lijkt ons hiervoor een goede kandidaat.

Door dit karakteriseren van de mechanische aspecten van de bloedvatwand kan een belangrijke nieuwe bijdrage geleverd worden aan de algemene kennis van de bloedvaten van mens en dier.

Referenties.

APTER J.T. (1966) Correlation of Visco-elastic Properties of Large Arteries with Microscopic Structure. I. Methods used and their justification. Circulation Research, **19**, 104-111.

ATTINGER E.O. (1969) Wall Properties of Veins. IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering, **BME-16**, 253-261.

ATTINGER F.M.L. (1968) Two-dimensional in -vitro studies of femoral arterial walls of the dog. Circulation Research, **22**, 829-840.

AZUMA T., HASEGAWA M. (1973) Distensibility of the Vein: From the Architectural Point of View. Biorheology, **10**, 469-479.

BADER H. (1963) The Anatomy and Physiology of the Vascular Wall. Handbook of Physiology, Section 2; Circulation Vol II. (Ed. Hamilton W.F. en P.Dow) pp 865-889. Washington, American Physiological Society.

BERGEL D. H. (1972) The properties of Blood Vessels. In Biomechanics: Its Foundations and Objectives. (Edited by Fung Y. C., Perrone N., Anliker M.) pp 105-139. Prentice-Hall, New Jersey.

BERGEL, D.H. (1961). The static elastic properties of the arterial wall. J. Physiology, **156**, 458-469.

BLATZ P.J., CHU B.M., WAYLAND H. (1969). On the mechanical behavior of elastic animal tissue. Transactions of the Society of Rheology, **13**, 83-102.

BOOTH R.F.G., MARTIN J.F., HONEY A.C., HASSALL D.G., BEESLEY J.E., MONCADA S. (1989). Rapid development of atherosclerotic lesions in the rabbit carotid artery induced by perivascular manipulation. Atherosclerosis, **76**, 257-268.

BUSSE R., BAUER R.D., SATTLER T., SCHABERT A. (1981) Dependence of Elastic and Viscous Properties of Elastic Arteries on Circumferential Wall Stress at Two Different Smooth Muscle Tones. Pflugers Arch.,**390**,113-119.

BUSSE R. (1982) Physikalische Grundlagen zur Beschreibung der Gefassmechanic und der Wellenausbreitung. In Kreislaufphysiologie. Thieme Verlag, Stuttgart, NY.

BURTON A. C. (1954) Relation of Structure to Function of the Tissue of the Wall of Blood Vessels. Physiol. Rev. **34**, 619-642.

CANFIELD T. R., DOBRIN P. B. (1987) Static Elastic Properties of Blood Vessels. Handbook of Bioengineering (Edited by Skalak R. and Chien S.),pp 16.1-16.28, McGraw-Hill, New York.

CAREW T.E., VAISNAV R.N., PATEL D.J. (1968). Compressibility of the arterial wall. Circ. Research, **23**, 61-68.

CARTON R. W., DAINAUSKAS J., CLARK J. W. (1962) Elastic Properties of Single Elastic Fibres. J. Appl. Physiol. **17(3)**, 547-551.

CHU B.M., OKA S. (1973) Influence of longitudinal tethering on the tension in thick-walled blood vessels in equilibrium. Biorheology,**10**,517-525.

CHU B.M., BLATZ P.J. (1972) Cumulative Microdamage Model to Describe The Hysteresis of Living Tissue. Annals Biomed. Eng,1, 204-211.

CHUONG C. J., FUNG Y. C. (1983) Three-Dimensional Stress Distribution in Arteries. J. Biomech. Eng.,**105**, 268-274.

CHUONG C. J., FUNG Y. C. (1986) On residual stress in arteries. J. Biomech Eng, **108**, 189-192.

COMNINOU M., YANNAS I.V. (1976) Dependence of stress-strain nonlinearity of connective tissues on the geometry of collagen fibres. J. Biomechanics, **9**, 427-433.

COX R.H. (1978) Passive mechanics and connective tissue composition of canine arteries. Am. J. Physiol.,**234(5)**, H533-H541.

COX R.H. (1982) Comparison of mechanical and chemical properties of extra- and intralobar canine pulmonary arteries. Am. J. Physiol., **242**, H245-H253.

CRETEN W.L. (1989) Biostatistiek. Cursus RUCA.

CUSACK S., MILLER A. (1979) Determination of the Elastic Constants by Brillouin Light Scattering. J. Mol. Biol.,**135**, 39-51.

DECRAEMER, W.F. (1977). Visco-elasticiteit van trommelvliesprothesen. Doctoraats-thesis UIA. Promotor V. Vanhuyse.

DECRAEMER, W.F., MAES M, VANHUYSE, V.J.(1980). An elastic stress-strain relation for soft biological tissues based on a structural model. J.Biomechanics, **13**, 463-468.

DE JONGE H. (1964). Inleiding tot de medische statistiek. Ned. Instituut voor preventieve geneeskunde. Leiden. I en II.

DE MEYER G.R.Y. (1991) Endothelium derived vasoactive substances and early atherosclerosis. Doctoraats-thesis UIA. Promotor A.G. Herman.

DIAMANT J., KELLER A., BAER E., LITT M., ARRIDGE R.G.C.(1972). Collagen: Ultrastructure and its relation to mechanical properties as a function of ageing. Proc. R. Soc. London, **B180**, 293-315.

FLAUD P., QUEMADA D. (1988). A Structural Viscoelastic Model of Soft Tissues. Biorheology, **25**, 95-105.

FRONEK K., SCHMID-SCHOENBEIN G., FUNG Y.C. (1976). A Noncontact Method for Three-dimensional Analysis of Vascular Elasticity in Vivo and in Vitro. J. Appl Physiol, **40**, 634-637.

FUNG Y. C. (1967) Elasticity of soft tissues in simple elongation. Am. J. Physiol.

213(6),1532-1544.

FUNG Y. C. (1972) Stress-strain history relationships of soft tissues in simple elongation. In Y.C. Fung, N. Perrone and M. Anliker (eds) Biomechanics: Its Foundations and Objectives, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J. pp 181-208.

FUNG Y. C. (1989) Change of Residual Strains in Arteries due to Hypertrophy Caused by Aortic Constriction. Circ. Research, **65**, 1340-1349.

FUNG Y.C., FRONEK K., PATITUCCI P. (1979). Pseudoelasticity of arteries and the choice of its mathematical expression. Am. J. Physiol, **237(5)**, H620-H631.

GOEDHARD W.J.A., KNOOP A.A. (1973) A model of the arterial wall. J. Biomechanics, **6**, 281-288.

GOTO M., KIMOTO Y. (1966) Hysteresis and stress-relaaxtion of the blood vessel studied by a universal tensile testing instrument. Japanese J. Physiol., **15**, 169-184.

GOZNA E.R., MARBLE A.E., SHAW A., HOLLAND J.G. (1974). Age-related changes in the mechanics of the aorta and pulmonary artery of man. J. Appl. Physiol. **36**, 407-411.

HALPERN W., OSOL G. (1985). Blood Vessel Diameter Measurement. Prog. appl. Microcirc., **8**, 32-39.

HALPERN W., OSOL G., COY G.S. (1984). Mechanical Behavior of Pressurized in Vitro Prearteriolar Vessels Determined with a Video System. Annals of Biomedical Engineering, **12**, 463-479.

HARDUNG V. (1970) Dynamische Elasticität und innere Reibung muskulärer Blutgefäse bei verschiedener duch Dehnung und tonische Kontraktion hervorgerufener Wandspannung. Arch. Kreislf. **61**, 83-100.

HARLEY R., JAMES D., MILLER A., WHITE J. W. (1977) Phonons and the Elastic Moduli of Collagen and Muscle. Nature, **267**, 285-287.

HAYASHI K. (1982) Fundamental and applied studies of mechanical properties of cardiovascular tissues. Biorheology, **19**, 425-436.

HU K-J, LIN C-Y, GALYSH F., PATEL A., GROVE M., LIU L., TAYLOR B. (1972) Aortic compliance. Arch. Path., **94**, 537-546.

HUDETZ A.G. (1979) Incremental elastic modulus for orthotropic incompressible arteries. J. Biomechanics, **12**, 651-655.

HULSMAN H. (1983) Cursus Algemene Experimentele Methoden, Spectraallijnen. Natuurkunde UIA.

JAMES F., ROOS M. (1975) A system for function minimization and analysis of the parameter errors and correlations. Computer Physics Comments 10,343-367.

JUNQUEIRA L.C., CARNEIRO J., LONG J.A. (1987) Functionele histologie. Wetenschappelijke uitgeverij Bunge, Utrecht.

KASTELIC J., PALLEY I., BAER E. (1980) A structural Mechanical Model for Tendon Crimping. J. Biomechanics, **13**,887-893.

KENEDI R.M., GIBSON T., EVANS J.H., BARBENEL J.C. (1975) Tissue Mechanics. Review Article. Phys. Med. Biol., **20**, 699-717.

LAKE L. W., ARMENIADES C. D. (1972) Structure-Property Relations of Aortic Tissue. Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs, **18**, 202-209.

LANG D.J., JOHNS B.L. (1987) Rat venule mechanical characteristics during venous pressure elevation. Am. J. Physiol., **252**, H704-H713.

LANGEWOUTERS G.J. (1982) Visco-elasticity of the human aorta in vitro in relation to pressure and age. PhD thesis, Vrije Universiteit Amsterdam. Promotor N. Westerhof.

LANGEWOUTERS G. J., WESSELING K.H., GOEDHARD W.J.A. (1984). The static elastic properties of 45 human thoracic and 20 abdominal aortas in vitro and the parameters of a new model. J. Biomechanics, **17**, 425-435.

LANIR Y. (1979) A structural Theory for the Homogeneous Biaxial stress-strain Relationships in flat Collagenous Tissues. J. Biomechanics, **12**,423-436.

LANIR Y. (1983) Constitutive Equations for Fibrous Connective Tissues. J. Biomechanics, **16**, 1-12.

LANIR Y. (1987) Skin Mechanics. Handbook of Bioengineering (Edited by Skalak R. and Chien S.),pp 11.1-11.25, McGraw-Hill, New York.

LEAROYD B. M., TAYLOR M. G. (1966) Alterations with Age in the Viscoleastic Porperties of Human Arterial Walls. Circ. Res. **18**, 278-292.

LING S. C., CHOW C. H. (1977) The Mechanics of Corrugated Collagen Fibrils in Arteries. J. Biomechanics, **10**, 71-77.

LIU S.Q., FUNG Y.C. (1989). Relationship between hypertension, hypertrophy and opening angle of zero-stress state in arteries following aortic constriction. J. Biomechanical Engineering, **111**, 325-335.

LOVE A.E.H. (1944). A treatise on the mathematical theory of elasticity, Dover Publications, New York.

MAES M. (1984) De invloed van de temperatuur op de elastische eigenschappen van zachte biologische materialen. Doctoraats thesis, UIA. Promotor V. Vanhuyse.

MANAK J.J (1980) The two-dimensional in vitro passive stress-strain elasticity relationships for the steer thoracic aorta blood vessel tissue. J. Biomechanics,**13**,637-646.

MANSCHOT J.F.M., BRAKKEE A.J.M. (1986). The measurement and modelling of the mechanical properties of human skin in vivo. II The model. J. Biomechanics, **19**, 517-521.

MARKENSCOFF X., YANNAS I.V. (1979). On the stress-strain relation for skin. J. Biomechanics, **12**, 127-129.

MILNOR W.R. (1982) Hemodynamics. Williams & Wilkins, Baltimore, London.

MINNS R.J. SODEN P.D., JACKSON D.S (1973). The Role of the fibrous components and ground substance in the mechanical properties of biological tissues: A premilary investigation. J. Biomechanics, **6**, 153-165.

MINTEN J. (1985). Hemodynamische aspecten van de vena cava superior bij de hond. Doctoraats-thesis K.U.Leuven. Promotor De Geest & Kuhn.

MINTEN J., VERHEYEN A., CORNELISSEN F., ROMBAUTS W., DEQUEKER J., DE GEEST H. (1986). Correlation between mechanical properties and wall composition of the canine superior vena cava. Arch. Int. Physiol. Bioch., **94**, 349-362.

MISRA J. C., ROYCHOUDHURY K. (1982). Nonlinear Stress Field in Blood Vessels under the Action of Connective Tissue. Blood Vessels, **19**, 19-29.

MONOS E., CSENGŐDY J. (1980) Does Hemodynamic Adaptation Take Place in the Vein Grafted into an Artery ? Pflügers Arch. **384**, 177-182.

NAGASAWA S., HANDA H., NARUO Y., OKAMURA A., MORITAKE K., HAYASHI K. (1982). Biomechanical Study on Ageing Changes and Vasospasm of Human Cerebral Arteries. Biorheology, **19**, 481-489.

NIEDERER P. (1974). A Molecular Study of the Mechanical Properties of Arterial Vessel Walls. J. Appl. Mathematics and Physics (ZAMP), **25**, 565-577.

NIMNI M.E. (1980) The molecular organisation of collagen and its role in determining the biophysical properties of the connective tissues. Biorheology, **17**, 51-82.

ODDOU C. (1980) Microrhéologie des Elastomères et du Tissu Pariétal Artériel. J. Biophys. et Méd. Nucl., **4**, 277-283.

OKA S. AND AZUMA T, (1970). Physical theory of tension in thick-walled blood vessels in equilibrium. Biorheology, **7**, 109-117.

PATEL D. J., FRY D. L. (1969) The Elastic Symmetry of the Arterial Segments in Dogs. Circ. Res., **24**, 1-8.

PRICE J. (1984) Length-dependent activation and sensitivity in arterial ring segments. Annals of Biomedical Engineering, **12**, 481-496.

ROACH M. (1977) Biophyscal analysis of blood vessel walls and blood flow. Ann. Rev. Physiol., **39**, 51-71.

ROACH M. R., BURTON A. C. (1957) The Reason for the Shape of the distensibilty curves of arteries. Can J. Biochem. & Physiol., **35**,681-690.

ROACH M. R., BURTON A. C. (1959) The Effect of Age on the Elasticity of Human Iliac Arteries. Can J. Biochem. & Physiol., **37**,557-569.

ROSS M.H., REITH E.J. (1985) Histology, a text and atlas. Harper International Edition, New York.

SCHABERT A., BAUER R.D., BUSSE R. (1980) Photoelectric Device for the Recording of Diameter Changes of Opaque and Transparant Blood Vessels in vitro. Pflügers Arch., **385**, 239-242.

SNEDECOR G.W., COCHRAN W.G. (1967) Statistical methods. Sixth Edition. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.

SOONG T. T., HUANG W. N. (1973) A Stochastic Model for Biological Tissue Elasticity in Simple Elongation. J Biomechanics, **6**, 451-458.

TAKAMIZAWA K., HAYASHI K. (1987) Strain energy density function and uniform strain hypothesis for arterial mechanics. J. Biomechanics, **20**, 7-17.

TARDY Y., MEISTER J.J., PERRET F., BRUNNER H.R., ARDITI M. (1991) Non-invasive estimate of th emechanical properties of peripheral arteries from ultrasonic and photopletysmografic measurements. Clin. Phys. Physiol. Meas., **12**, 39-54.

TICKNER G.E., SACKS A.H. (1967). A Theory for the Static Elastic Behavior of Blood Vessels. Biorheology, **4**, 151-168.

TIMOSHENKO S. AND GOODIER J.N. (1951). Theory of elasticity, McGraw-Hill, New York.McDonald, D. A. (1974) Blood Flow in Artries. Edward Arnold, London.

VALANIS K.C., LANDEL R.F. (1967) The strain-energy function of a hyperelastic meterial in terms of the extension ratios. J. Appl. Phys., **38**, 2997-3002.

VAN LOON P., KLIP W. AND BRADLEY E.L. (1977). Length-force and Volume-Pressure Relationships of Arteries. Biorheology, **14**, 181-201.

VAISHNAV R. N. (1982) Contributions to Nonlinear Characterization of the Arterial Tissue. IEEE Frontiers of Engineering in Health Care. 241-245.

VAISHNAV R.N. VOSSOUGHI J. (1987) Residual stress and strain in aortic segments. J. Biomechanics, **20**, 235-239.

VIIDIK A. (1987) Properties of Tendons and Ligaments. In Handbook of Bioengineering (Edited by Skalak R. and Chien S.),pp 6.1-6.19, McGraw-Hill, New York.

VIIDIK A. (1980). Biology of collagen (ed. Viidik A. en Vuust J.) Academic Press, London.

VITO R., HICKEY J. (1980) The mechanical properties of soft tissues-II: The elastic response of arterial segments. J. Biomechanics, **13**, 951-957.

WEGNER W., FEDER H. (1976) Zur Gewebsmechanik der Aortenwand des Schweines. Res. Exp. Med., **168**, 129-141.

WESLY R. L. R., VAISHNAV R. N., FUCHS J. C. A., PATEL D. J., GREENFIELD J. C. (1975) Static Linear and Nonlinear Elastic Properties of Normal and Arterialized Venous Tissue in Dog and Man. Circ. Res., **37**, 509-520.

WEIZSACKER H.W., LAMBERT H., PASCALE K. (1983). ANalysis of the passive mechanical properties of rat carotid arteries. J. Biomechanics, **16**, 703-715.

WIEGAND W., GOLENHOFEN K. (1987) Changes of diameter and length in cylindrical segments of canine femoral arteries during activation at different pressures. Pflugers Arch., **409**, 302-307.

WOO S. L-Y., MOW V.C., LAI W.M. (1987) Biomechanical properties of articular cartilage. In Handbook of Bioengineering (Edited by Skalak R. and Chien S.),pp 6.1-6.19, McGraw-Hill, New York.