

ADERSON GEGLER

**APLICAÇÃO DE SISTEMAS MORFOMÉTRICOS BIDIMENSIONAL E
TRIDIMENSIONAL E ANÁLISE HEMODINÂMICA EM MODELOS DE
CORROSÃO VASCULAR**

Tese apresentada como requisito para obtenção do grau de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Estomatologia Clínica da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Antonieta Lopes de Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Alois Lametschwandtner

Porto Alegre

2007

RESUMO

O estudo de modelos de corrosão vascular por microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma ferramenta útil na abordagem micro-anatômica de sistemas vasculares, porém estudos quantitativos não são frequentemente desenvolvidos. Este trabalho é composto por três estudos nesta área de corrosão vascular e microscopia eletrônica de varredura, com ênfase em sistemas de quantificação.

No primeiro artigo foi realizada uma revisão de literatura sobre o tema. Foram abordados métodos de avaliação quantitativa bidimensionais (2D), tridimensionais (3D), princípios teóricos ideais baseados em mínimo volume luminal, força de bombeamento sanguíneo, superfície luminal e força de atrito, bem como de sistemas circulatórios de distribuição e de entrega. Para o entendimento desses sistemas vasculares e a avaliação de suas características hemodinâmicas foram abordados também conceitos fundamentais de mensurações não-dimensionais, como o índice de bifurcação e a razão de área.

O segundo trabalho consiste em uma nova proposta para análises quantitativas de sistemas vasculares. São comparadas duas ferramentas de avaliação 2D realizadas por meios de programas de computadores, o laço magnético e o *threshold*, a um padrão-ouro. Ambos superestimam a quantidade de vasos presentes no sistema, porém o laço magnético tem uma aproximação maior da realidade, quando se avaliam redes vasculares que tendem a ser planas.

Já no terceiro estudo, glândulas submandibulares de ratos Wistar foram, pela primeira vez, mensuradas quanto a ângulos e diâmetros de toda a árvore vascular. Os resultados foram avaliados à luz dos princípios teóricos ideais revisados no primeiro artigo e mostram não haver uma associação direta entre o sistema estudado e qualquer deles. Porém, esse resultado deve ser interpretado levando-se em consideração o baixo custo de energia despendido pelo organismo, relatado na literatura, em consequência de sistemas que não aderem aos princípios teóricos.

A união destes estudos permite concluir que poderosas ferramentas para estudos na área vascular estão disponíveis hoje e, ainda que pouco utilizadas, podem ser aplicadas a diferentes tecidos, órgão ou espécies, sendo eles sadios ou alterados, com o intuito de se obter conhecimento vascular fisiológico e anatômico.

Palavras-chave: Molde por Corrosão. Análise Quantitativa. Microscopia Eletrônica de Varredura. Vasos Sanguíneos. Morfologia. Glândula Submandibular.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	38
2 OBJETIVOS	42
2.1 Objetivo Geral	42
2.2 Objetivos Específicos.....	42
2.2.1 Artigo I.....	42
2.2.2 Artigo II.....	42
2.2.3 Artigo III.....	43
ARTIGO I	44
RESUMO	46
ABSTRACT	46
INTRODUÇÃO.....	47
REVISÃO DA LITERATURA	49
DISCUSSÃO.....	58
AGRADECIMENTOS	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
FIGURA	69
ARTIGO II.....	70
ABSTRACT	72
INTRODUCTION.....	73
MATERIAL AND METHODS	75
<i>Reproducibility of the application of the threshold tool of ImageTool®</i>	<i>75</i>
<i>Determination of the number of test areas (sample size) needed per group.....</i>	<i>76</i>
<i>Application of the magnetic lasso tool of Photoshop®</i>	<i>76</i>

<i>Application of the threshold tool of ImageTool®</i>	77
<i>Gold standard</i>	77
RESULTS.....	79
<i>Vascular corrosion castings</i>	79
<i>Gold standard</i>	79
DISCUSSION.....	81
REFERENCES.....	83
TABLE.....	86
FIGURES.....	87
ARTIGO III.....	90
ABSTRACT.....	92
INTRODUCTION.....	93
MATERIAL AND METHODS.....	95
<i>Vascular casting</i>	95
<i>Quantitative Measurements</i>	96
<i>Hemodynamic Characteristics and Calculation of Optimal Values</i>	97
<i>Statistical Analysis</i>	99
RESULTS.....	101
DISCUSSION.....	105
ACKNOWLEDGMENTS.....	109
REFERENCES.....	110
TABLES.....	115
FIGURES.....	117
6 DISCUSSÃO.....	125
7 CONCLUSÕES.....	133
7.1 Geral.....	133

7.2 Específicas	133
7.2.1 <i>Artigo I</i>	133
7.2.2 <i>Artigo II</i>	133
7.2.3 <i>Artigo III</i>	134
REFERÊNCIAS	136
ANEXOS	140

1 INTRODUÇÃO

A técnica de modelos de corrosão vascular vem sendo utilizada há várias décadas, como método de estudo macro-anatômico vascular (BATSON, 1955; TANIGUCHI, OHTA, TAJIRI, 1952; TANIGUCHI *et al.*, 1955). Com o surgimento de resinas capazes de uma moldagem mais fina e fidedigna e com a associação da técnica à microscopia eletrônica de varredura (MEV) (MURAKAMI, 1971), um novo campo de estudo foi aberto. A partir de então, tornaram-se possíveis pesquisas com redes vasculares micro-circulatórias. Os vasos terminais (arteríolas, vênulas e capilares, inclusive) passaram a ser visíveis não somente com microscopia de luz e confocal, mas de forma a possibilitar uma idéia tridimensional (3D) da micro-angioarquitetura desses vasos.

Logo após, diversos métodos de análises quantitativas começaram a ser propostos devido às necessidades intrínsecas de serem realizadas comparações entre sistemas ou mesmo de serem conceituados, quantitativamente, sistemas circulatórios (WEIBEL, 1979; SCHRAUFNAGEL, 1987; NELSON, 1987; MÖNNIG *et al.*, 1988). Com o advento e a evolução dos computadores e da velocidade de processamento de dados, esses métodos foram sendo desenvolvidos e tornando-se mais refinados, até que fossem alcançados os sistemas hoje disponíveis (MALKUSCH *et al.*, 1995; MINNICH *et al.*, 1999 (Figura 1); KOMATSU, TSUBUSAKI, MIYOSHI, 1999; MANELLI *et al.*, 2007; GEGLER *et al.*, *no prelo*).

Por conseguinte, pesquisas na área da biologia teórica sobre leis hemodinâmicas que começaram a ser desenvolvidas no início do século passado (MURRAY, 1926a; MURRAY, 1926b), inicialmente com base em princípios matemáticos e na mecânica dos fluidos (POISEUILLE, 1840), passaram a ter um novo foco de desenvolvimento e aprimoramento com novas abordagens dos princípios de mínimo volume luminal, superfície luminal, força de atrito e de bombeamento (ZAMIR, 1976; ZAMIR, 1988b; ZAMIR, PHIPPS, 1988), bifurcações não simétricas (ZAMIR, 1978), custo de energia despendido pelo sistema para incorporação dessas leis (ZAMIR, BIGELOW, 1984), sistemas de distribuição ou entrega de suprimento sanguíneo (ZAMIR, 1988a). Por final, a tecnologia disponível e os sistemas de morfometria até o momento desenvolvidos propiciaram a aplicação desses

As referências bibliográficas relativas a este capítulo, bem como ao capítulo de Discussão, encontram-se ao final desta tese, no capítulo REFERÊNCIAS.

modelos matemáticos, até então teóricos, em estudos de sistemas vasculares reais (CECON, MINNICH, LAMETSCHWANDTNER, 2002; GÖSSL *et al.*, 2003a; GÖSSL *et al.*, 2003b; LAMETSCHWANDTNER *et al.*, 2004; STÖTTINGER *et al.*, 2006, KACHLIK *et al.*, 2007), com o intuito de entendê-los e compará-los entre diferentes tecidos, órgãos, espécies ou ainda entre situações fisiológicas e patológicas.

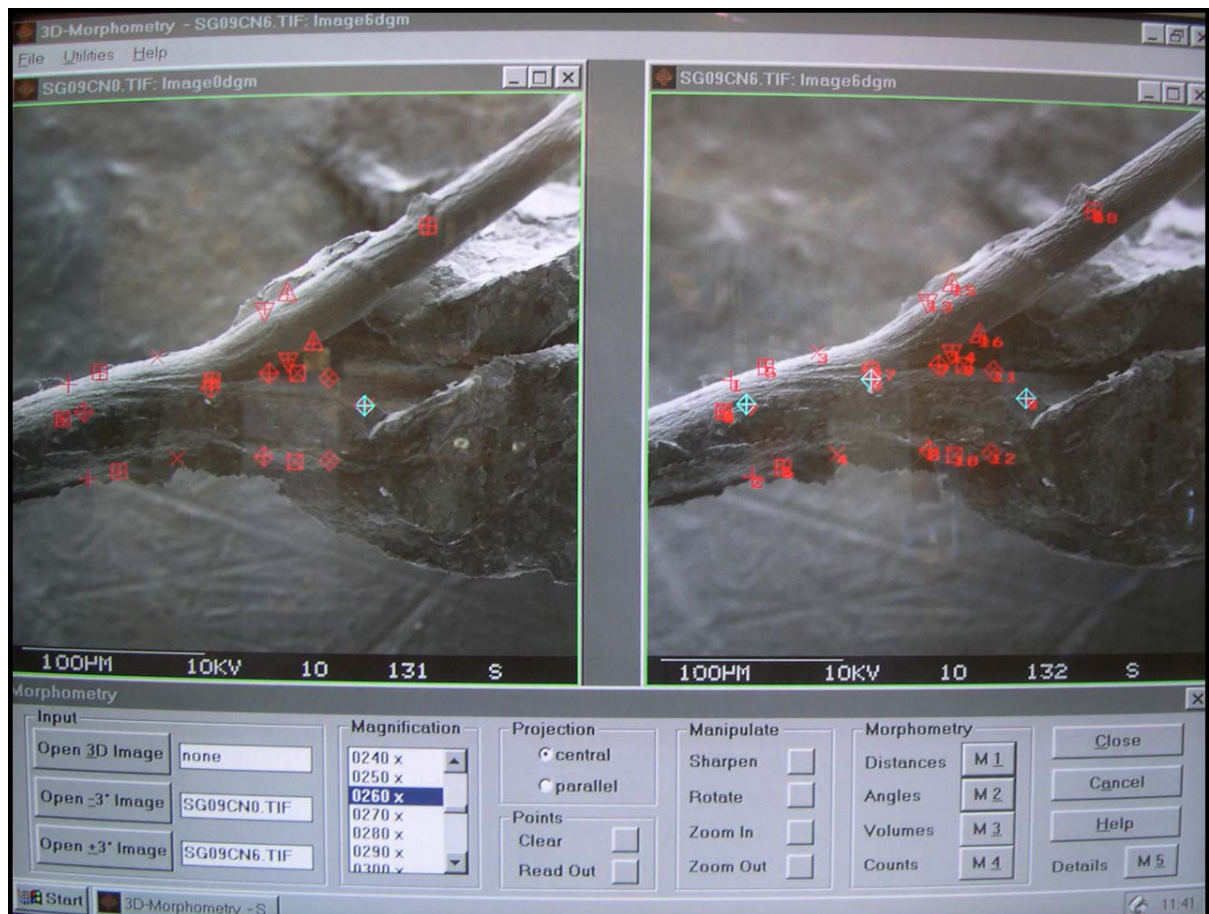


Figura 1: Tela do programa 3D-Morphometry® (Minnich & Muska, OEG, Salzburg, Áustria). Imagem da esquerda - 0° de inclinação, da direita - 6°. Marcação de pontos correspondentes em ambas as imagens para o cálculo dos diâmetros e ângulos.

Na tentativa de aproximação aos sistemas de morfometria condizentes com o estado da arte neste campo da ciência, surge o problema do custo, que para muitos centros de pesquisa constitui-se condição proibitiva. Isso traz à tona a necessidade de desenvolvimento de ferramentas alternativas e confiáveis a estes sistemas, que possam fornecer informações relevantes e de valor científico – principalmente para análises comparativas entre

tecidos/órgãos sadios e doentes ou entre diferentes órgãos, tecidos ou espécies – para pesquisas na área vascular.

Considerando a disponibilidade recente das técnicas de avaliação 3D, capazes de realizar uma análise hemodinâmica e anátomo-funcional de sistemas vasculares específicos, poucos órgãos, tecidos ou espécies animais já foram estudados. Visto que não há relatos na literatura científica internacional, este é o primeiro estudo em que é realizada uma avaliação desses parâmetros usando como substrato glândulas salivares normais, onde foi possível aplicar modelos matemáticos e compará-los com princípios hemodinâmicos teóricos ideais, na tentativa de obter informações sobre o funcionamento de glândulas sadias e disponibilizar recursos para futuros estudos utilizando glândulas histologicamente alteradas. O propósito final é o de contribuir para o entendimento, tanto da formação de condições patológicas quanto das suas necessidades de suprimento nutricional, considerando que à luz do conhecimento atual é consenso que em muitas doenças o suprimento sanguíneo é fundamental para o desenvolvimento das mesmas.

7 CONCLUSÕES

7.1 Geral

Poderosas ferramentas de avaliação e comparação de sistemas vasculares estão hoje disponíveis, mesmo que ainda pouco utilizadas. Informações destes sistemas podem ser úteis para uma melhor compreensão do desenvolvimento de doenças nas quais se encontra um importante componente vascular nutricional, como por exemplo no caso de tumores.

7.2 Específicas

7.2.1 Artigo I

Uma grande quantidade de conhecimento no campo da hemodinâmica dos sistemas circulatórios está disponível na literatura científica. Poderosos sistemas de morfometria são utilizados hoje na obtenção de informações sobre estes sistemas, desde seu desenvolvimento, comparações entre diferentes tecidos, órgãos ou espécies e ainda entre tecidos saudáveis e doentes, por meio dos quais se poderá buscar um melhor entendimento relativo ao desenvolvimento da angioarquitetura e suprimento nutricional de tumores e outras doenças.

7.2.2 Artigo II

Ambas as ferramentas de morfometria 2D testadas são reprodutíveis, porém superestimam a percentagem de área vascular (laço magnético em torno de 6% e *threshold* em

torno de 22%). Considerando a contração de polimerização da resina utilizada (~6%), o resultado da ferramenta laço magnético pode ser tolerado.

7.2.3 Artigo III

Aparentemente, o sistema vascular de glândulas submandibulares não cumpre os critérios teóricos necessários para ser classificado como ideal. Em contrapartida, os princípios teóricos ideais podem admitir uma grande oscilação de ângulos de bifurcação com uma perda de energia muito pequena para o organismo, assumindo valores ideais não tão rígidos.