

**Univerzita Karlova v Praze**

**1.lékařská fakulta**

**DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**Téma: Příspěvek k hemodynamice cévních  
spojení**

MUDr. Tomáš Grus

Postgraduální doktorské studium biomedicíny

Oborová rada 17: Experimentální chirurgie

předseda: Prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.

Školící pracoviště: Všeobecná Fakultní Nemocnice Praha

Školitel: Doc.MUDr. Jaroslav Lindner, CSc.

Praha 14.09.2009

# Obsah

<b>Obsah</b> .....	2
<b>Poděkování</b> .....	5
<b>Seznam zkratk</b> .....	6
<b>1 Úvod</b> .....	8
<b>2 Přehled o současnem stavu problematiky</b> .....	11
2.1 Femoropopliteální bypass .....	12
2.2 Typy cévních spojení .....	15
2.2.1 Distální anastomóza .....	15
2.3 Hemoreologie.....	20
2.4 Hypotézy,základní rozdělení.....	23
<b>3 Cíl práce</b> .....	25
<b>4 Materiál a metodika</b> .....	27
4.1 Klinická příprava k sestavení modelu.....	27
4.1.1 Vytvoření databáze pro výchozí data.....	27
4.1.2 AngioCT v 3D.....	35
4.2 Doporučení pro numerické modelování a experimentální část.....	37
4.2.1 Výběr optimalizačních parametrů.....	37
4.2.2 Doporučení pro výstavbu experimentálního modelu.....	38
4.2.3 Pracovní kapalina.....	40
4.2.4 Značkovací částice .....	41
4.2.5 Teorie podobnosti .....	41
4.2.6 Modely .....	42
4.3 Numerické zpracování .....	44
4.3.1 Geometrie modelů .....	44
4.3.2 Síť .....	45
4.4 Experimentální část .....	46
4.4.1 Metoda PIV .....	46
4.4.2 Vytvoření experimentální sítě .....	47
4.4.3 Vlastní měření vizualizace .....	50
4.4.4 Intimomediální hyperplazie v anastomóze, klinické sledování .....	55
<b>5 Výsledky</b> .....	57

5.1	Klinické vyhodnocení angiografických nálezů.....	57
5.1.1	Vyhodnocení úhlu a místa změny v průsvitu.....	57
5.2	Experimentální vizualizace.....	58
5.2.1	Vliv rozdílného poměru průměru náhrady a tepny na proudový obraz. ....	60
5.2.2	Zpracování smykového napětí z experimentu .....	62
5.2.3	Zpracování smykového napětí z numerického modelování.....	64
5.2.4	Charakter proudění v oblasti anastomózy .....	65
5.2.5	Rozložení rychlosti při průchodu krevního proudu anastomózou .....	67
<b>6</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>69</b>
<b>7</b>	<b>Použitá literatura</b> .....	<b>71</b>
<b>8</b>	<b>Publikační činnost k tématu práce</b> .....	<b>79</b>
<b>9</b>	<b>Ostatní publikační a přednášková činnost</b> .....	<b>81</b>
<b>10</b>	<b>Přílohy</b> .....	<b>89</b>
	<b>Příloha 1</b> .....	
	Lindner J, Šimo J, <b>Grus T</b> . A Case Report of an Extra Anatomical Cartico-iliac Bypass. Eur Jour BASF Endovasc Surg Extra. 9, 2005, 16-18. <b>IF = 1,774</b>	
	<b>Příloha 2</b> .....	
	Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Mayer E, Bláha J, Paleřek T, Aschermann M, <b>Grus T</b> , Ambrož D, Tošovský T, Vítková I. Implementation of a New Programme for the Surgical Treatment of CTEPH in the Czech Republic – Pulmonary Endarterectomy. Thoracic and Cardiovascular Surgeon 54(8), 2006, 528-531. <b>IF = 0,814</b>	
	<b>Příloha 3</b> .....	
	<b>Grus T</b> , Lindner J, Vik K, Tošovský J, Matěcha J, Netřebská H, Tůma L, Adamec J. Particle Image Velocimetry Measurement in the Model of Vascular Anastomosis. Prague Medical Report 108(1), 2007, 75-86.	
	<b>Příloha 4</b> .....	
	Tikhonoffa V, Staessenb J, Kuznetsovab T,Thijsb L, Hasenkampe S, B“Sumere V, Stolarzf K, Seidlerová J, Filipovský J, Nikotine Y, Peleška J, Kawecka-Jaszczf K, Casigliaa E, Brand-Herrmanni S, Brande E .	
	The following investigators participated in the EPOGH Study.	
	Belgium (Leuven): Balkestein E, Celis H,Den E, Hond, Tabard R,Ga_sowski J, .	
	Kuznetsova T,Li Y, Nawrot T, Plusquin M,Thijs L,Staessen A, Wang JG;	

Bulgaria (Sofia): Nachev C, Postadjian A, Prokopova E, Shipkovenska E, Vitljanova K;

**Czech Republic (Pilsen and Prague):** Beran O, Filipovský J, Golář L, **Grus T**, Grusová G, Jáchymová, Seidlerová J, Marečková Z, Peleška J, Svobodová V, Tichá M,

Italy (Padua): Casiglia E, Schiavon L, Tikhonoff V;

Poland (Cracow): Adamkiewicz-Piejko A, Cwynar M, Grodzicki T, Kawecka-Jaszcz K, Lubaszewski W, Olszanecka A, Stolarz K, Wizner B, Wojciechowska W, Zyczkowska J;

Romania (Bucharest): Babeanu S, Jianu D, Sandu D, State D, urea M;

Russian Federation (Novosibirsk): Kuznetsova T, Malyutina S, Nikotin Y, Pello E, Ryabikov M, Voevoda M.

Project coordinator Staessen JA Scientific coordinator. SAH Gene Variants Revisited in the European Project on Genes in Hypertension ( EPOGH). 26 (2), 2008, 244 – 250. **IF = 4,364**

**Příloha 5** .....

**Grus T**, Lindner J, Vidim T, Tošovský J, Matěcha J, Rohn V, Lambert L, Grusová G. The Anastomosis Angle Is a Key to Improved long – Term Patency of Proximal femoropopliteal bypass. Annals of Vascular Surgery 23(5), 2009, 598-605. **IF = 1,262**

## PODĚKOVÁNÍ

Chtěl bych touto formou poděkovat všem, kteří se podíleli na mé cestě k dokončení této práce, zvláště pak:

**Doc. MUDr. Jaroslavu Lindnerovi, CSc**, mému školiteli, který mne provází celým svým profesním životem od skončení studia medicíny na lékařské fakultě. Právě on mi dal základy pro vědeckou činnost, vytrvalost a cílevědomost. Obzvláště mu však chci poděkovat za jeho lidskost, čestnost a vždy podanou pomocnou ruku ve chvílích, kdy jsem to opravdu potřeboval.

**Doc. MUDr. Milanu Krajíčkovi, DrSc** za celou řadu nápadů a podnětných připomínek.

**Doc Ing. Josefu Adamcovi, CSc** a celému jeho týmu v Ústavu mechaniky tekutin a energetiky na ČVUT, protože bez jejich pomoci a grantu (101/05/0675) by nikdy tento experiment nevznikl.

**Ing. Janu Matěchovi**, který byl v průběhu pěti let mým nejbližším spolupracovníkem v experimentální laboratoři a také učitelem potřebného matematického minima k zvládnutí této práce.

Také moje poděkování patří celé mé rodině, obzvláště manželce Gabriele a dětem za trpělivost a podporu v průběhu studia.

## Seznam zkratek

AFC - femoralis comunis (AFC)  
AFS - arteria femoralis superficialis  
AG - angiografie  
AP - arteria poplitea  
APF - arteria femoralis profunda  
AV ČR - Akademie věd České republiky  
CAD – Computer aided design  
CAE systémy  
CFD - Computational Fluid Dynamics  
CTA – Constant Temperature Anemometry  
ČVUT - České vysoké učení technické  
D - průměr trubice  
DMA - průměr tepny modelu  
DMG - průměr cévní náhrady modelu  
DOS – distal outlet segment  
FP - femoropopliteální bypass.  
 $\dot{\gamma}$  – rychlost smykové deformace  
g - gravitační síla  
GP - membránové glykoproteiny  
h - výška pravé síně  
 $\eta$  – dynamická viskozita  
H – hematokrit  
IH - intimomediální hyperplazie  
LADOS - délka tepny v oblasti DOS  
LAPOS - délka tepny v oblasti POS  
LDA - Laser Doppler Anemometry  
LG - délka cévní náhrady modelu  
n - kinematická viskozita tekutiny  
P - hydrostatický tlak  
PIV - Particle Image Velocimetry  
POS - proximal outlet segment

PM – poměr průměrů

PTA - perkutánní transluminální angioplastika

PTFE - Polytetrauoroethylene

Q – průtok

$\rho$  - hustota krve

Re - Reynoldsovo číslo

t – čas

$\tau$  - smykové napětí

UK - Universita Karlova

UVP - Ultrasonic Velocity Profiling

V - rychlost

$\Delta v$  – rozdíl rychlosti ve vzdálenosti  $\Delta r$

VSM - vena safena magna

WSS - smykové napětí na stěně tepny

$vWf$  - von Willebrandův faktor

1. LF a VFN - 1. Lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice

## 1. Úvod

Je již dávnou minulostí, kdy se cévní výkony omezily pouze na podvaz poraněných cév či výdutí. Také mnoho času uplynulo od provedení prvního femoropopliteálního bypassu reverzní safénou. V současné době se výrazně posunula hranice možností prováděných cévních výkonů, díky komplexnímu medicínskému přístupu a tím se rekonstrukční cévní chirurgie přiřadila k základním lékařským oborům.

Cévní chirurgie se také dostává více do popředí i díky rozmachu dalších oborů, jako je například diabetologie, kardiologie, onkologie. Spolu s rozvojem nových léčebných postupů a metod napomáhá následnému zlepšení kvality života a v některých případech i prodlužování průměrné délky života (například operace karotid, výdutí). Prodloužení délky života je však tím pádem spojeno s progresí některých patologických jevů ovlivňujících tepenný systém, ať přímo nebo nepřímo. To vede k podstatně závažnějším nálezům na tepenném systému a k výrazně technicky náročnějším operačním výkonům. Medicína kráčí vpřed mílovými kroky a možná za několik let i v oblasti cévní chirurgie budeme pátrat po genech, které ovlivňují postižení právě femoropopliteálních úseku.

V současné době však víme, že významnou roli v onemocnění tepenného systému sehrává arterioskleróza. Anatomicky se tato cévní patologie může projevovat dvěma základními formami: obliterující a dilatující forma arteriosklerózy (1, 2).

Typickým projevem degenerativního onemocnění tepenné stěny, zejména při postižení arteriosklerózou, je zúžení neboli **stenóza**. Projevuje se dvěma způsoby. Zúžením účinného průsvitu postižené tepny, nebo mění kvalitu cévní stěny.

Další velmi častou patologií je **uzávěr**. Ten může vzniknout dvěma zcela odlišnými patofyziologickými mechanismy. Je to jednak akutní tepenný uzávěr a jednak pozvolný tepenný uzávěr na podkladě chronického onemocnění, kterým je opět v nemalém procentu arterioskleróza .

V souvislosti s arteriosklerózou nesmíme opomenout ani **výdutě**, které mohou vznikat kdekoli v průběhu tepenného systému s predilekcí na subrenální oblast aorty. Vznikají nejčastěji na podkladě dilatační formy arteriosklerózy (3, 4, 21, 23).

I když někteří skeptici po rozmachu angiologie a zavedení perkutánní transluminální angioplastiky (PTA) do praxe se domnívali, že cévní chirurgie bude mít



zejména na dolních končetinách rapidní úbytek výkonů, čas ukázal, že tomu tak není. Nadále zůstává jednou z možností léčby postižení periferního cévního systému provedení bypassu, kde se uzavřený nebo stenotický úsek tepny obchází náhradou z biologického nebo syntetického materiálu (5, 6, 7, 16, 17, 22).

Právě zavedení protetické cévní náhrady znamenalo výrazný zlom v rozvoji cévní chirurgie. Různý kalibr protetických náhrad umožnil provádět cévní rekonstrukce i oblastí, kde průměr autologních štěpů byl nedostačující. Zejména autologní žilní štěpy jako je například vena saféna magna (VSM), tak nejsou vyčerpány pro rekonstrukce tepen středního a velkého kalibru, ale jsou rezervovány pro rekonstrukce tepenného řečiště o malém průměru tepen, jakým je například koronární řečiště (8). Protetické náhrady však nejsou vhodné do oblastí řečiště s nízkými průtoky, kde by došlo k jejich uzávěru. Zde je metodou volby použití autologních žilních štěpů – VSM (9).

Nicméně více než 25% bypassu selhává během prvního roku po provedené operaci a více než 50% se jich uzavře během 10 let (pravděpodobně na podkladě progresu arteriosklerózy). Stenóza, která následně vede k uzávěru a tím k selhání rekonstrukce se vyskytuje nejčastěji v oblasti anastomózy. V drtivé většině je příčinou stenózy intimomediální hyperplazie (IH). Tento patologický jev vede k selhání rekonstrukcí v průběhu prvního roku po provedení bypassu (10, 11, 12, 13).

Nejčastější infrainguinální rekonstrukcí v podobě bypassu je femoropopliteální bypass – anastomóza mezi a. femoralis comunis a a. poplitea, buď nad nebo pod kloubní štěrbinou (14, 15, 18). Angiografickou a klinickou indikací k provedení femoropopliteálního bypassu je dlouhý uzávěr a. femoralis superficialis s nepřítomností proximálního pahýlu povrchní tepny, kde nelze provést perkutánní transluminální angioplastiku (PTA), pro nemožnost zavedení katétru do kalcifikované léze, kdy jediným řešením při krátkých uzávěrech může být subintimální rekanalizace tepny (19, 20).

Původním impulsem k zahájení našeho výzkumu byla snaha o minimalizaci uzávěrů infrainguinálních rekonstrukcí do jednoho roku od provedení operačního výkonu a do jaké míry to může chirurg ovlivnit svoji technikou. Za předpokladu správného umístění distální anastomózy pod stenózu, správného natažení protézy, atd.

Po formální stránce je práce členěna do šesti kapitol. Toto členění zachovává obsahové uspořádání obvyklé pro dizertační práce:

1 Úvod

2 Přehled o současném stavu problematiky

3 Cíl práce

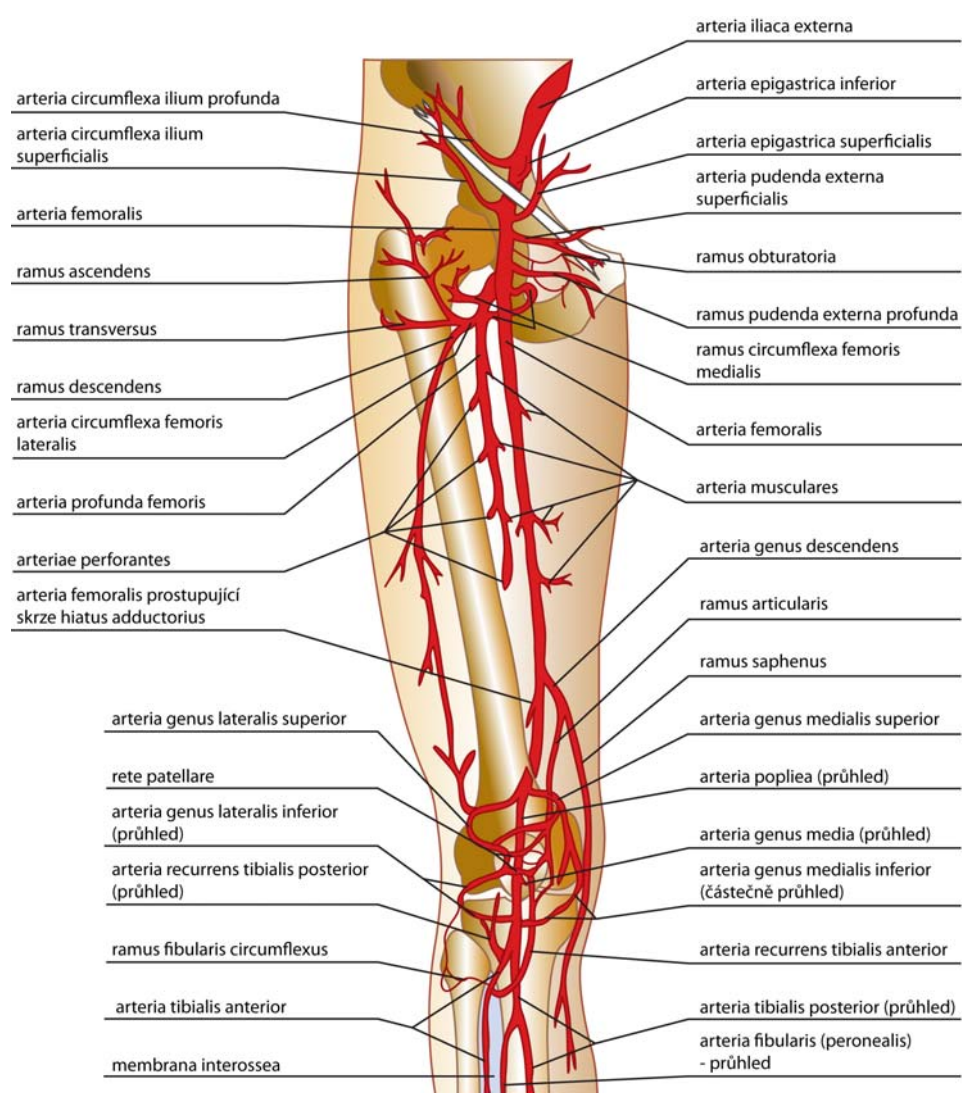
4 Materiál a metodika

5 Výsledky dizertace

6 Závěr, shrnutí výsledků

## 2 Přehled o současném stavu problematiky

Ischemickou chorobu dolních končetin rozdělujeme na formu akutní (akutní končetinová ischemie) a formu chronickou. Pojmeme periferní cévní onemocnění označujeme chronickou formu onemocnění. Periferní onemocnění tepen dolních končetin má široké spektrum příčin, které v konečném důsledku zapříčiní omezení chůze a tím způsobí postupnou invalidizaci pacienta. Nejčastěji postihuje osoby středního a vyššího věku. Prevalence výrazně stoupá s věkem. Postihuje přibližně 3 % osob starších jak 55 let, 11 % starších jak 65 let, ale již 20 % starších jak 70 let (24).



Obr.2.1 Schematické zobrazení anatomie tepen dolní končetiny

V úrovni sakroiliakálního skloubení se společná kyčelní tepna (a. iliaca comunis) rozděluje na větve: zevní a vnitřní (a. iliaca externa at interna). Zevní kyčelní tepna vydává typicky pouze dvě větve: a.circumflexa ilium profunda, a. epigastrica inferior. Poté probíhá tepna pod tříselným vazem a stává se tepnou stehenní (a. femoralis). Z a. femoralis odstupují tyto důležité větve: aa. pudendae externae, a. profunda femoris a a.descendens genicularis. Po odstupu a. profunda femoris pokračuje stehenní tepna jako a. femoralis superficialis až po výstupu tepny z Hunterova kanálu (canalis vastoadductorius), kdy její pokračování nazýváme podkolenní tepna (a. poplitea). Pod úrovní kloubní štěrbině se podkolenní tepna větví na a. fibularis, a.tibialis anterior a a. tibialis posterior. Tyto větve se v oblasti nohy spojují a vytvářejí plantární oblouk.

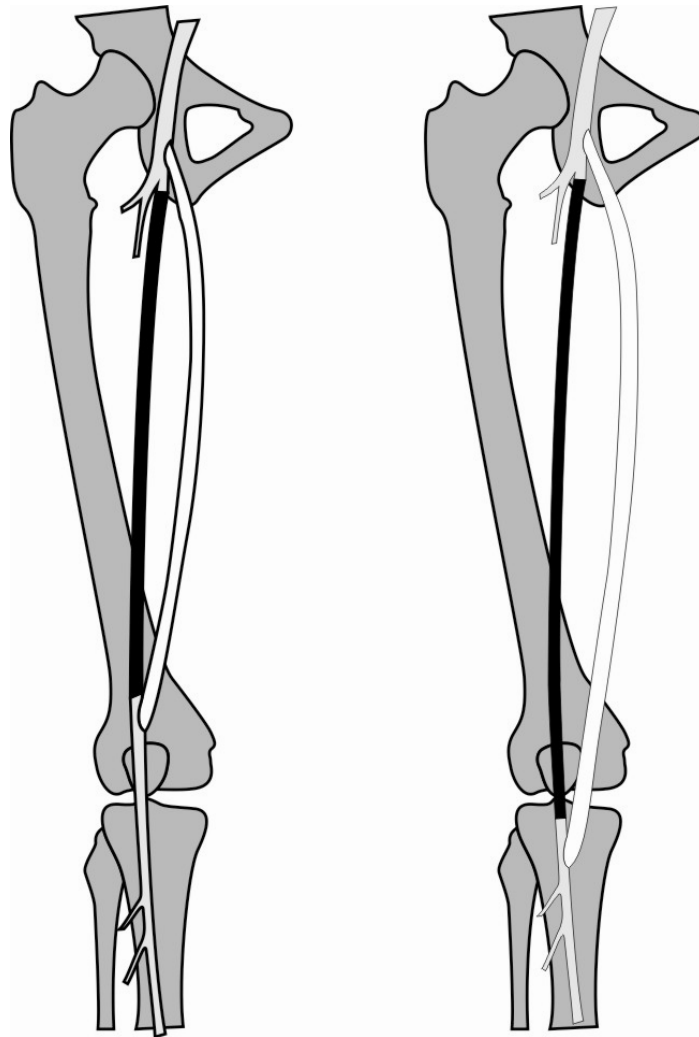
## 2.1 Femoropopliteální bypass

Femoropopliteální bypass (obrázek 2.2) je jednou z nejčastějších chirurgických výkonů používaných při léčbě uzávěru povrchní stehenní tepny a nedostatečném kolaterálním oběhu v oblasti stehna (25). Uzávěr způsobuje při zvýšené potřebě dodávky krve a zejména kyslíku do oblastí končetiny pod uzávěrem vznik ischemických bolestí příslušné části končetiny. Nejčastěji se jedná o přítomnost bolesti do oblasti lýtky při chůzi po určité vzdálenosti. Tyto obtíže nazýváme klaudikačními bolestmi a vzdálenost, po které k těmto obtížím dochází nazýváme klaudikačním intervalem, obvykle udávaným v metrech (1, 24, 26).

Princip postižení tepenného řečiště je poměrně jednoduchý a využívá poznatku, že obliterující arterioskleróza postihuje řečiště po určitých anatomických a funkčních úsecích. Většinou je tedy možné najít nepostižený, nebo jen minimálně postižený úsek pro provedení anastomózy s dostatečným přítokem krve do bypassu a dostatečnou kapacitou výtokového lože. Tento uzavřený či poškozený úsek tepny lze obejít náhradou z biologického či syntetického materiálu (5, 6, 7, 16, 17, 22, 26, 27, 28, 29). Bližší rozdělení náhrad viz tabulka 1.

Proximální anastomóza bývá zpravidla umístěna na společnou stehenní tepnu, distální je umístěna na popliteální arterii, a to buď v úseku nad kolenem, v úrovni kolene, nebo pod kolenem s ohledem na její kvalitu (distální anastomóza vždy pod stenózou na kvalitní část stěny tepny) a stav distálního řečiště (obrázek 2.2).

Distální anastomóza femoropopliteálního bypassu je oblast, kde je výskyt změn v důsledku negativního vlivu krevního proudu ve smyslu intimomediální hyperplazie nejmarkantnější (10, 30, 31, 32, 33).



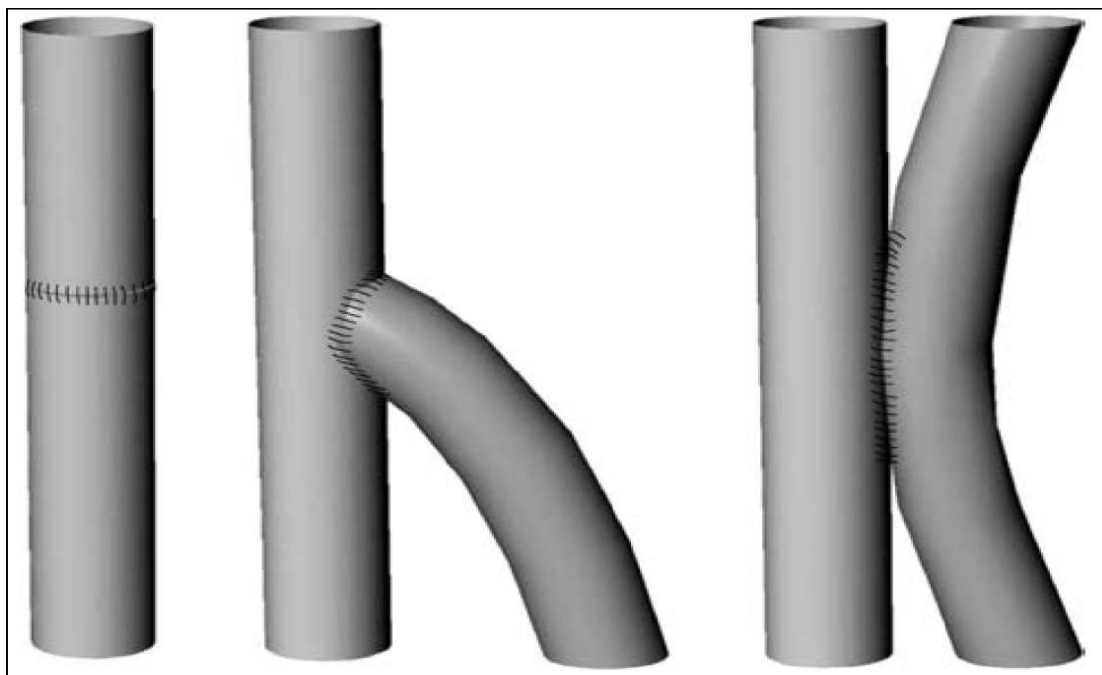
Obr. 2.2. Provedení femoropopliteálního protetického bypassu s proximální anastomózou na arteria femoralis comunis a distální anastomózy vlevo na oblast proximální arteria poplitea, vpravo na distální arteria poplitea.

Tabulka 2.1. Rozdělení cévních náhrad

<b>Biologické</b>	
<b>autotransplantáty</b>	<i>tepenné</i>
	<i>žilní</i>
	<i>jiná tkáň (fascie, kůže aj.)</i>
<b>alotransplantáty</b>	<i>tepenné</i>
	<i>žilní</i>
	<i>jiná tkáň</i>
<b>xenotransplantáty</b>	<i>tepenné</i>
	<i>žilní</i>
	<i>jiná tkáň</i>
<b>Umělé</b>	
<b>neporézní</b>	<i>sklo, kov, guma, umělá hmota aj.</i>
<b>porézní (protézy)</b>	<i>textilní pletené</i> <i>tkané</i>
	<i>netextilní lité</i>
<b>Zvláštní druhy</b>	
<b>kombinované</b>	<i>impregnace</i> <i>samonosná trubice</i>
<b>biotechnologické</b>	

## 2.2 Typy cévních spojení

Při provádění cévních rekonstrukcí se používají 3 typy cévních spojení (anastomóz), které jsou zobrazeny na obrázku 2.3.



Obr. 2.3

Typy cévního spojení. Vlevo: koncem ke konci (end-to-end); uprostřed: koncem ke straně (end-to-side); vpravo: stranou ke straně (side-to-side).

### 2.2.1 Distální anastomóza

Anastomóza (obrázek 2.3) je nejčastěji vytvořena přišitím konce cévní náhrady ke straně cílové tepny (a. poplitea). Tento typ cévního spojení se nazývá koncem ke straně (end-to-side) (34).

Anastomóza je vytvořena v několika krocích:

1.) Provedení arteriotomie v podélném směru na popliteální arterii obvykle v délce 1,6-1,8 násobku průměru zvolené náhrady. Konec protézy se upravuje sestřížením nejčastěji ve tvaru písmene S (35), (obrázek 2.4).

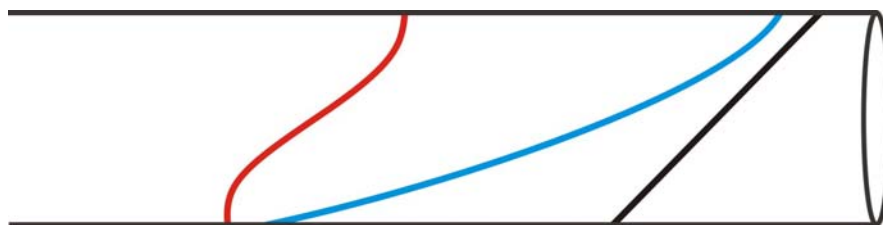
Vnitřní průměr a. poplitea se pohybuje okolo 4 - 6 mm. Přes padesát let se předává z pokolení na pokolení Szilagyihó závěr, že optimální poměr průsvitů - náhrada : céva je

1,6-1,7 : 1. Průměr cévní náhrady se tedy volí přibližně asi v rozsahu 6 - 8mm. Velikost arteriotomie do určité míry souvisí s úhlem napojení a velikostí průměru náhrady (36).

2.) Protéza se připojuje k nativní tepně pomocí cirkulárního pokračujícího stehu z nevstřebatelného vlákna. Nevstřebatelné vlákno je užito z toho důvodu, že v oblasti cévního spojení nikdy nedochází ke srůstu a vytvoření pevného spojení jako je tomu například při poranění jiných tkání. Cévní náhrada a nativní tepna se dotýkají v místě spojení svojí vnitřní stěnou (34).

3.) Protetická náhrada se v praxi nejčastěji napojuje na tepnu pod úhlem  $45^\circ$  plus minus větším nebo menším dle aktuálních možností v oblasti napojení a anatomické situace.

4.) V případě dobrého distálního řečiště - výtok minimálně do dvou bérceových tepen se užívá k provedení bypassu protetická náhrada. Umělá cévní náhrada se zpravidla používá s konstantním průměrem v celém rozsahu délky a to buď pletená polyesterová protéza impregnovaná kolagenem vrapovaná nebo nevrápaná (obrázek 2.5).



Obr.2.4

Schéma úpravy konce cévní náhrady. Tři možné způsoby ukončení: sestřížení pod úhlem  $45^\circ$ , konkávní sestřížení a sestřížení do tvaru „S“.





Obr. 2.5

Pletená polyesterová protéza impregnovaná kolagenem vrapovaná (nahore) nebo nevrápaná – litá protéza (dole).

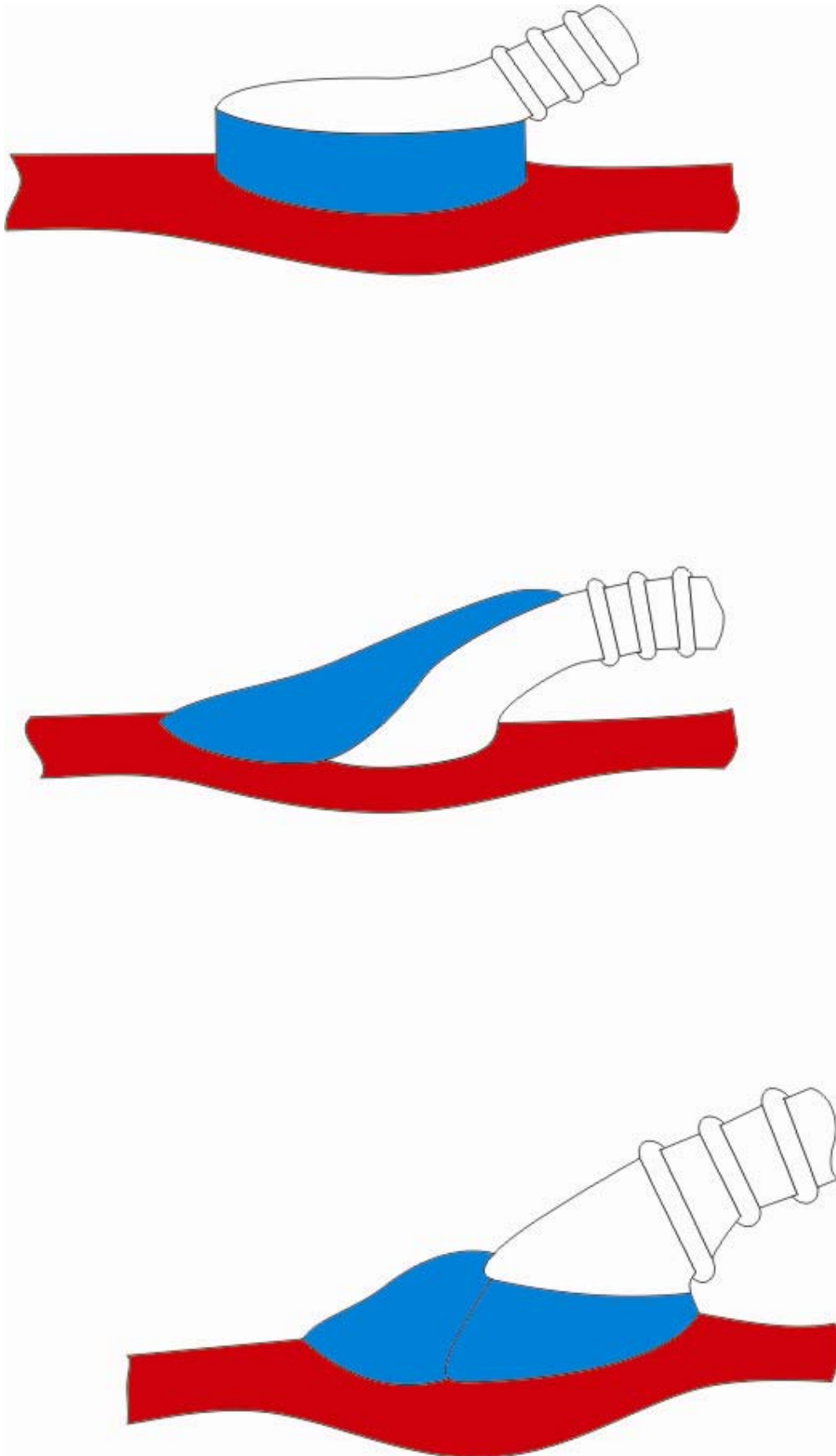
Je ale možné použití protéz konického tvaru, které se směrem k anastomóze buď rozšiřují nebo zužují. V tomto případě se jedná o textilní a lité cévní protézy vyrobené z PTFE (Polytetrafluoroethylene) (obrázek 2.6).



Obr.2.6

Rozšiřující se litá PTFE cévní protéza .

Mezi protézu a stěnu tepny v oblasti anastomózy lze vmezeřit žilní límec v podobě cirkulární plastiky, což se užívá při nedostatku žilních štěpů pro snížení negativního vlivu smykového napětí na stěnu tepny a to v podobě: Millerova límce, Taylorovy plastiky nebo St.Mary's žilní boty (obrázek 2.7) (37, 38, 39).



Obr. 2.7 V pořadí shora: Millerův límec, Taylorova plastika a St.Mary's bota.

Při špatném stavu výtokového lože – jedna bérková tepna, gracilní tepny, defekt je nejvhodnějším štěpem k provedení bypassu vlastní žilní štěp, nejčastěji vena safena magna. Pokud jsou u pacienta vlastní štěpy k provedení rekonstrukce vyčerpány nebo došlo k infekci primárně našité protězy je možné užití štěpů autologních (z mrtvého dárce) (40, 41).

Aby bylo dosaženo co nejoptimálnějšího výsledku, musí být dodrženo několik zásad:

1. Centrální anastomóza musí zajistit dostatečný přívod krve, a proto bezpodmínečně musí být našitá nad stenózu.
2. Periferní anastomóza musí být naopak našitá vždy pod stenózu na řečiště s dostatečným výtokovým ložem.
3. Dostatečně prostorný tunel pro náhradu, aby nedošlo k jejímu útlaku, při vytváření tunelu se musí postupovat obezřetně vzhledem k okolitým strukturám.
4. Velice důležité je zvolit optimální úhel napojení. Nejčastěji se v literatuře udává jako optimální úhel  $30^\circ$  (1, 24).
5. Správně vytvořit poměr sestřiženého průsvitu náhrady k vytvořené arteriotomii. V současné době je doporučován poměr 1,6 -1,7 : 1 (1, 24).
6. Náhrada musí být implantována pod optimálním napětím a přísným zachováním podélné osy.

## 2.3 Hemoreologie

Hemodynamické síly působí na cévu komplexně. Tok krve je způsoben rozdílem tlaků mezi jednotlivými úseky krevního oběhu. Znamená to, že krev může proudit pouze z míst vyššího tlaku do míst tlaku nižšího. Tento tlakový gradient je generován srdcem a umožňuje toku krve překonat odpory v krevním řečišti, závislé na průsvitu cév, jejich délce a na viskozitě krve. Tlak krve je tedy považován za sílu odpovědnou za pohyb krve. Hydrostatický tlakový spád, jehož základní úroveň a směr určuje objemová a tlaková práce srdce, strukturální zformování cévního řečiště a viskózní vlastnosti krve (42).

Hydrostatický tlak je dán vztahem:

$$P = - \rho \cdot g \cdot h \text{ ( dynes/cm}^2 \text{ )}$$

$P$  = hydrostatický tlak,  $\rho$  = hustota krve, přibližně  $1056 \text{ gm/cm}^3$ ,  $g$  = gravitační síla,  $980 \text{ cm/sec}^2$ ,  $h$  = je přibližně výška pravé síně , cca  $114 \text{ cm}$ .

Z fyzikálního hlediska tok krve charakterizují dva parametry: smykové napětí (shear stress) a smyková rychlost (shear rate) (43, 44, 45, 46, 47, 48).

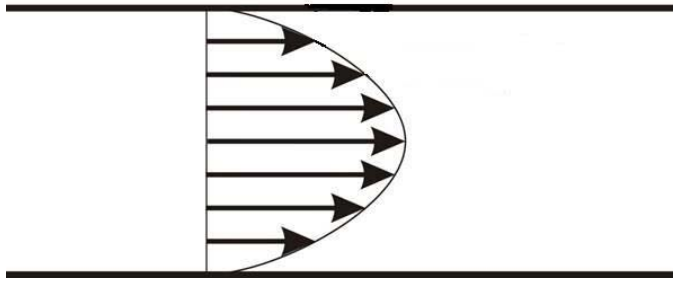
Smykové napětí je síla, která působí na jednotku plochy, deformuje ji a podporuje tok krve. Současně vyjadřuje tření mezi jednotlivými vrstvami proudící tekutiny a mezi tekutinou a stěnou cévy. Vzniká vlivem hydrostatického tlaku krve. Má úzký vztah k rychlosti toku krve a průsvitu cévy (58, 59).

Smyková rychlost je rychlostní gradient mezi přilehlými vrstvami tekutiny. Klesá od cévní stěny směrem k lumen a současně se zvyšuje směrem k periférii cirkulace, t.j. největší je v kapilárách a nejnižší ve venulách. Je to vlastně opak rychlosti toku krve.

Musíme si uvědomit, že kinetická energie objemové jednotky má rozměr tlaku. Vyplývá to se zákona o zachování energie pro objemovou jednotku kapaliny, t.j. z Bernoulliho principu. U kapalin nedochází k deformaci struktury, jako je to u pružných těles, ale k posuvu molekul a překonávání třecích sil. Rychlost jakou se kapaliny „deformují“ závisí od dynamické viskozity, neboli vnitřního tření. Tento koeficient úměrnosti, označován písmenem  $\eta$ , je proměnlivá veličina v závislosti na teplotě, rychlosti krevního toku.

Viskozita krve jakožto míra vnitřního tření v tekutinách je v cévách s rychlým prouděním přibližně dvakrát tak velká jako je rychlost plazmy a krev se tady chová více jako emulze než suspenze. Při zpomaleném toku krve se však viskozita značně zvýší a tím se značně změní reologické vlastnosti krve.

Za zcela optimálních podmínek je proudění krve laminární. To znamená, že směr toku všech vrstev krve v cévě je rovnoběžný s dlouhou osou cévy. Elementy postupují souběžně, sice s různou rychlostí, ale od minimální při stěnách tepny až po maximální ve středu tepny (obrázek 2 .8).



Obr. 2.8

Schematické znázornění postupu krevních elementů v průřezu cévou.

Také uspořádání krevních elementů je dané. Koncentrace erytrocytů směrem do středu cévy roste a krevní plasma je na okraji cévy. Všechno se ale rázem změní, změnou smykového napětí, či změnou viskozity krve (51).

Za fyziologické situace není membrána cévního endotelu v přímém styku s proudící krví, protože endotel má schopnost vylučovat glykosaminy a mukoproteiny (tzv. glykokalyx) s antitrombotickými vlastnostmi. Tato ochranná vrstva dělá endotel intaktním (52). V arteriích je endotel poměrně silný, má tloušťku 1 - 3 mm (v žilách jen 0,4 mm) (56).

V arteriálním řečišti je proudění krve velmi intenzivní, a proto v místě, kde není „klasicky“ porušen endotel, se neuplatní „klasická“ aktivace deštiček, ale dochází k aktivaci deštiček zvýšenou smykovou zátěží. V místě zvýšené turbulence dochází k adhezi deštiček aktivovaných smykem k navázání na von Willebrandův faktor (vWf) (53, 54, 57). Ten se naváže na destičkové membránové glykoproteiny (GP) tvořené komplexem GP Ib-IX-V (CD 42a/CD 42b). Destičkový GP V je také vysoce afinitní k receptoru pro trombin. Toto je označováno jako tzv. „nepevná adheze“ deštiček aktivovaných „smykem“ (55, 56). V oblastech víru se již mění laminární proudění na turbulentní (krev proudí cévou ve směrech, které svírají s dlouhou osou cévy různé úhly i pravé), dochází ke změně tokových vlastností krve, odpor kladený krevnímu toku je zvětšen o tzv. rigidní odpor a vzniká riziko poškození cévního endotelu, zvýší se hladina f.VIII., fibrinogenu, které se navážou na erytrocyty, vzniká tzv. „sludge“ fenomén, který zvýší viskozitu krve.

Všechno však bývá jinak, když dojde i k nepatrnému poškození cévní stěny. Nastartuje se proces, který se označuje jako intimomediální hyperplazie (49, 50). IH je tedy univerzální reakce cév na poranění, přičemž dochází k chronickým strukturálním změnám. Jde o abnormální migraci a proliferaci buněk hladkého svalstva (24, 60).

## 2.4 Hypotézy, základní rozdělení

Úkolem teoretické části bylo také provedení literárních rešerší řešené problematiky, které bylo provedeno v rozsahu cca 300 prací, s následním provedením rozboru existujících hypotéz popisujících vztah mezi hemodynamikou a cévními nemocemi. Tyto hypotézy byly kategorizovány a konfrontovány s praktickými zkušenostmi.

Celá řada hypotéz definuje různá kritéria pro vztah různého charakteru proudění a jeho účinek na cévní stěnu v místě cévního spojení:

Texon (1965) - Teorie nízkého tlaku: Zabývá se rozložením tlaku v zakřivení cévy a předpokládá gradient tlaku mezi vnitřní a vnější stěnou. V oblasti sníženého tlaku (vnitřní stěna) dochází k vtahování endotelu do krevního řečiště (61). Je otázkou dalšího výzkumu, je-li pokles tlaku dostatečný k rozvoji patologických změn.

Fry (1968) - Teorie vysokého smykového napětí: Tato teorie předpokládá rozrušení buněk endotelu vlivem smykového napětí na stěně s následnými morfologickými změnami cévní stěny, které mohou ovlivnit transport hmoty přes vrstvu endotelu do stěny arterie (62, 63). Autor došel k závěru, že buňky endotelu se jeví normální pokud časově průměřované smykové napětí bylo nižší než  $379 \times 10^{-5} \pm 85 \times 10^{-5} \text{ N/cm}^2$

Caro et al. (1971) - Teorie transportu hmoty závislého na smyku: Tato teorie předpokládá, že cholesterol nacházející se v cévní stěně difunduje do krevního řečiště, kde je krví odplavován. V oblastech vysokého smykového napětí je odplavováno více než v oblastech s nízkým smykovým napětím, kde je přebytečný cholesterol ukládán a způsobuje vznik a progresi aterosklerotického plátu (64).

Ku et al. (1985) - Oscilační smykový index: Při nestacionárním proudění dochází v některých místech, jako například v oblasti větvení či zakřivení, ke zpětnému proudění a díky tomu se mění smykové napětí na cévní stěně během srdečního cyklu od pozitivních hodnot k negativním. Ku navrhl oscilační smykový index a pokusil se jej korelovat s vývojem aterosklerózy (65).

Kleinstreuer et al. (1991) – Teorie šířky pásma: Předpokladem je, že velmi nízké oscilační smykové napětí iniciuje aterosklerotické léze a nízké i vysoké smykové napětí na stěně přispívá k růstu útvarů plaku (66).

Thubrikar et al. (1990) – Teorie tlaku a tahu na stěnu: Tato teorie předpokládá stav, kdy v oblastech, například ve větvení nebo v ohybu, bude působit transmurální tlak na plochy koncentrace napětí a bude tak zvyšovat tangenciální napětí. Zvýšené smykové napětí ovlivní hladké svalové buňky a buňky endotelu a to ve smyslu prostupnosti pro lipoproteiny s nízkou hustotou (67, 68).

Hypotéz vyjadřujících se k vzájemnému vztahu hemodynamiky a cévní patologie na jejichž konci stojí selhání rekonstrukce je celá řada a jejich obsah, jak ukazují výše vybrané, je velmi rozmanitý. V zásadě můžeme ze souboru literatury provést naprosto základní rozdělení pro potřeby této práce, kde bylo nutné vymezit nejdůležitější parametry, které se podílí na selhání rekonstrukcí, a kterým se v následujících pasážích práce budeme věnovat s cílem ovlivnit tyto parametry tak, aby nedocházelo k vzniku a progresi vybrané cévní patologie.

Mezi nejčastěji diskutovanými parametry v literatuře, které se podílí na selhání rekonstrukcí je smykové napětí na stěně tepny (WSS) v anastomóze (44, 45, 46, 47, 69, 70, 71). Z toho důvodu bylo smykové napětí (WSS) vybráno jako hlavní optimalizační parametr při řešení problematiky naší práce v oblasti distální anastomózy proximálního protetického femoropopliteálního bypassu. Základem bylo popsat jaké rozmezí hodnot WSS je ještě přijatelné pro cévní stěnu a jaké hodnoty ať nízké nebo vysoké již vedou ke spuštění dějů vedoucích k poškození buněk cévní stěny nebo progresi intimomediální hyperplazie (72, 73).



### 3 Cíl práce

Obecným zadáním předložené dizertační práce je příspěvek k optimálnímu způsobu revaskularizace infrainguinálních rekonstrukcí. Konkrétní oblastí našeho zájmu byla distální anastomóza protetického femoropopliteálního bypassu, která je místem nejčastějšího selhání těchto rekonstrukcí. Na selhání rekonstrukce se v značné míře podílí nově vzniklé hemodynamické mechanismy, které vzniknou po naší bypassu. Proto jsme si jako cíl naší práce stanovili **optimalizovat cévní spojení infrainguinálních rekonstrukcí** distální end-to-side anastomózy z hlediska hemodynamiky a tím **minimalizovat negativní vliv dynamiky proudění** na cévní stěnu a krev, díky čemuž předpokládáme, že se sníží procento **selhání bypassu**.

#### Dílčí cíle práce byly:

Rozbor jednotlivých hypotéz popisující vztah mezi hemodynamikou a cévními patologiemi v oblasti cévního spojení. Na základě tohoto rozboru jsme vybrali optimalizační parametry, podle kterých jsme posuzovali proudění.

Provedení vlastních klinických měření v femoropopliteální oblasti, které jsou nejčastějším místem, kde jsou prováděny cévní rekonstrukce v podobě bypassu pro stenózu nebo uzávěr. Tato klinická měření sloužila jako podklady k vytvoření modelů cévního spojení a jejich požadované geometrie tak, že modelová měření odrážela reálnou situaci v anastomóze u nemocných s ischemickou chorobou tepen dolních končetin.

Vybudování experimentální tratě, která byla schopna simulovat proudění krve v modelovaných místech včetně pulzačního charakteru proudění.

Provedení série kalibračních měření pro nepulzatilní a pulzatilní charakter proudění metodou Particle Image Velocimetry (PIV, jedna z nejmodernějších metod zviditelnění proudění pomocí laserové roviny) a Laser Doppler Anemometry (LDA, metoda měřící rychlost pomocí laserového paprsku) pro srovnání proudových charakteristik (smykové napětí, prostorový a časový gradient smykového napětí, intenzita turbulence,...). Následně jsme vytvořili a provedli počítačové simulace – výpočtů, které umožnili snížit počet proměřovaných modelů.

Ověření vybraných proudových charakteristik, optimalizačních parametrů na vybraných typech vytvořených modelových situací.

Určení kritických oblastí distální anastomózy femoropopliteální protetické rekonstrukce, kde dochází ke stenózám a následně uzávěru v důsledku negativního působení hemodynamiky.

Porovnání namodelovaných situací s reálnou situací provedené femoropopliteální protetické rekonstrukce.

Navržení modifikace operačního postupu pro vytvoření optimálního cévního spojení stran eliminace negativního působení hemodynamiky.

## 4 Materiál a metodika

Vzhledem k velkému rozsahu problematiky byla nezbytná spolupráce lékařského i nelékařského-technického týmu odborníků z několika institucí:

1. ČVUT, Fakulta strojní, Ústav mechaniky tekutin a energetiky
2. Ústav pro hydrodynamiku AV ČR a Ústav termomechaniky AV ČR v Praze
3. II. Chirurgická klinika, kardiovaskulární chirurgie 1. LF a VFN v Praze

Metodika práce se skládá ze čtyř částí, které na sebe postupně navazují a vzájemně se prolínají:

- 4.1 Klinická příprava k sestavení modelu
- 4.2 Doporučení pro numerické modelování a experimentální část
- 4.3 Numerické zpracování
- 4.4 Experimentální část

### 4.1 Klinická příprava k sestavení modelu

#### 4.1.1 Vytvoření vlastní databáze pro výchozí data

Zaměřili jsme se na oblast infrainguinálních rekonstrukcí, které jsou prováděny v největším měřítku. Abychom nepřejímali data z předchozí literatury, provedli jsme škálu klinických měření, které vedly k vytvoření vlastní databáze, jejíž data byla následně použita k vytvoření experimentálních i matematických modelů.

Zadáním úkolu bylo prověřit relevantnost údajů v literatuře týkajících se rozměrů tepen a průtoků v těchto tepnách.

Provedli jsme jednak :

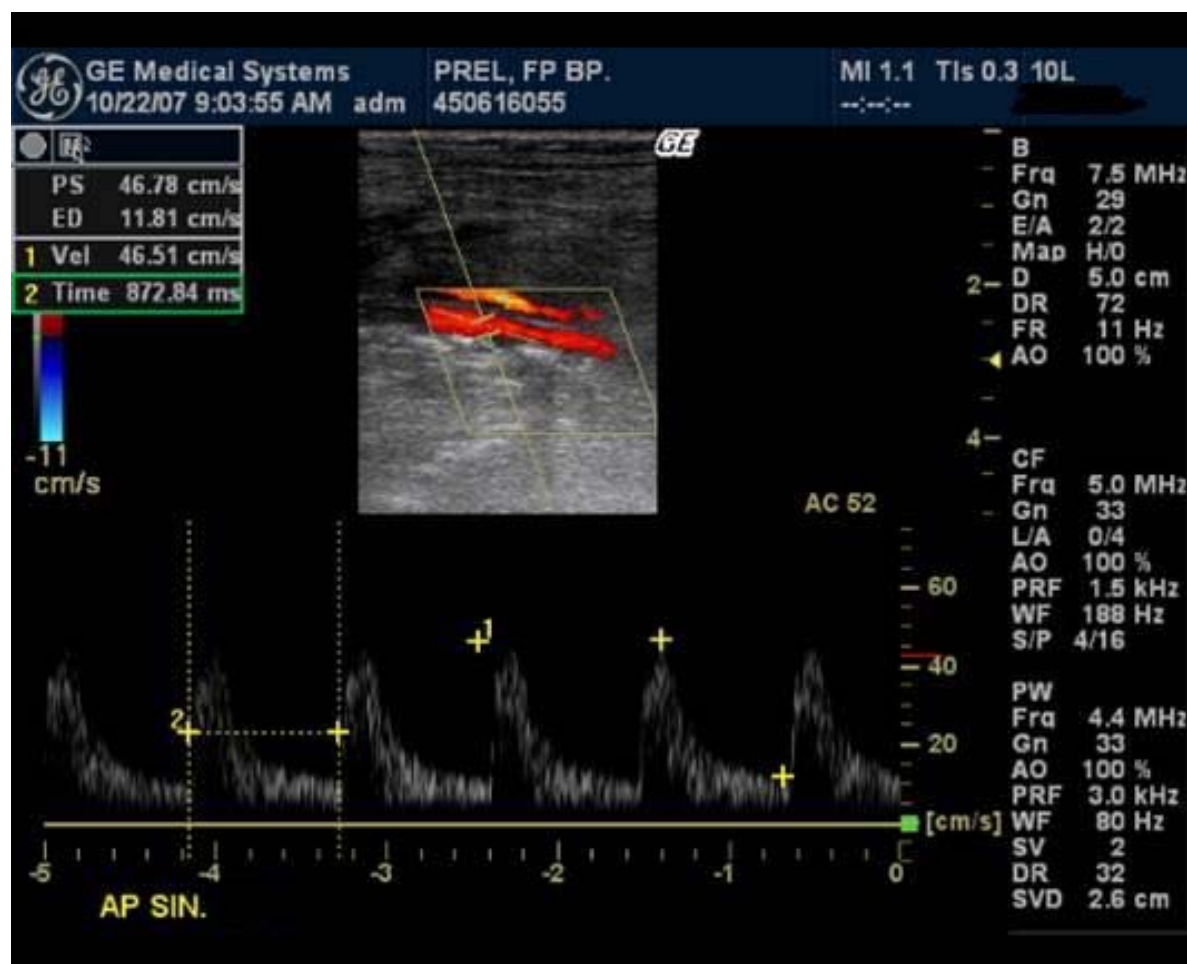
1. sonografické měření rozměrů vybraných tepen a rychlosti proudění v těchto tepnách
2. peroperační měření průměru vybraných tepen.

#### 1. Sonografické měření tepen

Sonograficky byl vyšetřen soubor 50-ti probandů bez patologie na cévním řečišti s cílem zjištění zevního a vnitřního průměru vybraných tepen a dále měření rychlostí (časově střední hodnota) v těchto tepnách. Hmotnost vyšetřených probandů byla mezi 75-85 kg a výška se pohybovala v rozmezí 170 -180 cm.

Vybrané tepny : arteria femoralis comunis (AFC), arteria femoralis superficialis (AFS), arteria femoralis profunda (APF) a proximální arteria poplitea (AP).

Z těchto naměřených parametrů jsme následně vypočítali průtok jednotlivými tepnami, což bylo nutné pro přípravu vlastního experimentu. Rozdíl mezi zevním a vnitřním průměrem se pohyboval řádově  $1,1 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$ . Vzhledem k velmi malé diferenci mezi vnitřním a zevním průměrem tepen při sonografickém měření a možné chybě vzhledem k limitaci sonografického přístroje jsme se zaměřili především na vnitřní rozměr tepny, jehož měření bylo podstatně přesnější. Sonografické vyšetření probíhalo na přístroji GE Medical Systems (GE Healthcare LOGIQ E9) vaskulární sondou 3-9 MHz.



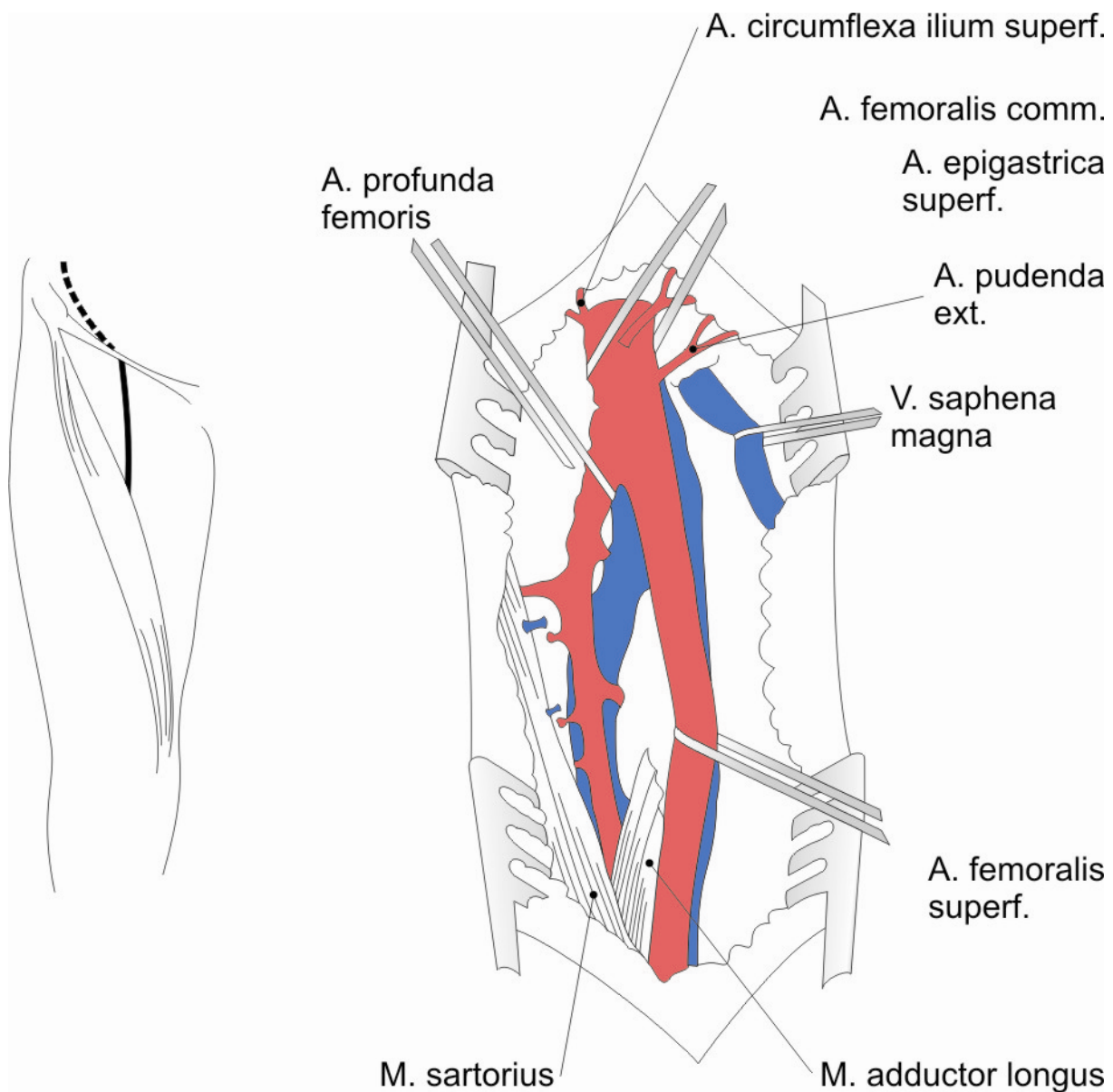
Tabulka 4.1 . Sonograficky naměřené rychlosti versus literární údaje

<b>Zprůměrované hodnoty</b>	<b>Naměřené hodnoty proudění (cm/s)</b>  II.chirurgická klinika VFN	<b>Hodnoty literatura (cm/s)</b>  Doplerovská ultrasonografie. Schering 1998	<b>Hodnoty literatura (cm/s)</b>  Peripheral Vascular Sonography Joseph F. Polak 2.edition Lippincott Williams&Wilkins 2004
<b>Arteria femoralis comunis</b>	<b>98</b>	114 ± 24,9	90-140
<b>Arteria femoralis superficialis</b>	<b>86</b>	90,8 ± 13,6	70-110
<b>Arteria femoralis profunda</b>	<b>63</b>	73,6 ± 14,1	60-90
<b>Arteria poplitea</b>	<b>52</b>	68,8 ± 13,5	50-80

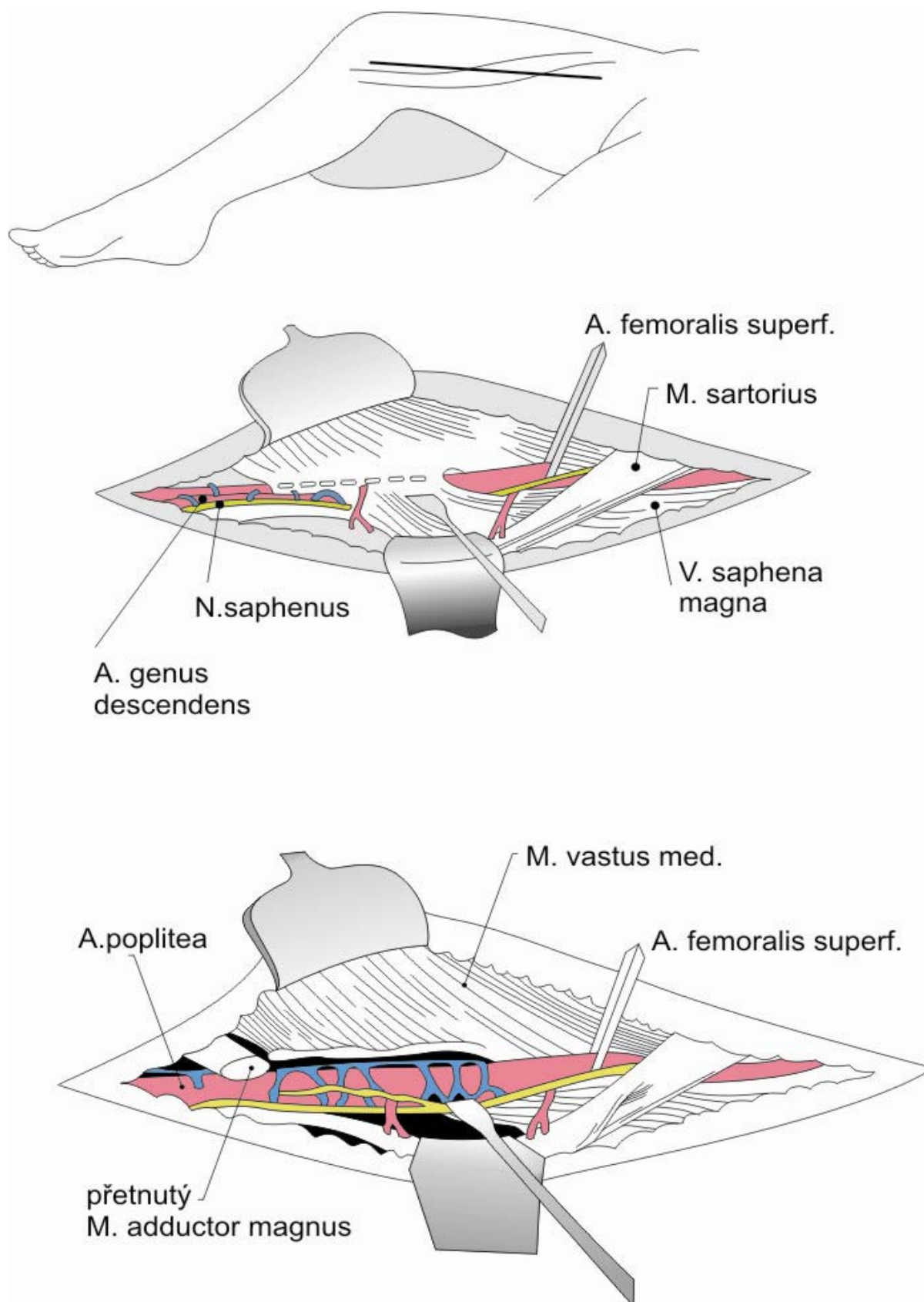
## 2. Peroperační měření tepen

### Anatomické poznámky a metodika peroperačního měření tepen

Preparaci femorální tepny jsme začali podélným řezem distálně v délce 8-10 cm lehce laterálně od středu tříselního vazy. Femorální tepna je uložena v trigonum femorale, ohraničeném ligamentum inguinale, m.sartorius a m.adductor magnus (obrázek 4.2). Prostor, ve kterém se tepna spolu s dalšími strukturami nachází označujeme fossa iliopectinea. Ta je vymezena distálním okrajem m. iliopsoas a m. pectineus. Dále v preparaci jsme postupovali podél mediálního okraje m. sartorius a m. iliopsoas, aby nedošlo k poranění lymfatických uzlin, které leží často nad průběhem arteria femoralis. Ostrou preparací jsme pronikli až k hluboké fascii, kterou jsme podélně protнули. Společnou femorální tepnu jsme preparovali spolu s jejími magistralními větvemi: arteria femoralis superficialis a arteria profunda femoris. Oddělili jsme stehenní žíly a přistoupili k měření průměru 2 cm nad bifurkací. Výše zmíněné větve jsme taktéž měřili ve vzdálenosti 2 cm od bifurkace při systolickém tlaku v rozmezí 120 – 140 mmHg. Měření jsme prováděli pomocí posuvné sterilní šuplery. Tyto hodnoty s přesností na desetiny milimetru jsme zapsali do předem přiloženého protokolu peroperačního měření rozměrů tepen. Následně jsme provedli preparaci proximální a. poplitea z mediálního přístupu (obrázek 4.3) a opět změřili průměr tepny 2-3 cm po výstupu z Hunterova kanálu. Nakonec jsme přistoupili k provedení vlastního výkonu femoropopliteálního proximálního bypassu.



Obr. 4.2 Schéma preparace arteria femoralis comunis, jejich větví a dalších struktur ve fossa iliopectinea



Obr. 4.3 Preparace proximální arteria poplitea z mediálního přístupu.

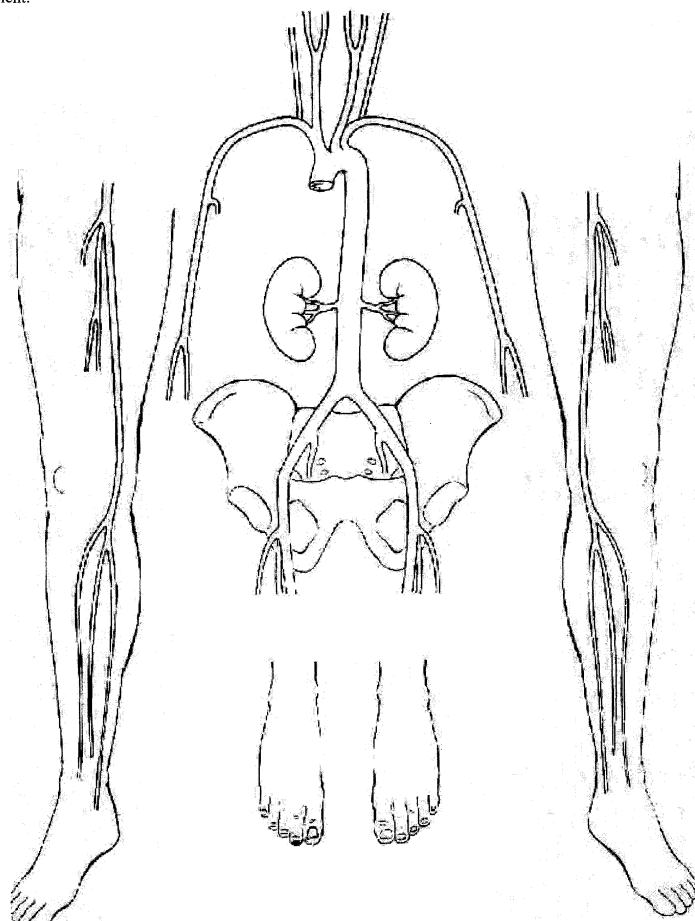


## Ukázka protokolu měření

Místa měření : AFC – arteria femoralis comunis, AFS – arteria femoralis superficialis  
AFP – arteria femoralis profunda , AP – arteria poplitea

Datum:  
Pacient:

Rodné číslo:



Pacient číslo	AFC	AFS	APF	AP	výška	váha
Peroperační měření průměru (mm)						
Sonografické měření vnitřního průměru tepen (mm)						
Sonografické měření rychlosti (cm/s)						

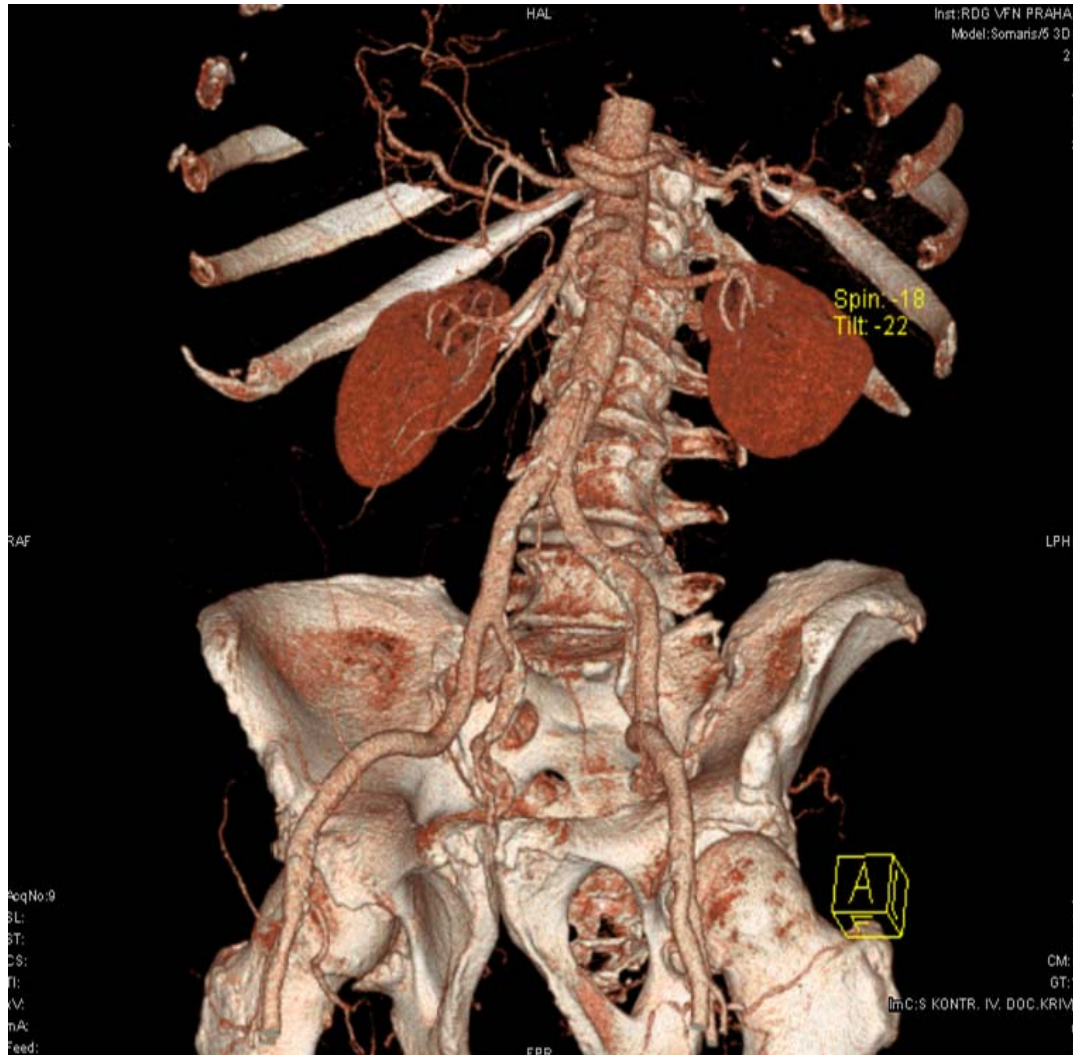
Při porovnání peroperačních a sonografických měření s literárními údaji jsme došli k závěru, že průměrné velikosti tepen měřené oběma metodami se významně neliší ani v porovnání s údaji literárními. Není tomu diametrálně jinak ani v případě naměřených rychlostí ve vztahu s údaji v literatuře (74,75,76).

Celkem byl vyšetřen soubor 50 pacientů. Výsledky měření v jednotlivých místech pro potřeby experimentu a jejich porovnání s literárními údaji shrnuje tabulka 4.2

Tabulka 4.2 Měření rozměrů vybraných tepen peroperačně, sonograficky, versus literární údaje.

Zprůměrované hodnoty	Naměřené hodnoty peroperačně (cm) zevní rozměr II. chirurgická klinika VFN	Naměřené hodnoty sonograficky (cm) vnitřní rozměr II. chirurgická klinika	Hodnoty udávané v literatuře (cm) vnitřní rozměr Doplerovská ultrasonografie. Schering 1998
<b>Arteria femoralis comunis</b>	<b>0,78</b>	<b>0,81</b>	<b>0,92 ± 0,13</b>
<b>Arteria femoralis superficialis</b>	<b>0,53</b>	<b>0,56</b>	<b>0,60 ± 0,12</b>
<b>Arteria femoralis profunda</b>	<b>0,42</b>	<b>0,42</b>	<b>0,54 ± 0,11</b>
<b>Arteria poplitea</b>	<b>0,59</b>	<b>0,61</b>	<b>0,52 ± 0,11</b>

#### 4.1.2 AngioCT v 3D

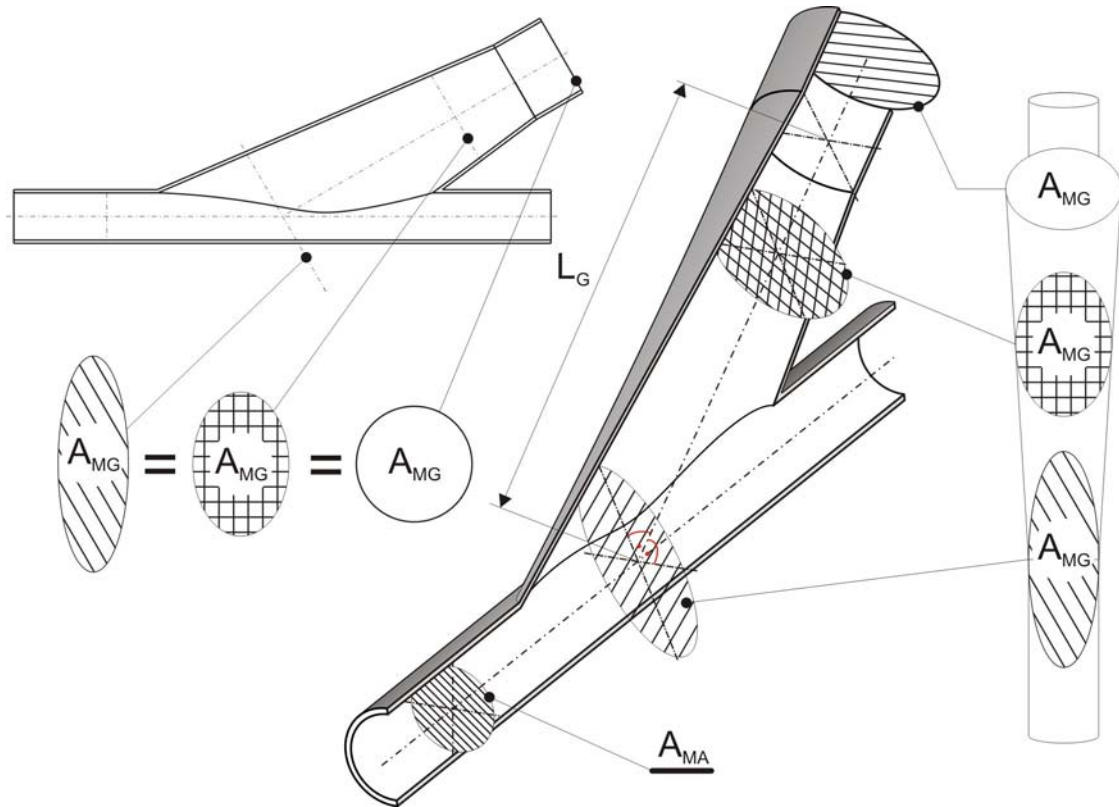


Obr.4.4 AngioCT

Pro zhotovení vlastních modelů anastomózy bylo nutné mít jasnou představu o „charakteru anastomózy“ i v 3 - rozměrné soustavě. To jest o jejím tvaru, velikosti, deformování krevním proudem, atd.

Proto jsme provedli u 20-ti pacientů s již našitým femoropoplitálním bypassem angioCT vyšetření v 3D zobrazení, které nám poskytlo prostorovou představivost o provedení vlastní anastomózy ( obrázek 4.4).

Digitální data z CT angiografie, byly následně zpracovány a informace použity pro počítačové/matematické modelování cévního spojení v programu Fluent (77) (obrázek 4.5).



Obr. 4.5 Geometrie modelu cévního spojení - matematického zpracování CT obrazu anastomózy a převedení do počítačové podoby pro potřeby modelování (Převzato se souhlasem autora z: Jan Matěcha, Vliv velikosti průměru cévní náhrady na proudění kapaliny v modelu end-to-side distální anastomózy tepenného bypassu dolních končetin – disertační práce, 2009).

## 4.2. Doporučení pro numerické modelování a experimentální část

Na základě zpracování dat předchozích měření a literárních údajů jsme vydali doporučení pro matematické modelování a experimentální část, s cílem sledovat některé hemodynamické parametry a charakter proudění v daných oblastech distální anastomózy.

### 4.2.1 Výběr optimalizačních parametrů

V každém časovém okamžiku dochází ke změnám vlastností krve – hustoty, viskozity (podle hydratace či dehydratace organismu), obsahu dalších elementů a složek, které jsou krví transportovány. Proto bylo nesmírně náročné vybrat nějaký ideální stav, který by byl základem pro vytvoření modelových situací. Proto hemodynamický výzkum jednotlivých částí kardiovaskulárního systému probíhá na zjednodušených modelech a to platí i v našem případě pro matematické modely i námi prováděné experimenty situací distálního spojení protézy na popliteální tepnu.

Proudění v oblasti anastomózy a bezprostředně za ní po směru toku je závislé na geometrii anastomózy a na charakteru proudění v anastomóze (78, 79). Na základě rozboru hypotéz popisujících vztah mezi hemodynamikou a cévní patologií v anastomóze, jsme se při optimalizaci tvaru cévního spojení zaměřili na tyto parametry: **úhel napojení, délka anastomózy, poměr průřezů náhrady a cílové tepny, vliv nestacionarity proudu - pulzatilní proudění.**

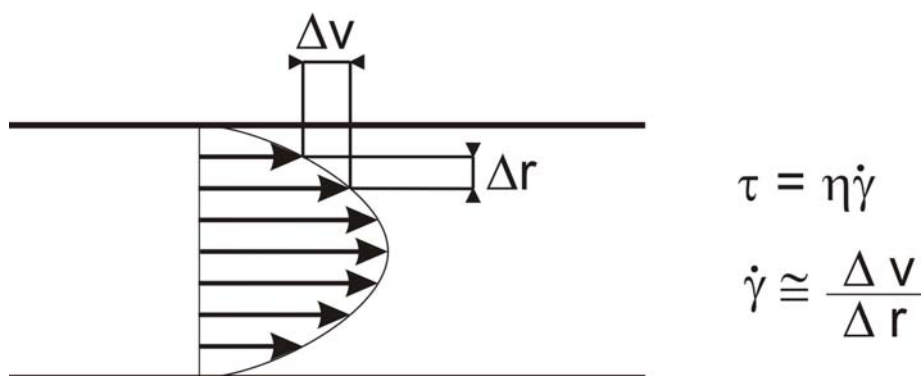
Smykové napětí je bezesporu jedním z významných faktorů ovlivňujících vzájemné působení krve jako tekutiny, krevních elementů a cévní stěny. Významnou měrou se spolupodílí na poškození cévní stěny zejména v oblasti distální anastomózy bypassu. Z toho důvodu bylo smykové napětí vybráno jako jeden z optimalizačních parametrů při řešení problematiky v oblasti distální anastomózy bypassu (30, 43 – 47, 80).

Viskozita krve závisí na vztahu mezi smykovým napětím a rychlosti smykové deformace. Tento vzájemný vztah je vyjádřen konstitutivním vztahem popisujícím vlastnosti tekutiny. V případě, že závislost mezi smykovým napětím a rychlosti smykové deformace je lineární, je chování tekutiny popsáno newtonským zákonem viskozity (81).

Hodnota rychlosti smykové deformace je tím vyšší čím je větší rychlost dvou sousedních vrstev krevního proudu (obrázek.4.6). Při vysoké hodnotě rychlosti smykové deformace se neneutonské chování krve velmi přibližuje chování newtonské tekutiny.

V tekoucí kapalině s laminárním prouděním dochází k vnitřnímu tření mezi vrstvami kapaliny a rychlost proudění klesá od středu směrem ke stěnám cévy (74, 75, 82).

Pro kalibr tepen pohybující se kolem 6 - ti mm se neneutonské chování tekutiny přibližuje vlastnostem tekutiny s newtonovskými vlastnostmi. V případě tepen kalibru pod 1 mm, kde se průměr tepny začíná blížit průměru krevních elementů, se začíná projevovat neneutonské chování krve.



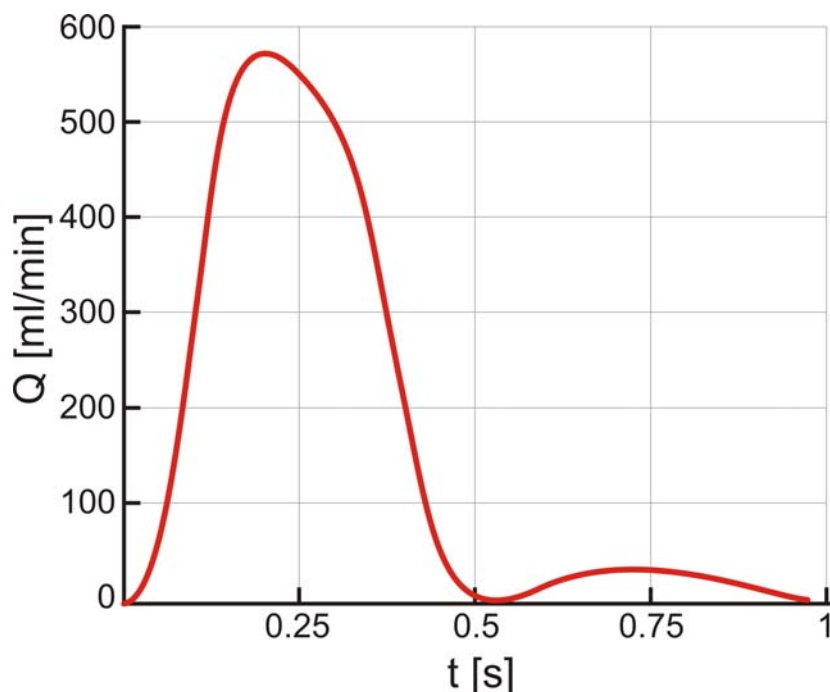
Obr.4.6 Newtonův zákon:  $\tau$  – smykové napětí,  $\eta$  – dynamická viskozita,  $\dot{\gamma}$  – rychlost smykové deformace,  $\Delta v$  – rozdíl rychlosti ve vzdálenosti  $\Delta r$ .

#### 4.2.2 Doporučení pro výstavbu experimentálního modelu

Z předchozích měření a literárních údajů jsme zvolili následující parametry pro vytvoření experimentálního modelu:

- **Cílová tepna** bude o průměru 6 mm - vycházeli jsme z naměřených údajů, kde průměr proximální arterie poplitea byl 6 mm.
- Na tento průměr tepny budou **nápojené cévní protézy** velikostí 5, 6 a 7 mm **pod úhlem** 60°, 45° a 25°.
- Dalším stanoveným parametrem byl **průtok** - charakteristiky proudu jsou také zásadně ovlivněny průtokem. Medicínsky nejzajímavější v oblasti

femoropopliteálního bypassu jsou tři kategorie průtoku : 80 ml/min, 200 ml/min a 500 ml/min, které odpovídají klidovému stavu, pomalé chůzi a běhu (obrázek 4.7).



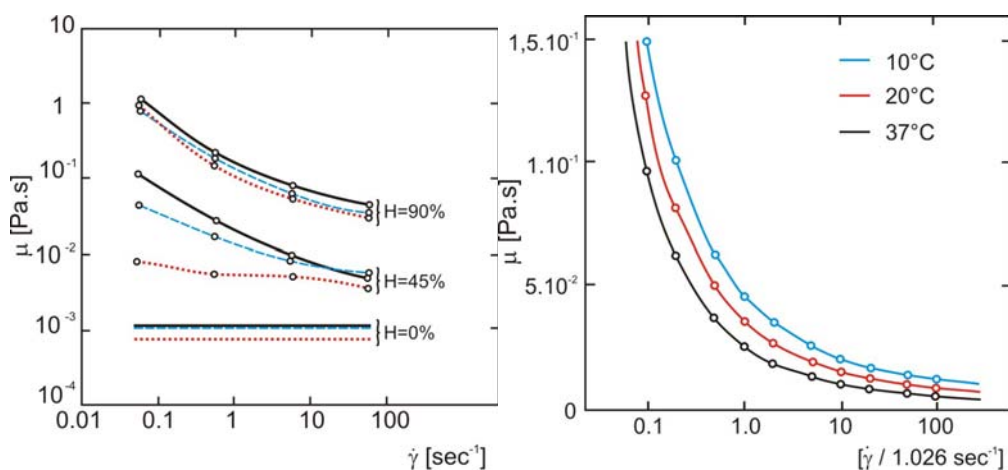
Obr.4.7

Závislost průtoku na čase, která byla zvolena jako podmínka na vstupu pro simulování proudění v distální anastomóze femoropopliteálního bypassu.

- **Tlakový rozdíl** nemá přímý vliv na tvorbu IH, ale tím že dochází k víření proudu v oblasti anastomózy dochází ke zvětšení tlakové ztráty . Jeho hodnota se zvětšuje v případě většího víření proudu . Proto snaha o snížení víření a maximalizaci laminarity proudu v oblasti anastomózy.
- **Délka vytvořeného** a sledovaného **modelu** distální anastomózy podle obecných zkušeností vychází z informace nejčastějších míst výskytu IH, která vzniká na přední straně cílové cévy do vzdálenosti 15 - 20 mm od špičky napojení, v menší míře také na stěně zadní, ale to do vzdálenosti o něco kratší (72, 73).

### 4.2.3 Pracovní kapalina

Vzhledem k tomu, že krev je nenevtonská tekutina s velmi složitými termofyzikálními vlastnostmi (obrázek 4.8) bylo nelehkým úkolem, jakou tekutinu zvolit, aby její vlastnosti se co nejvíce podobaly krvi.



Obr.4.8

Nenevtonské vlastnosti lidské krve.

Vlevo: závislost viskozity na rychlosti smykové deformace a hematokritu

Vpravo: závislost viskozity krve na smykové rychlosti a teplotě.

(černá - krevní suspenze, modrá - krev bez fibrinogenu, červená - krvinky v Ringerově roztoku, H - hematokrit).

Pracovní kapalina dále musela splňovat několik podmínek :

1. průhledná s vhodným indexem lomu, blízkým materiálu modelu
2. kapalina nesmí narušovat materiál trati
3. viskozita musí vyhovovat požadavkům fyzikálního modelování

Empiricky byly uvažovány jako náhražka krve dvě pracovní tekutiny: 64 % roztok NaI a vodný roztok. Tyto dvě varianty pracovní tekutiny byly voleny z důvodu vhodnosti jednotlivého média pro daný typ metody měření, které budou probíhat v experimentu (82).



#### 4.2.4 Značkovací částice

Jako značkovací částice přicházeli v úvahu polyamid, pokovené skleněné kuličky, dřevěné částice, mléko, fluorescenční částice. Jejich nezbytným požadavkem bylo, aby jejich hustota byla téměř identická s hustotou pracovní kapaliny a současně sledovaly pohyb pracovní kapaliny. Nakonec jako nejvhodnější se zdály být polyamidové a fluorescenční částice, kde jejich ozáření monochromatickým světlem umožnilo zaznamenat světlo odražené částicemi, s nutným odfiltrováním odrazů od stěny.

Jako pracovní kapalina byla nakonec vybrána voda s polyamidovými částicemi o průměru 20  $\mu\text{m}$  jakožto značkovací částice. Kapalina byla osvětlována červenou laserovou diodou s vlnovou délkou 660 nm. Paprsek byl následně veden válcovou čočkou, která vytvářela laserový list. Přidané částice byly snímány kamerou NanoSense Mk III s vysokorychlostním zesilovačem obrazu.

#### 4.2.5 Teorie podobnosti

Charakter proudu je za optimálního stavu laminární. To znamená, že všechny elementy postupují souběžně, ale různou rychlostí, od minimální – při stěně, až po maximální, která se vyskytuje uprostřed cévy. To znamená, že zvětšující se rychlostí krevního proudu laminární proudění přechází do proudění turbulentního.

Různá velikost Reynoldsova čísla ( $Re$ ) v experimentu umožňuje modelovat různé hodnoty průtoku krve anebo různé stavy vizkozity krve. Pro stavy klidu chůze a běhu tedy pro různé průtoky byly stanoveny:

$Re \dots\dots 500$

$Re \dots\dots 1000$

$Re \dots\dots 1400$

Pro potřeby hydrodynamického modelu anastomózy v experimentu bylo využito teorie podobnosti, která pro případ stacionárního proudění říká, že proudění je podobné tehdy, když jsou shodné hodnoty Reynoldsova čísla modelovaného případu (člověk) a modelu (experiment). Reynoldsovo číslo je definované vztahem:

$$R = \frac{\rho \cdot DV}{\eta}$$

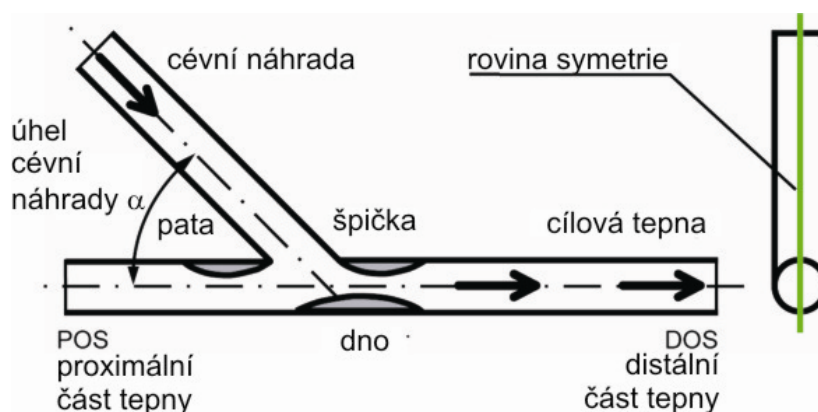
Kde  $D$  je průměr trubice,  $V$  je rychlost a  $\eta$  je kinematická viskozita tekutiny a  $\rho$  je hustota kapaliny (42).

#### 4.2.6 Modely

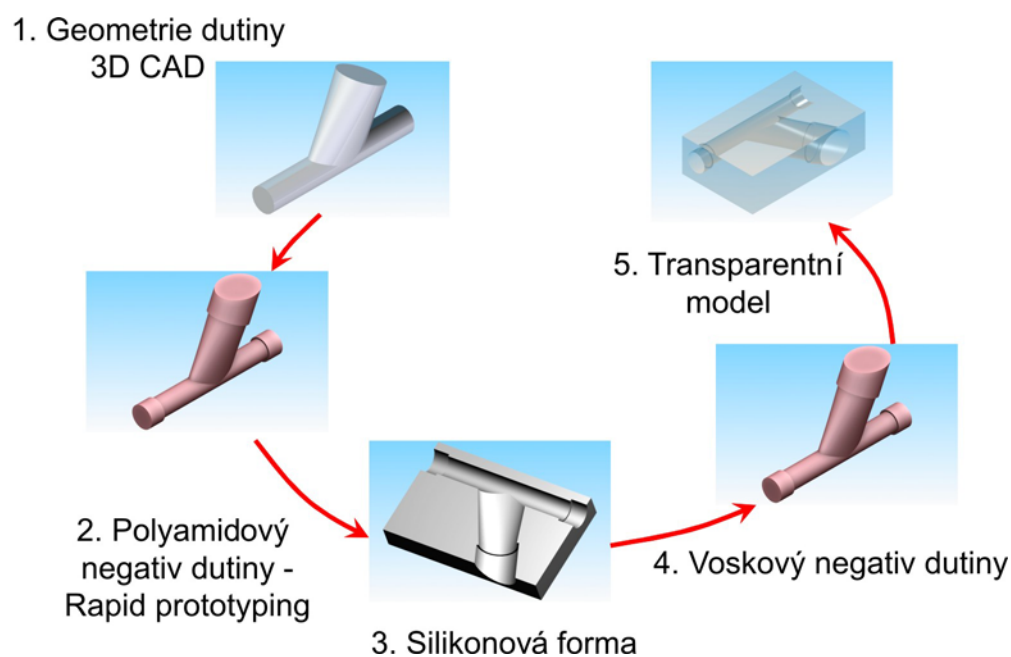
Posledním problémem bylo z jakého materiálu bude vyroben model. Byla navrhována varianta postupu výroby modelů založená na technologii vytavitelného (ztraceného) vosku. Technologický postup (obrázek 4.10) je podrobně popsán v literatuře (83). Tato technologie umožňuje vyrobit modely se širokou variabilitou tvaru dle matematického modelu vytvořeného v 3D CAD systému (Solid Edge). S ohledem na vybranou technologii výroby byl pro každou zvolenou geometrii vytvořen 3D matematický model dutiny a na jeho základě byla vyrobena jádra z materiálu PA 2200 metodou rapid prototyping u externí firmy. Každé jádro bylo ručně opracováno broušením, barvením, lakováním a leštěním. Jádro bylo zaformováno do lukoprenu, čímž se vytvořila forma pro voskové jádro, které bylo umístěno do nádoby, a následně zalito materiálem Translux D150. Po vytvrzení byly odstraněny stěny nádoby a připojené trubice, což vyžadovalo nutné opracování jejich vstupů. Tak vznikl model požadovaného tvaru dutiny, vytvořený v tělese, s rovnými stěnami a s optimálními optickými vlastnostmi (84).

Po stanovení výše uvedených podmínek jsme mohli přistoupit k samotnému vytvoření experimentálních a matematických modelů. Opět pro maximální zjednodušení byl zvolen případ, kdy je úplný uzávěr AFS a tedy nulový přítok z nativního řečiště nad místem anastomózy (POS). Jediným přítokem do AP proximalis. je tedy jen protetická rekonstrukce (obrázek 4.9)

Schéma vytvořeného modelu a místa sledování



Obr. 4.9 Distální anastomóza FP bypassu - velikost nativní tepny, protězy a úhlu napojení



Obr. 4.10 Postup výroby modelu. (Převzato se souhlasem autora z: Jan Matěcha, Vliv velikosti průměru cévní náhrady na proudění kapaliny v modelu end-to-side distální anastomózy tepenného bypassu dolních končetin – disertační práce, 2009)

### 4.3. Numerické zpracování

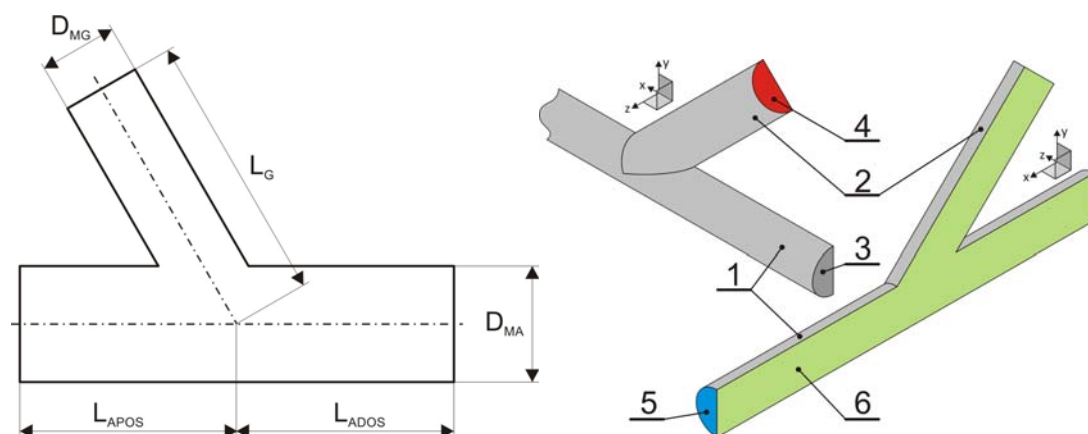
Numerické zpracování bylo nedílnou součástí projektu, protože umožnilo matematické řešení proudění a počítačové modelování situací toho, co se děje v anastomóze při průchodu krevního proudu. Vlastní matematické modelování vybraných situací probíhalo v programu Fluent.

FLUENT je moderní CFD (Computational Fluid Dynamics) program umožňující komplexní řešení úloh z oblasti proudění. Řešit je možno vnitřní i vnější obtékání, v laminární i turbulentní oblasti, výpočty vícefázového proudění, proudění s volnou hladinou. Program umožňuje jak stacionární, tak i nestacionární analýzu 2D i 3D problémů a následnou kvalitní vizualizaci výsledků. Program obsahující fyzikální modely postihující široké možnosti potřebné k modelování proudění, turbulence..

Numerická simulace byla provedena celkem na devíti modelech. Vyhodnocení a zpracování dat, umožnilo věrné modelování dané situace v experimentu. Dále umožnilo vzhledem k velké časové a finanční nákladnosti vybrat jen ty situace v anastomóze, které se jeví jako patologické stran negativního působení hemodynamiky a jejich následné ověření v experimentální části práce. Výsledky numerických řešení byly průběžně vyhodnocovány a porovnávány s výsledky experimentu.

#### 4.3.1 Geometrie modelů

Geometrie modelů anastomózy byla vytvořena v 3D CAD programu (Solid Edge verze 19). Délka trubice cévní náhrady i tepny v oblasti POS a DOS byla zvolena stejné délky (100 mm) což umožnilo zjednodušené řešení, jen v jedné rovině (obrázek 4.11. vlevo).



Obrázek 4.11

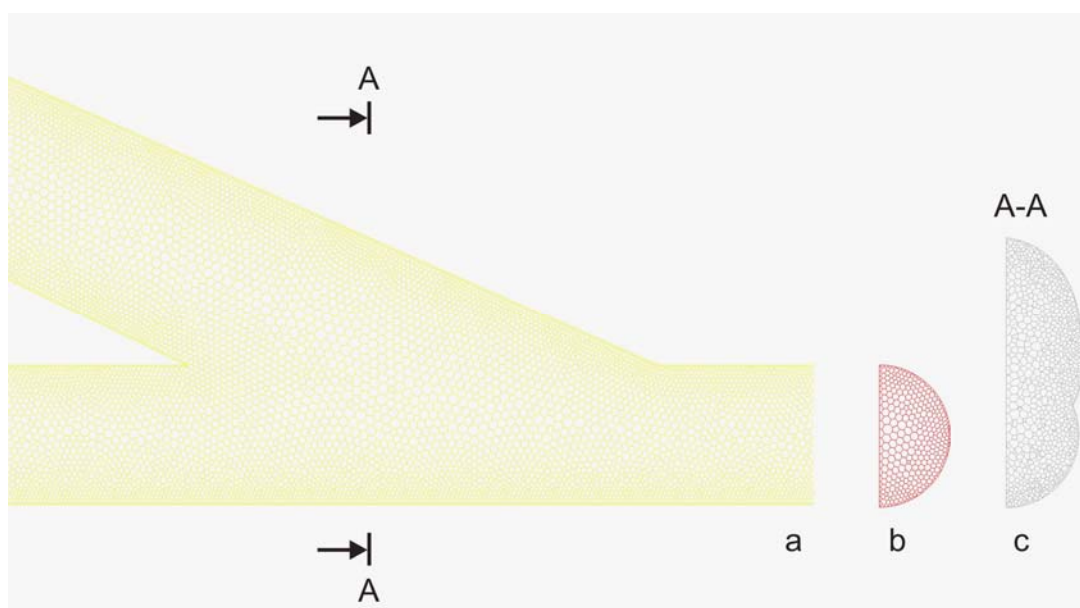
*Vlevo* - Označení rozměrů modelu pro numerickou simulaci:  $D_{MG}$  - průměr cévní náhrady modelu,  $D_{MA}$  - průměr tepny modelu,  $L_G$  - délka cévní náhrady modelu,  $L_{APOS}$  - délka tepny v oblasti POS,  $L_{ADOS}$  - délka tepny v oblasti DOS

*Vpravo* - Pojmenování hranic oblasti pro okrajové podmínky: 1 - tepna, 2 - cévní náhrada, 3 - zadní uzavřená část tepny v oblasti POS, 4 - vstup, 5 - výstup, 6 - rovina symetrie.

### 4.3.2 Síť

Síť byla vytvořena v preprocesoru Gambit (verze 2.4.6), do kterého byla importována geometrie anastomózy (obrázek 4.12). V blízkosti stěn byla vytvořena jemnější síť s ohledem na vyhodnocované smykové napětí na stěně(84).

Podrobněji je numerická simulace zpracována spoluřešiteli z ČVUT, Fakulta strojní, Ústav mechaniky tekutin a energetiky



Obr. 4.12 Ukázka detailu sítě: a - síť v rovině symetrie, b - síť na výstupu, c - síť v řezu v místě spojení.

## 4.4 Experimentální část

Před samotným zahájením experimentální části bylo nutné stanovit metody určování smykového napětí jakožto hlavního optimalizačního parametru.

Nakonec byly vybrány dva způsoby detekce:

1. nepřímo - vyhodnocení naměřeného průběhu rychlosti
2. přímo - pomocí speciálních sond (CTA – Constant Temperature Anemometry)

Naměřené rychlostní profily umožňují vyhodnotit smykové napětí. Při měření rychlosti proudící tekutiny byly preferovány neinvazivní metody, které neovlivňují proud. Pro tato měření se používají nejčastěji následující metody:

- a) Ultrasonic Velocity Profiling (UVP)
- b) Laser-doppler Anemometry (LDA)
- c) Particle Image Velocimetry (PIV).

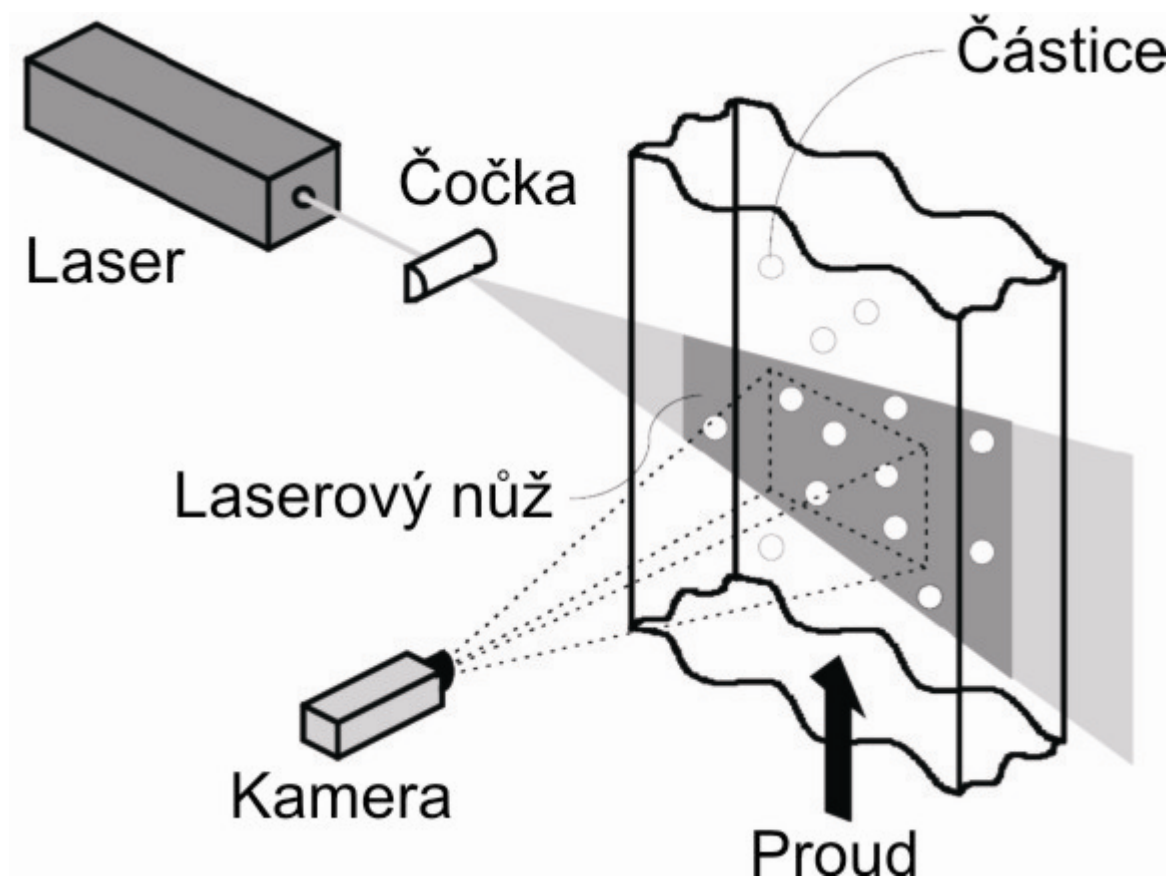
Při použití metody UVP byla rychlost měřená pomocí ultrazvuku (86, 87). Kdežto LDA a PIV patří mezi optické metody a měří rychlost pohybu částic přidaných do pracovní kapaliny v modelu. LDA, metoda měřící rychlost pomocí laserového paprsku (88, 89). Po kalibračních měřeních na pracovišti ÚH AV ČR a porovnání těchto metod, jako nejvhodnější metoda pro oblast hemodynamického experimentu se ukázala PIV metoda (90,91). PIV nerozrušuje proudění, umožňuje změření okamžitého rychlostního profilu v dané rovině najednou. Kdežto LDA měří rychlost postupně v jednotlivých bodech, UVP v přímce.

Měření metodou PIV je nejpřesnější a nejméně časově náročné.

Stereo PIV je metoda, která vyhodnocuje pohyb částic dokonce v 3D obraze.

### 4.4.1. Metoda PIV (Particle Image Velocimetry)

Princip metody: Jako zdroj světla byla použita laserová dioda, z které světlo procházelo přes půlkulatou čočku, a tak vytvořilo rovinu „řezu“ modelem (obrázek 3.13). V této rovině jsou částice osvětleny tak, že odrážejí dostatek světla, které je zachyceno kamerou umístěnou kolmo k této rovině.



Obr.4.13 Princip metody PIV.

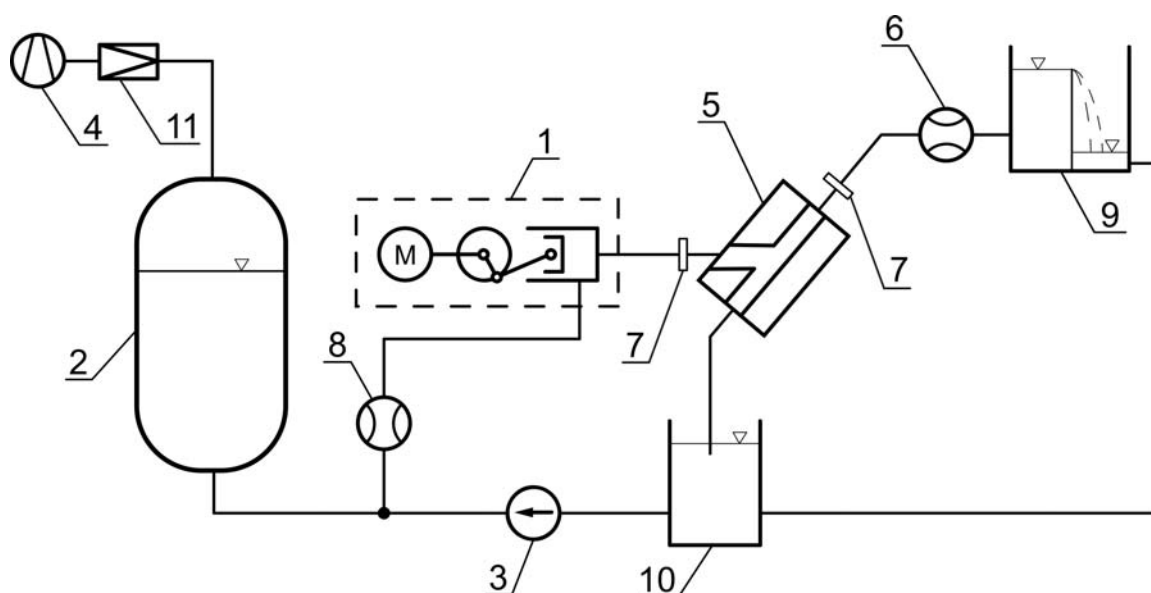
#### 4.4.2 Vytvoření experimentální tratě

Schéma experimentální tratě ukazuje obrázek 3.14. Pulzatilní proudění bylo vytvořeno spojením stacionárního a oscilačního toku pracovní kapaliny. Stacionární tok kapaliny byl vytvořen tlakovým spádem mezi tlakovou nádobou o objemu 500 litrů a nádobou s přepadem. Potřebný tlak v tlakové nádobě byl vytvořen kompresorem a udržován redukčním ventilem.

Oscilační tok byl vytvářen pístovým pulzátozem. Tak dochází ke směšování stacionárního a oscilačního proudění a tím je vygenerován pulzatilní tok kapaliny, který přichází do měřící tratě s implementovaným modelem anastomózy. Za modelem anastomózy je kapalina odváděna do nádoby s přepadem pro udržení stálé hladiny kapaliny. Z této přepadové nádoby je kapalina odvedena do zásobníku na kapalinu, který má potřebný objem pro naplnění tlakové nádoby. Mezi pulzátozem a modelem anastomózy je umístěna trubice o délce 2 m. Délka odpovídá stonásobku charakteristického rozměru, což je

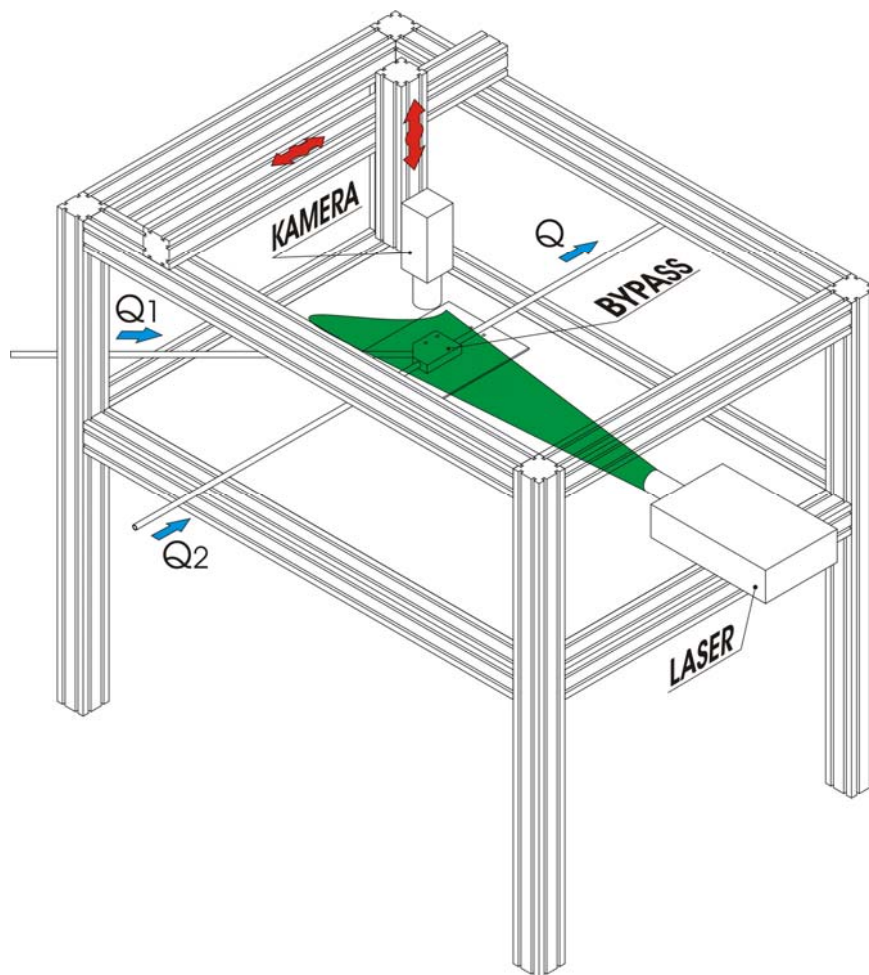
průměr cévní náhrady - protězy modelu, aby došlo k vyvinutí rychlostního profilu před vstupem do modelu anastomózy.

Model (obr. 4.15) je umístěn v měřícím prostoru vytvořeném z hliníkových profilů, které umožňují vzájemné umístění modelu anastomózy, světelného listu laseru osvětlující částice procházející anastomózou a kamery zaznamenávající pohyb částic v anastomóze, v požadovaných polohách vůči sobě.

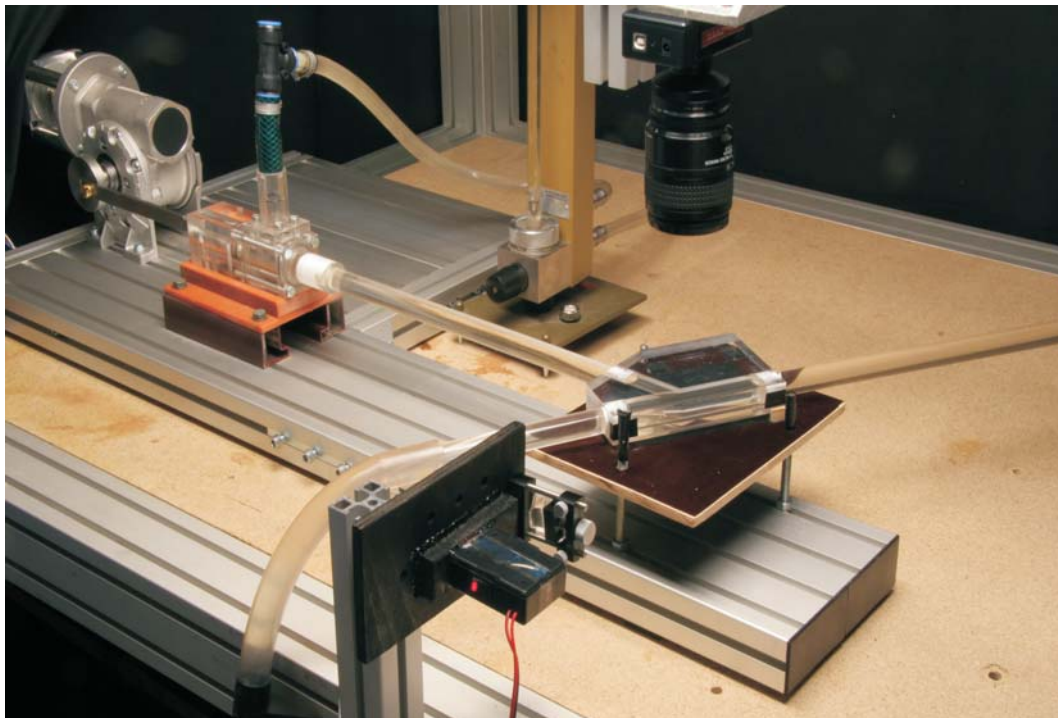


Obrázek 4.14 Schéma experimentální tratě. 1 - generátor pulzů, 2 - tlaková nádoba, 3 - čerpadlo, 4 - kompresor, 5 - model bypasu, 6 - turbínový průtokoměr, 7 - tlakové snímače, 8 - průtokoměr, 9 - koncová nádoba s přepadem, 10 - zásobník pracovní tekutiny, 11 - redukční ventil.

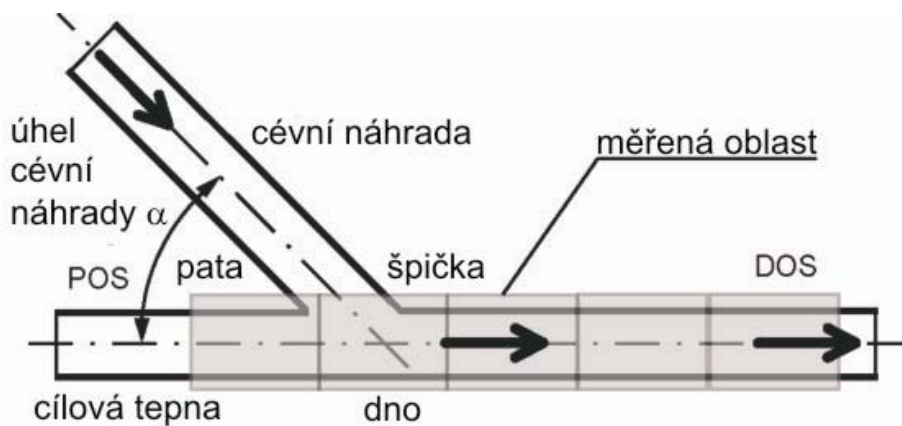




Obr.4.15 Schéma měřícího prostoru. konstrukce, kamera, dioda, traverzer a detail připojení modelu do experimentální tratě.



Obrázek 4.16 Obrázek měřící tratě.

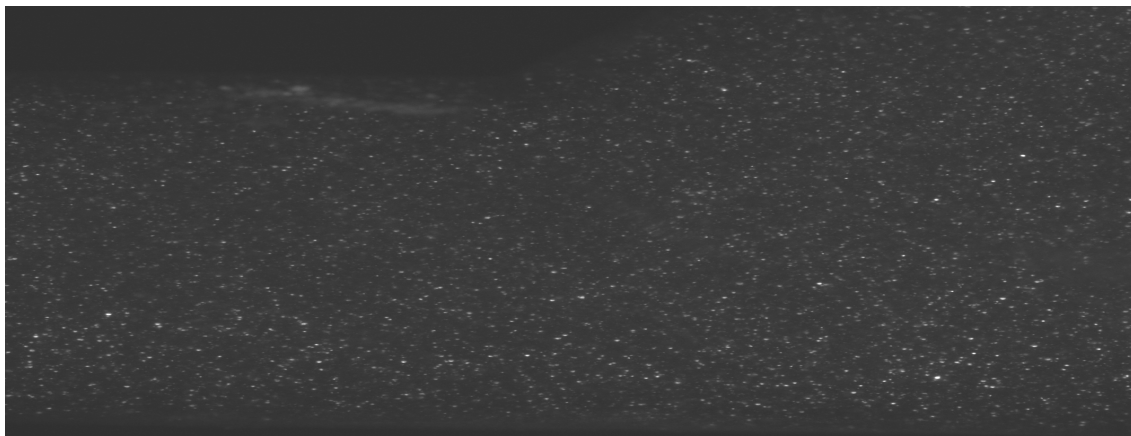


Obr.4.17 Na schématu je zvýrazněna měřená oblast .

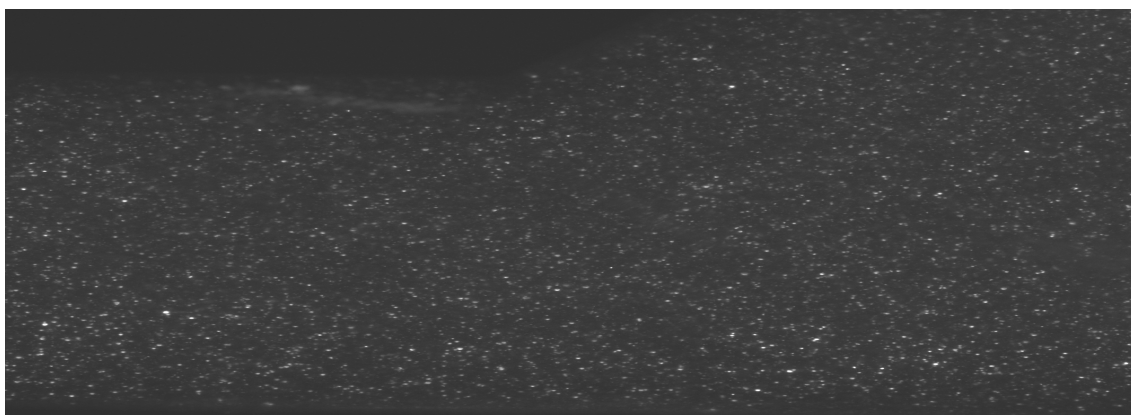
#### 4.4.3 Vlastní měření a vizualizace

Při zahájení vlastního experimentu je spuštěno proudění pracovní kapaliny přes příslušný vřazený model cévního spojení. Dochází zde k unášení polyamidových částic vodním proudem skrz anastomózu a je zahájeno vlastní měření pomocí metody PIV.

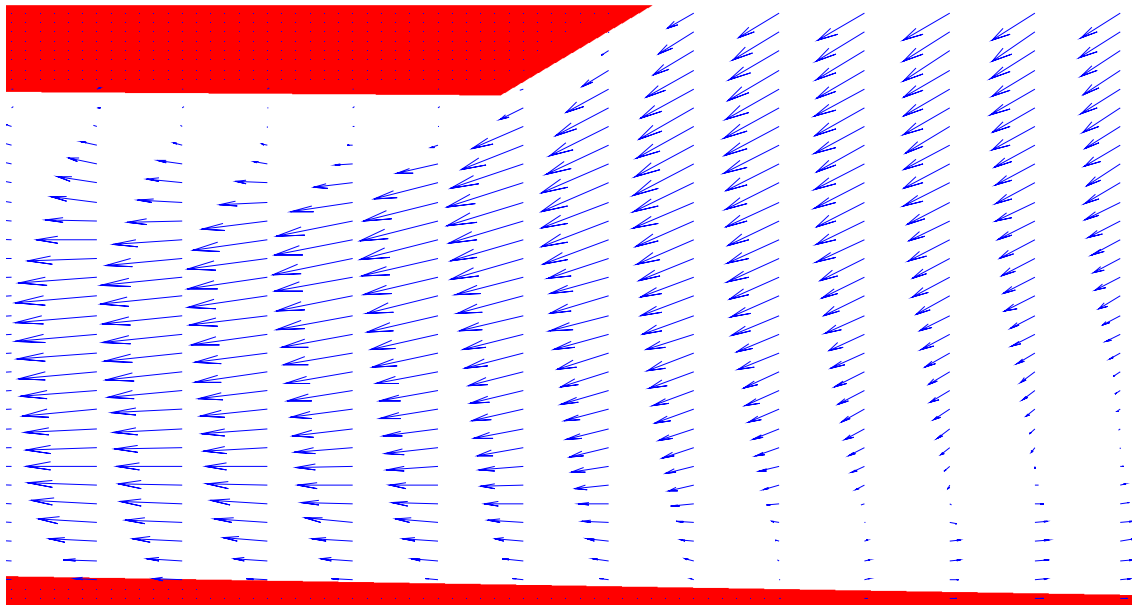
Kamerou se snímá situace v anastomóze v daných časových okamžicích při průchodu částic při toku tekutiny (v tomto případě vody) a tyto snímky se ukládají do paměti počítače, kde jsou dále zpracovávány a upravovány. Tato provedená úprava slouží pro vytvoření vizualizace (obrázek 3.18). V počítači se skládají do jednoho snímku, který názorně naznačuje proudění ve sledované oblasti. Z velikosti posunu částic mezi jednotlivými snímky a při znalosti času mezi snímky můžeme vypočítat rychlost pohybu těchto částic. Tato metoda umožňuje měření rychlostního pole v požadovaném okamžiku periody a synchronizaci naměřeného rychlostního pole s daty naměřenými tlakovými snímači.



Snímek v čase  $t$

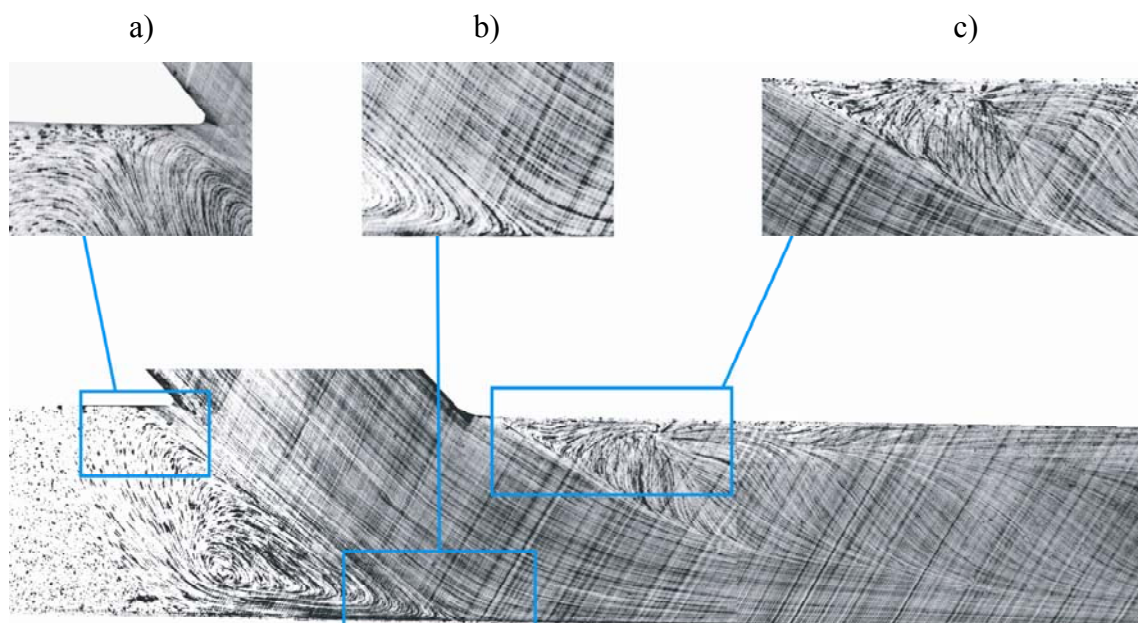


Snímek v čase  $t + t$



Obr 3.18 Měření rychlosti proudění a vytvoření obrazu rychlostního pole pomocí metody PIV. Vzniklé rychlostní pole, kde vektory rychlosti vznikly spojením pohybu částic v čase  $t$  a  $t+\Delta t$

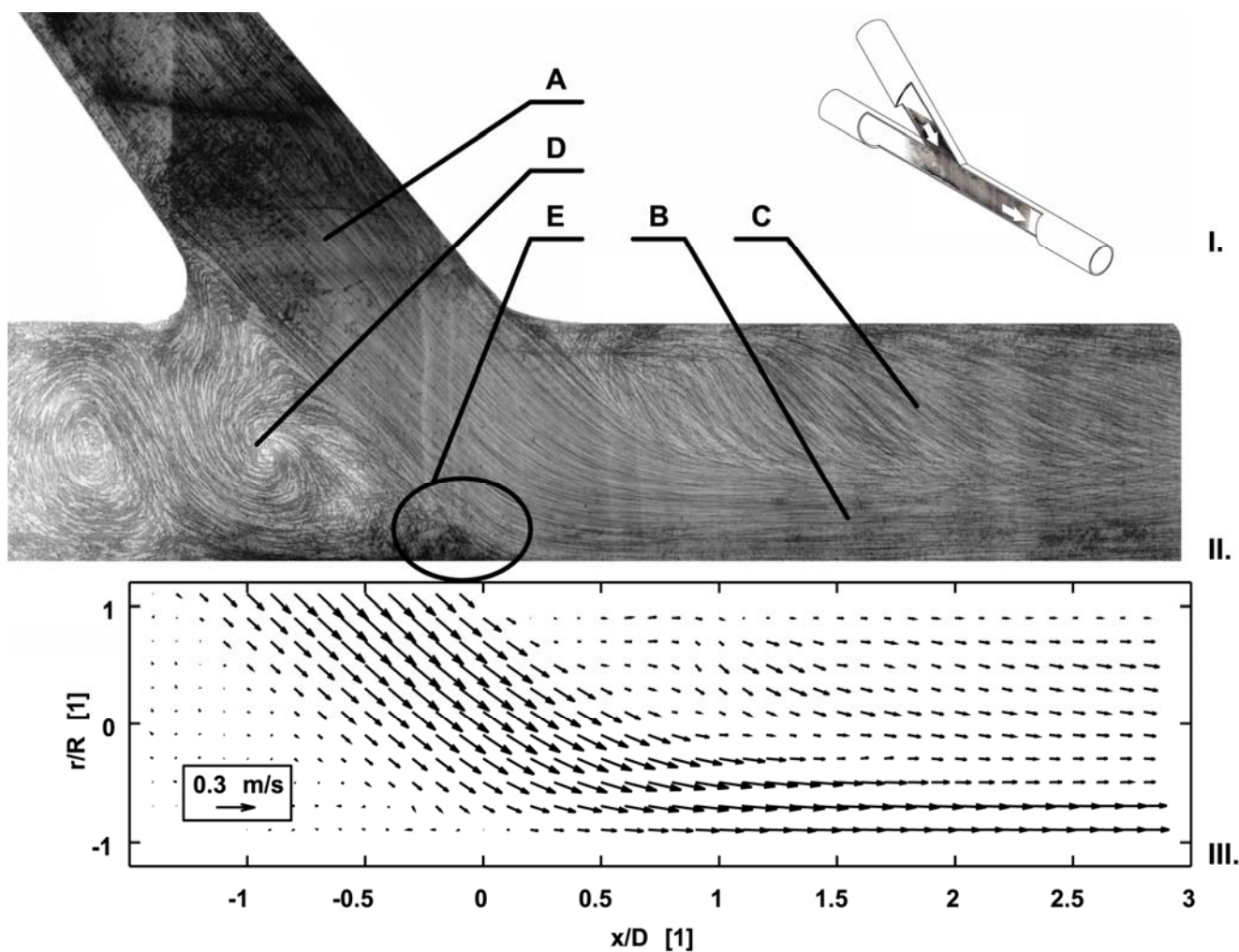
Smykové napětí v anastomóze bylo zaznamenáváno, jak přímým měřením pomocí speciálních sond CTA, tak vypočítáno a měřeno při numerické simulaci. Co se týče měření rychlosti proudění zde byla použita v rámci experimentálního měření metoda PIV a opět to bylo řešeno i v rámci numerické simulace. Bez počítačového zpracování se neobešly zejména provedené vizualizace krevního proudění v oblasti anastomózy, kde byl nalezen při určitých úhlech napojení protézy na tepnu stagnační bod. Jako stagnační bod bylo označeno místo v anastomóze, kde část kapaliny při průchodu anastomózou stojí a v blízkém okolí mění směr proudění. To znamená, že v okolí stagnačního bodu v kladném směru osy  $x$  a v záporném směru osy  $x$  je opačný směr proudění (Obrázek 4.19, 20).



Obr.4.19

Vizualizace proudění v oblasti anastomózy při úhlu napojení 45°:

- a) detail zavření proudu tekutiny v oblasti paty anastomózy
- b) oblast dna anastomózy a vznikající vír
- c) oblast špičky anastomózy s přítomným vírem a oblastí stagnačního bodu.



Obr. 4.20.

I. Schéma proudění v anastomóze.

II. Vizualizace proudění v anastomóze při napojení bypassu pod úhlem  $45^\circ$  v podélném řezu. A) vstupní proud z bypassu do anastomózy, B) zbylá část krevního proudu, která zůstala po průchodu anastomózou laminární, C) sekundární proud – zavíření proudu po průchodu anastomózou, D) vír v oblasti paty anastomózy, E) oblast s vysokým gradientem rychlosti.

III. PIV vizualizace modelu pro úhel napojení bypassu  $45^\circ$ , kde šipky ukazují rychlost v každém bodě a směr proudění. Velikost šipek dokládá rychlost krevního proudu.

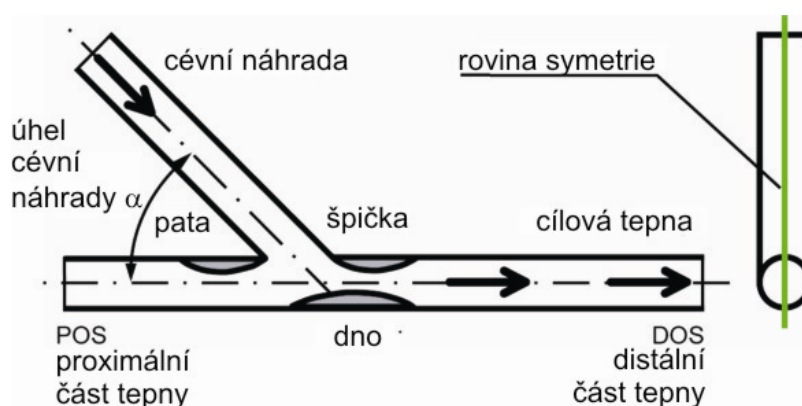
#### 4.4.4 Intimomediální hyperplázie v anastomóze, klinické sledování.

Klinické ověření předchozích měření

V klinické části výzkumu jsme v průběhu pětiletého sledování vyhodnocovali průchodnost FP protetických proximálních rekonstrukcí. Zaměřili jsme se na sledování distální anastomózy, kde dochází nejčastěji ke změnám vedoucí k selhání těchto rekonstrukcí (92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100)

Ze souboru 486 pacientů s FP protetickým bypassem bylo nalezeno 51 uzavřených rekonstrukcí. U 43 pacientů došlo k uzavěru kolem jednoho roku od provedené rekonstrukce (uzavření rekonstrukce 6 - 12 měsíců po provedeném operačním výkonu). U všech 43 pacientů byla provedena trombolytická terapie, s následnou angiografií, která detekovala změny v oblasti bypassu a cévního řečiště DK (obrázek 4.22). Ve všech případech jsme se setkali s maximem změn v oblasti distální anastomózy, které byly velmi suspektní příčinou selhání rekonstrukce.

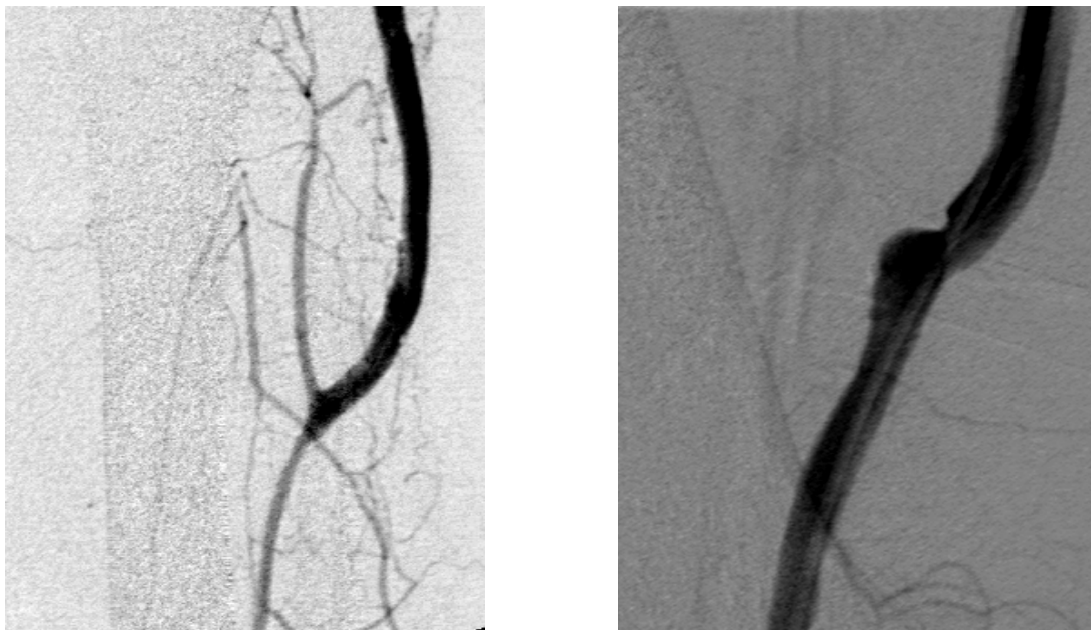
Následně provedená analýza angiografických nálezů změn v oblasti distální anastomózy vedla k určení kritických míst v anastomóze, kterými byly patka, špička a dno anastomózy (obrázek 21). Mimo jiné byly zaznamenány údaje buď o přítomnosti nějakého reziduálního toku nebo úplné obliteraci nativního řečiště před distální anastomózou bypassu (POS – proximal outlet segment)



Obr.4.21

Schéma hodnocených míst v oblasti distální anastomózy - špička, pata a dno anastomózy

Výsledky analýzy byly zpracovány do tabulek, ze kterých je patrné v jakém procentuálním zastoupení se změny v oblasti distálního spojení bypassu vedoucí ke stenóze v dané oblasti anastomózy vyskytovali. Spolu s tím jsme rozdělili tyto pacienty s uzavřenou rekonstrukcí do dvou skupin podle úhlu napojení protetické rekonstrukce v oblasti distální anastomózy. První skupina obsahovala rekonstrukce, kde úhel napojení byl menší nebo roven  $30^\circ$  a do druhé byly zařazeny rekonstrukce s napojením protézy na nativní tepnu pod úhlem větším než  $30^\circ$ . Měření úhlu napojení rekonstrukce bylo provedeno z angiografií po provedené trombolytické terapii (101, 102, 103).



Obr.4.22

Angiografické vyšetření trombolyzované rekonstrukce a nativního řečiště – vlevo

Angiografické vyšetření s detailem anastomózy a lokalizací místa stenózy v oblasti patky anastomózy - vpravo



## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Klinické vyhodnocení angiografických nálezů

#### 5.1.1 Vyhodnocení úhlu a místa změny v průsvitu

Zpracováním angiografických nálezů (AG) jsme mohli rozdělit provedené femoropopliteální rekonstrukce dle napojení protézy na nativní tepnu do dvou skupin. První skupina obsahovala provedené rekonstrukce, kde protéza byla napojena pod úhlem rovném nebo větším než 30°, což byla nadpoloviční většina a druhou skupinu reprezentovali pacienti s napojením rekonstrukce pod úhlem menším než 30°. Dalším zaznamenávaným parametrem byl reziduální tok do anastomózy z původního magistralního řečiště nad distální anastomózou. Zde byl detekován uzávěr v naprosté většině případů, a to v 86 % z reprezentativního souboru rekonstrukcí. Výskyt změn stenozujících lumen tepny se vyskytoval ve špičce, patce i na dně anastomózy a jejich procentuální zastoupení je patrné v tabulce č 1. Zajímavým údajem je 97% výskyt stenozujících změn v oblasti špičky, při úhlech napojení nad 30° ku 20% výskytu změn při úhlu napojení ve skupině bypassů provedených pod úhlem menším než je 30°.

Úhel	Počet	Obliterace v POS	Špička	Patka	Dno
Menší než 30°	9	8 (89%)	1 (11%)	9 (100%)	7 (78%)
Větší nebo = 30°	34	29 (85%)	33 (97%)	33 (97%)	33 (97%)

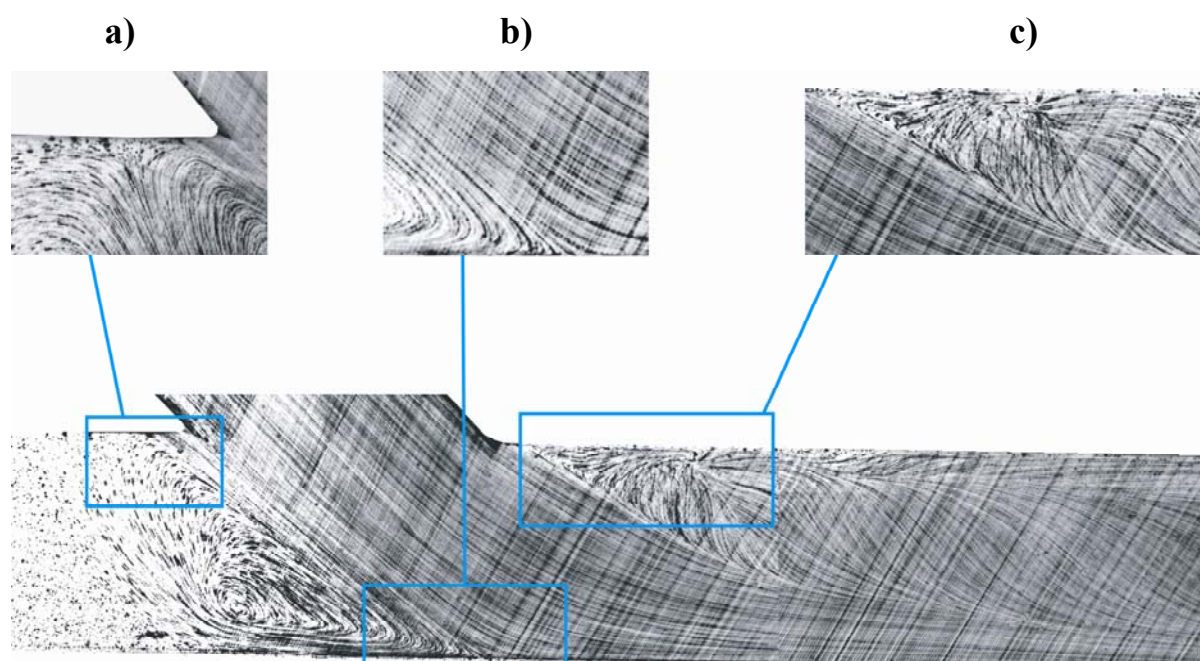
Tab.č. 5.1

V tabulce jsou vyhodnocena data pro dvě skupiny AG. Skupiny jsou rozděleny podle úhlu anastomózy. Hodnota v procentech je vypočtena vždy z příslušné skupiny.

## 5.2. Experimentální vizualizace

Rozbor obrázků získaných vizualizací umožnil určit oblasti vyplněné víry a recirkulační oblasti v závislosti na úhlu anastomózy, poměru průřezů a toku v cílové tepně. Poměr průměrů 1 : 1.

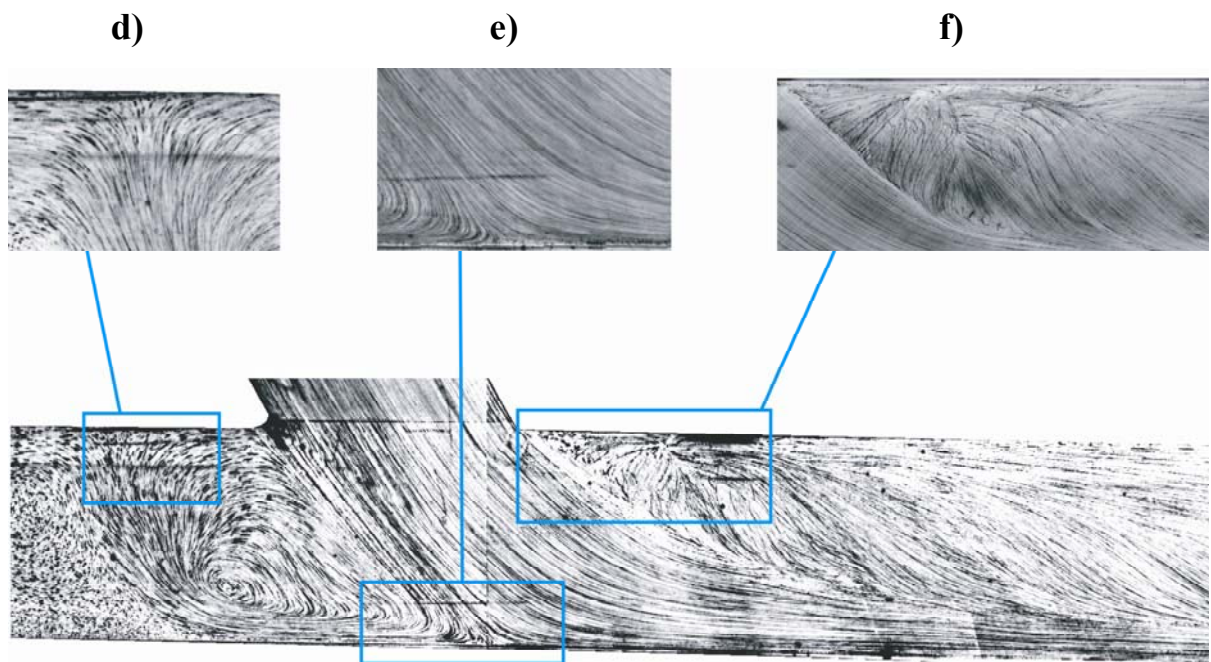
Z vizualizací jednotlivých napojení pod danými úhly je patrné, že čím menší byl úhel připojení, tím bylo menší zavíření proudu tekutiny v oblasti distální anastomózy. Zajímavým nálezem bylo nalezení maxima změn v podobě IH v místě stagnačního bodu a naopak vymizení stagnačního bodu při úhlech spojení 25° a nižším, kde v místě špičky při těchto úhlech napojení se žádné změny ve smyslu IH stenozující špičku tepny nevyskytovaly.



Obr.5.1

Vizualizace proudění v oblasti anastomózy při úhlu napojení 45°:

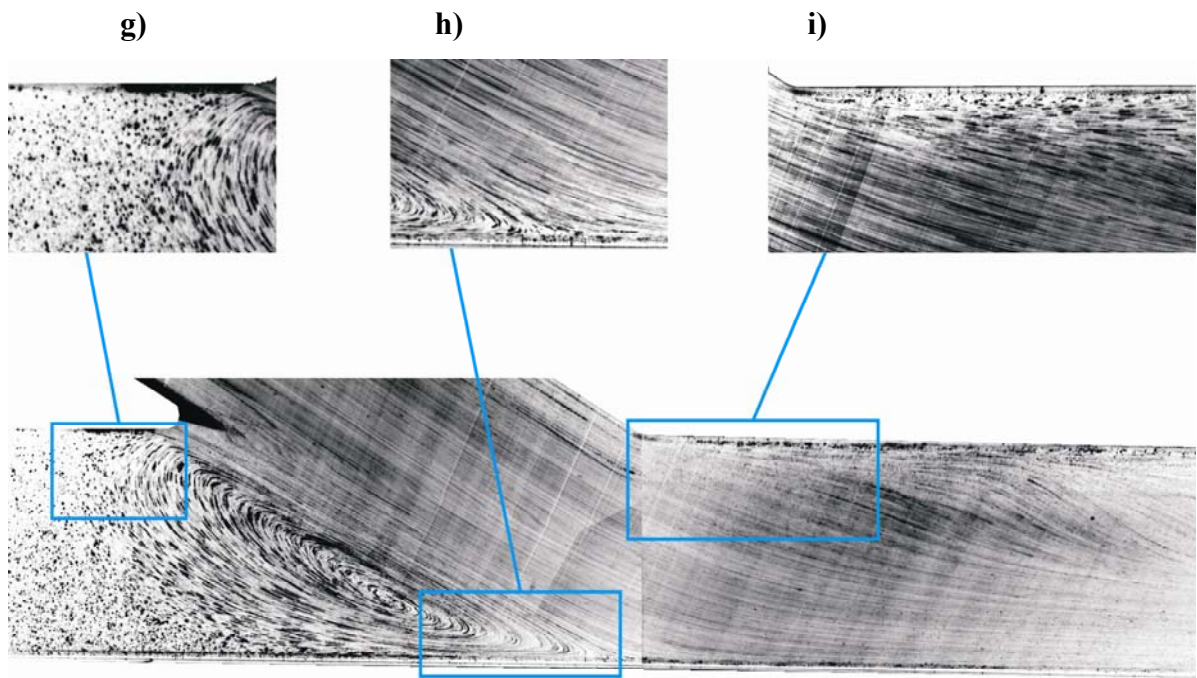
- detail zavíření proudu tekutiny v oblasti paty anastomózy
- oblast dna anastomózy a vznikající vír
- oblast špičky anastomózy s přítomným vírem a oblastí stagnačního bodu.



Obr.5.2

Vizualizace proudění v oblasti anastomózy při úhlu napojení 60°:

- d) detail víru proudu tekutiny v oblasti paty anastomózy
- e) oblast dna anastomózy a rozdělení proudu tekutiny po nárazu na dno anastomózy
- f) oblast špičky anastomózy s velkým vírem zasahujícím téměř do celého průměru nativní tepny s patrným stagnačním bodem .



Obr.5.3

Vizualizace proudění v oblasti anastomózy při úhlu napojení  $25^\circ$ , kde je patrný laminární průchod proudu anastomózou:

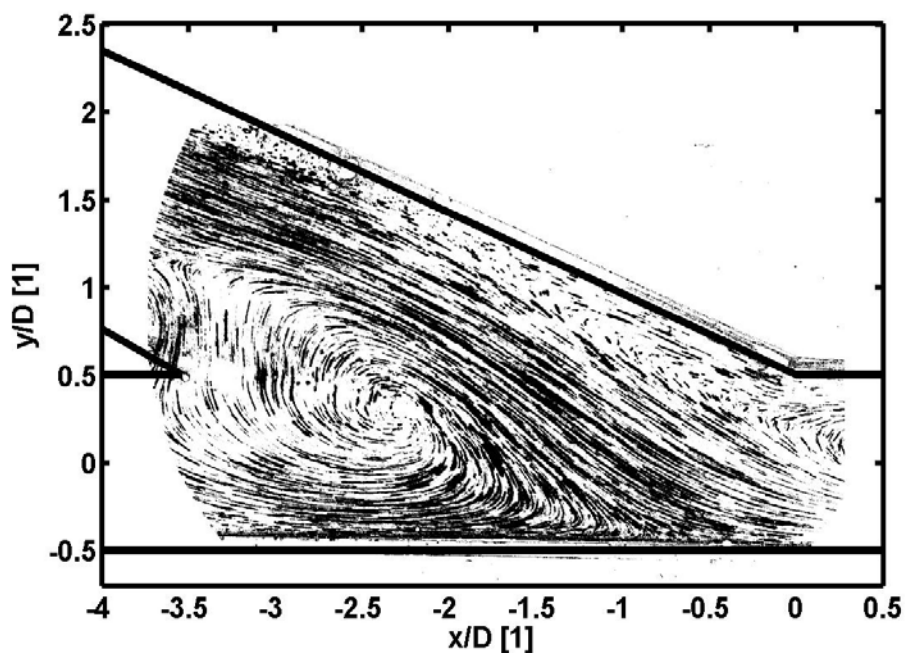
- g) detail nepatrného zavíření proudu oblasti paty anastomózy
- h) oblast dna anastomózy a vznikající vír
- i) oblast špičky anastomózy bez víru - laminární proudění a typické vymizení stagnačního bodu.

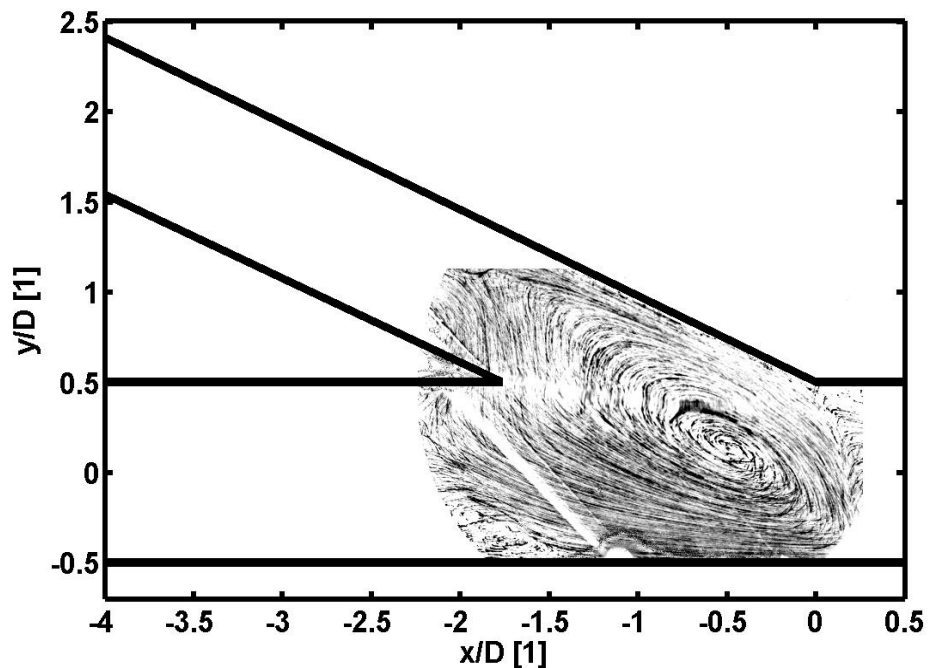
### 5.2.1 Vliv rozdílného poměru průměrů náhrady a tepny na proudový obraz

V části věnující se vlivu poměru průměrů náhrady a tepny na proudový obraz byl záměrně zvolen vyšetřovaný úhel napojení  $25^\circ$ , při kterém byly řešené hemodynamické charakteristiky neoptimálnější ze zkoumaných úhlů napojení při poměru náhrady a cílové tepny 1:1. Co se týká poměru průměrů protetické náhrady k cílové tepně byly zvoleny dva poměry průměrů, u kterých při numerickém modelování byla změna proudění nejmarkantnější. Jednalo se o poměry průměrů 0,77 a 1,25. V experimentálním měření byla použita vizualizace a metoda PIV. Z PIV měření vyhodnocena pole okamžité

rychlosti proudu a pole střední rychlosti. Byly také vypočteny fluktuace rychlosti a rychlostní gradienty v blízkosti stěny.

Při vizualizaci proudění napojení buď většího průměru náhrady ku průměru tepny nebo naopak menšího průměru náhrady ke kalibru tepny je z vizualizací patrné, že zavíření se v oblasti distální anastomózy vyskytuje v obou případech, avšak víření při větším kalibru tepny se objevuje jen v malé části proudového pole na dně anastomózy, zatímco při malém průměru protězy k většímu kalibru tepny víření proudu zasahuje prakticky celý průměr distální anastomózy – oblasti kde se vír dotýká: patka, špička i dno anastomózy. Stagnační bod se vyskytoval u obou případů. Rozdílem však bylo, že rozsah stagnačního bodu byl na diametrálně menší ploše při širší protěze než při napojení menší protězy kdy stagnační bod byl na několika násobně větší ploše než u připojení protězy o větším průměru než je nativní tepna





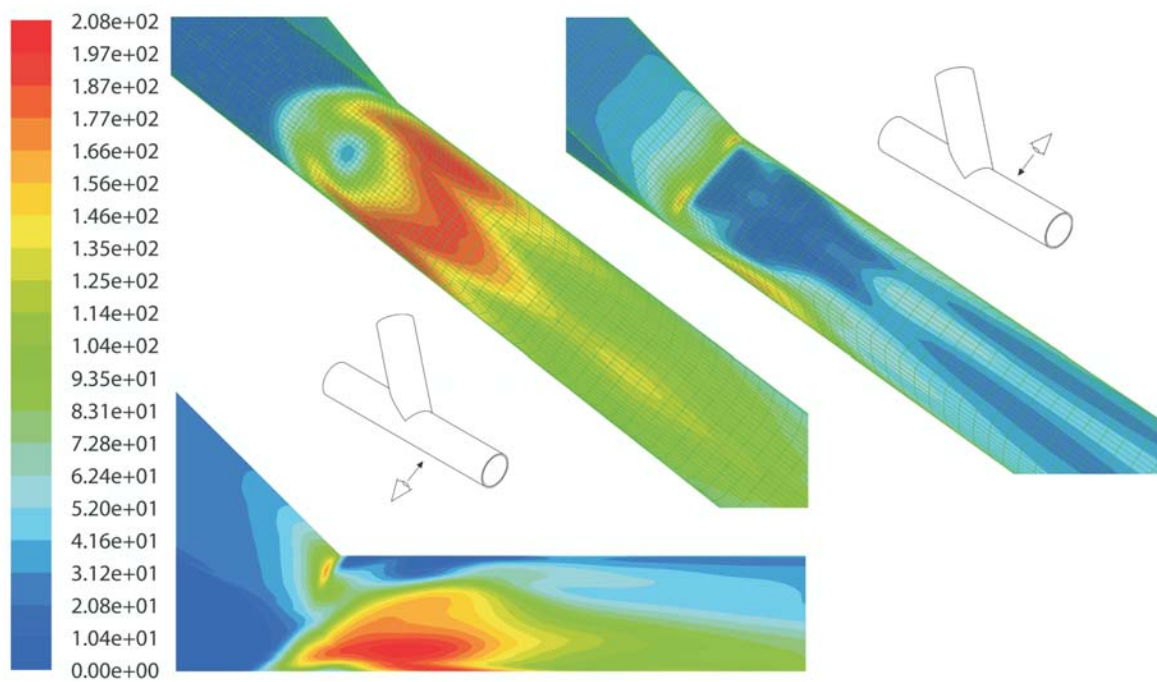
Obr.5.4

Vizualizace proudění pro dva modely anastomózy s úhlem napojení  $25^\circ$  a poměrem průměrů  $PM = 1.25$  a  $PM = 0.77$

### 5.2.2 Zpracování smykového napětí z experimentu

Z přiložených grafických zpracování velikosti výskytu smykového napětí v oblasti distální anastomózy je patrné, že kritických hodnot WSS vedoucích k progresi IH je dosaženo při úhlech  $45^\circ$  a větších, a to především v oblasti špičky anastomózy, kde WSS dosahuje hodnot nižších než je  $5 \text{ dynes/cm}^2$  (17, 18).

Dále jsou patrná místa, s velmi vysokou hodnotou WSS - nad  $70 \text{ dynes/cm}^2$ , kde již dochází k mechanickému poškození endotelových buněk anastomózy krevním proudem (znázorněno červenou barvou) a následné progresi IH, což je při úhlu napojení kolem  $45^\circ$  a vyšším. Při úhlu napojení bypassu kolem  $25^\circ$  se nacházejí odnoty WSS ve fyziologického rozmezí.



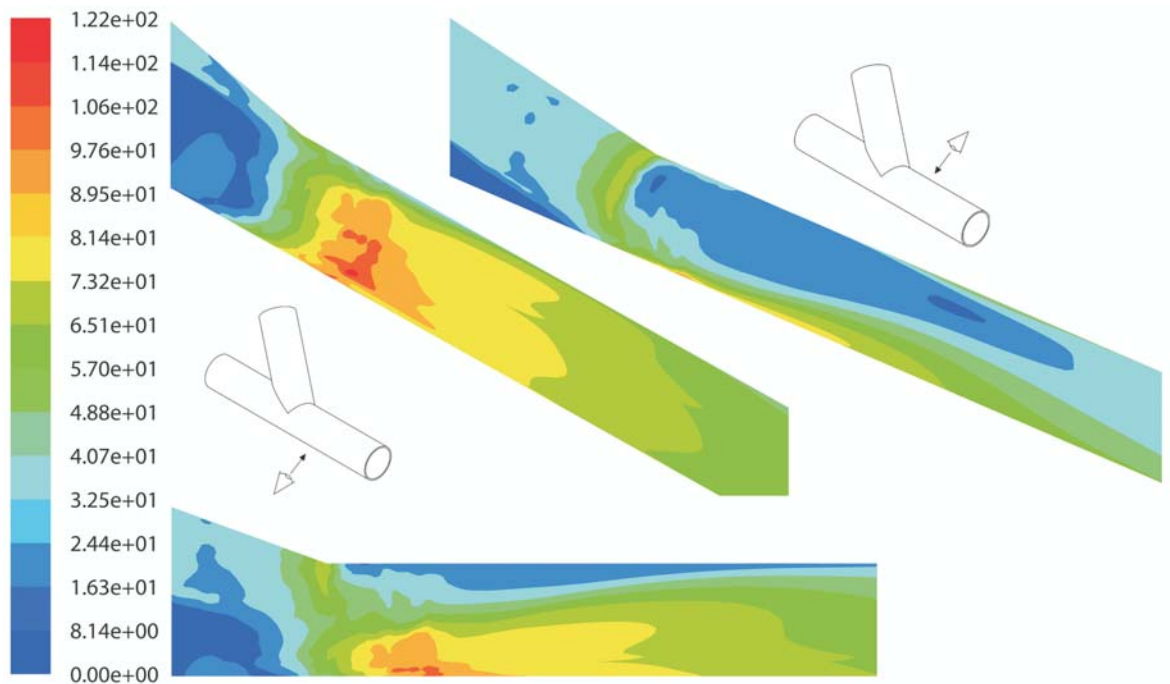
Obr.5.5

Rozložení hodnot WSS při úhlu napojení  $45^\circ$ , barevná škála ukazuje rozložení velikosti WSS v jednotlivých oblastech anastomózy.

V pravé části obrázku pohled na oblast špičky anastomózy shora .

V středu obrázku pohled na dno anastomózy zdola .

V levé části obrázku pohled na anastomózu z boku.



Obr.5.6

Rozložení hodnot WSS při úhlu napojení  $25^\circ$ , barevná škála ukazuje rozložení velikosti WSS v jednotlivých oblastech anastomózy.

V pravé části obrázku pohled na oblast špičky anastomózy shora .

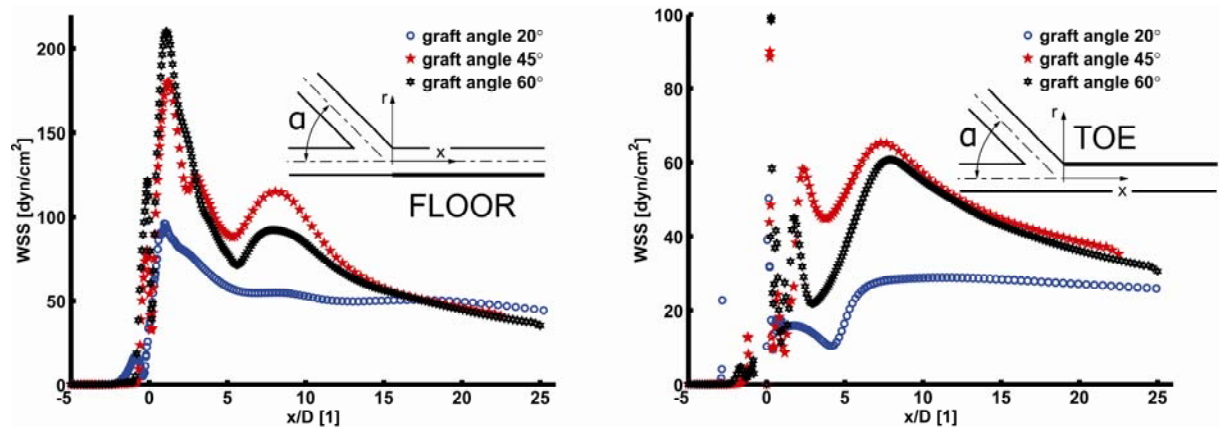
V středu obrázku pohled na dno anastomózy zdola .

V levé části obrázku pohled na anastomózu z boku .

### 5.2.3 Zpracování smykového napětí z numerického modelování

Z numerického zpracování distribuce WSS při různých úhlech napojení v různé vzdálenosti od středu anastomózy ( bod 0 na ose y) platí pro oblast špičky i paty anastomózy pravidlo, čím je menší úhel napojení, tím je menší hodnota WSS.





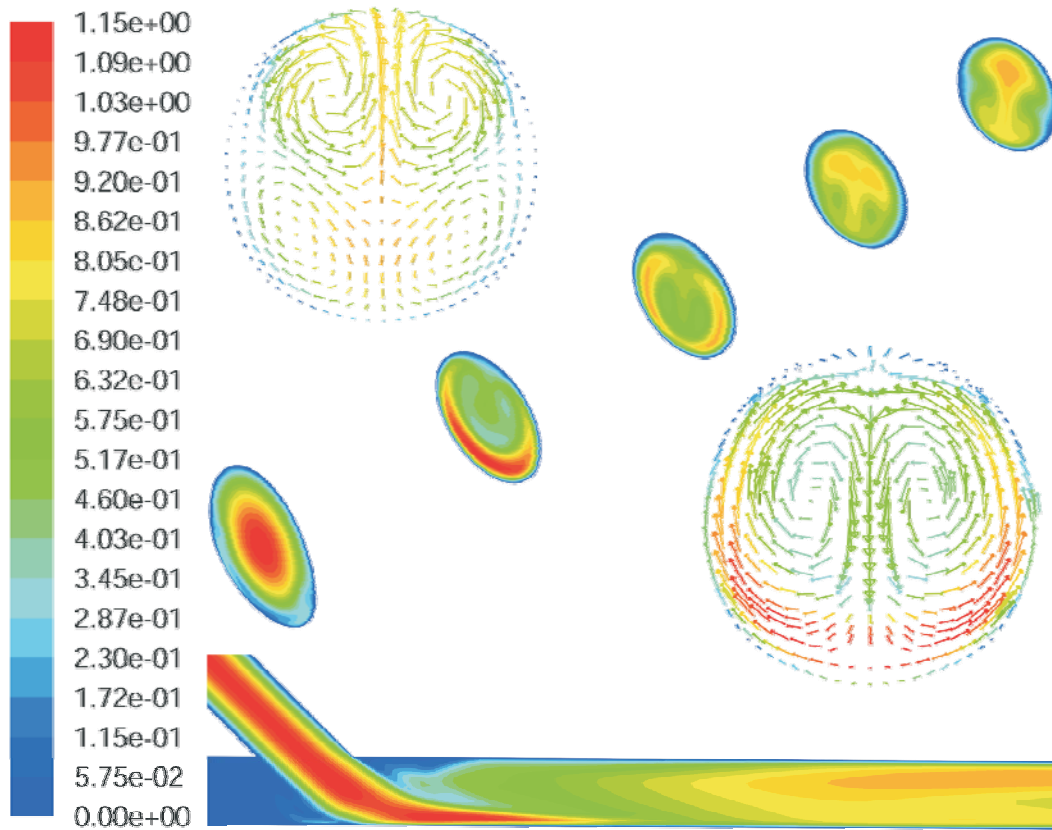
Obr.5.7

Grafické znázornění rozložení hodnot WSS v oblasti dna anastomózy od místa napojení do určité vzdálenosti od spojení po směru proudu – měřená oblast znázorněna zesílenou linií na schématu (obrázek vlevo).

Graf v pravé části znázorňuje rozložení hodnot WSS v oblasti špičky a distálně po směru proudu – měřená oblast znázorněna zesílenou linií na schématu grafického zobrazení vpravo.

#### 5.2.4 Charakter proudění v oblasti anastomózy

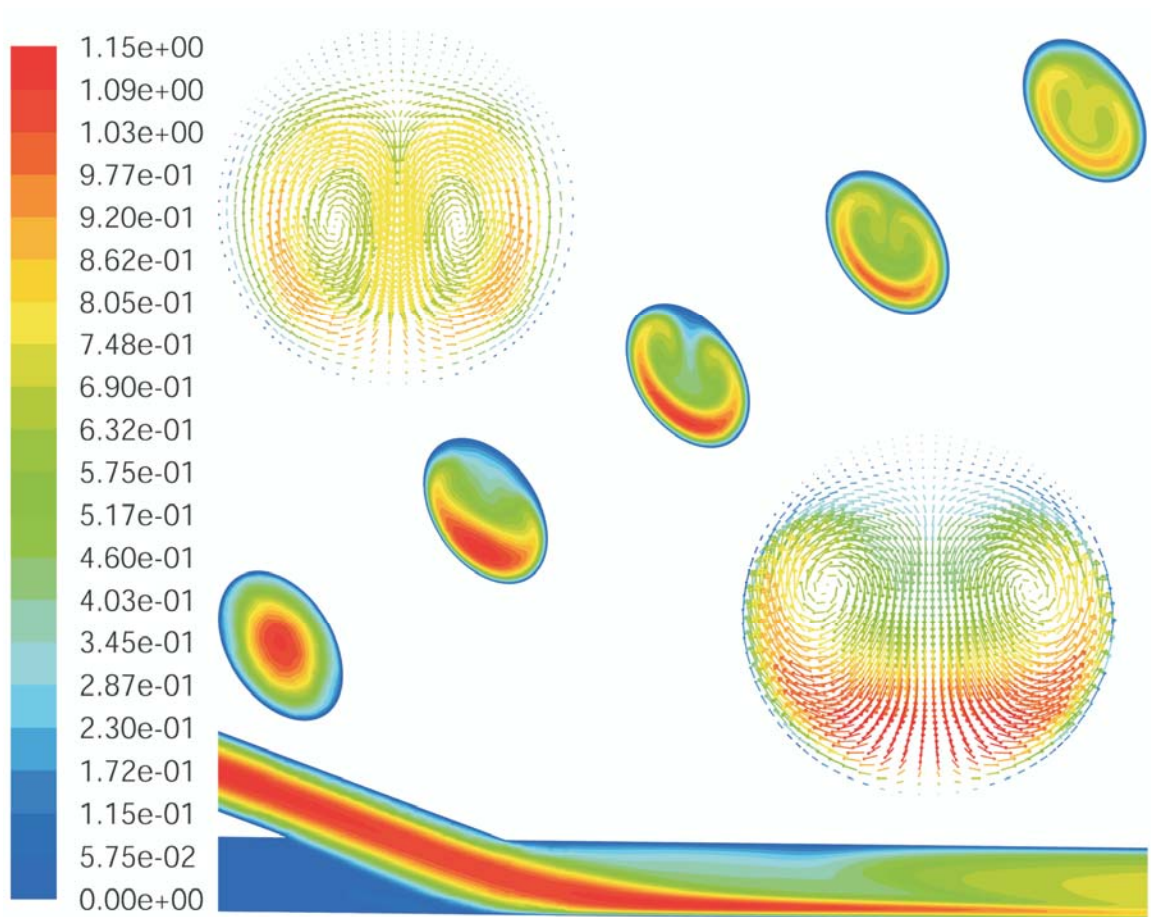
Z níže zobrazených zpracování je patrné že při úhlu napojení  $45^\circ$  dochází při dopadu krevního proudu na dno anastomózy k zavíření přímo v oblasti cévního spojení a krevní proud se srovnává do laminárního až ve velké vzdálenosti distálně od anastomózy. Prakticky spirála zavíření krevního proudu patrná z obrázku je zachycena i v distální části modelu. Oproti tomu při úhlu napojení  $25^\circ$  prochází krevní proud anastomózou téměř v celém průběhu laminárně, bez víření, ke kterému dochází až daleko za anastomózou, tedy mimo kritickou oblast cévního spojení.



Obr.5.8

Chování krevního proudu při průchodu anastomózou při úhlu napojení  $45^\circ$ .

V střední části obrázku jsou patrné příčné řezy v daném místě anastomózy a distálního nativního řečiště. Vektory na příčných řezech znázorňují zavíření krevního proudu při průchodu anastomózou a bezprostřední vzdálenosti za ní. Patrné výrazné zavíření po nárazu krevního proudu na dno anastomózy.



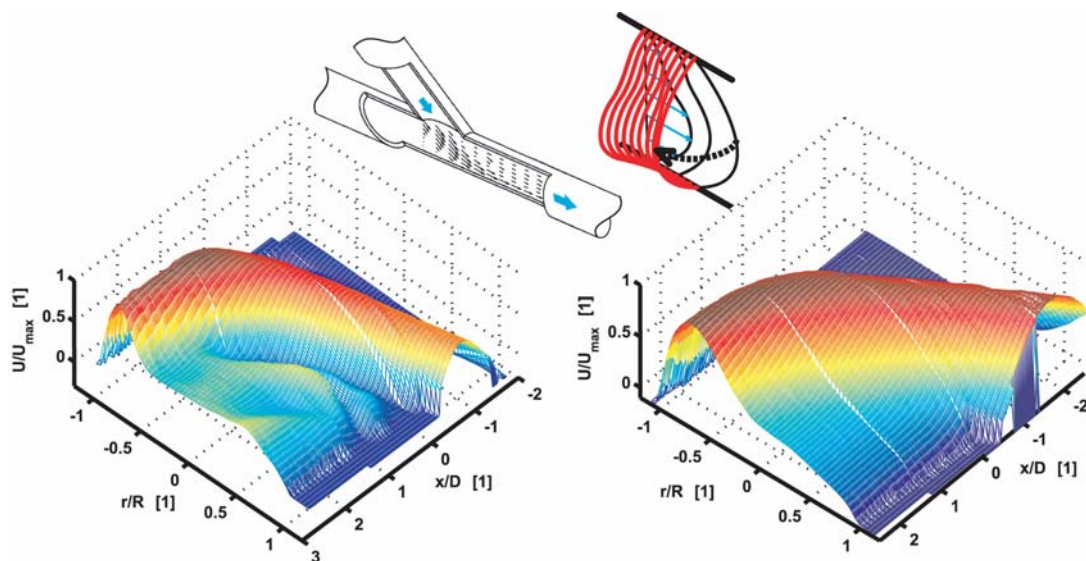
Obr.5.9

Chování krevního proudu při průchodu anastomózou - úhel napojení  $25^\circ$ .

V střední části obrázku jsou patrné příčné řezy v daném místě anastomózy a distálního nativního řečiště. Vektory na příčných řezech znázorňují zavíření krevního proudu v různých místech anastomózy. Patrný téměř laminární průchod krevního proudu anastomózou a k zavíření dochází daleko za anastomózou.

### 5.2.5 Rozložení rychlosti při průchodu krevního proudu anastomózou

Z níže uvedeného grafického zpracování je patrný velmi pravidelný rychlostní profil krevního proudu při úhlu napojení  $25^\circ$  a četné proudové disturbance při úhlu napojení  $45^\circ$  zejména v okrajových zónách krevního proudu.



Obr.5.10

Zobrazení spektra rychlostního pole krevního proudu při úhlu napojení  $45^\circ$  vlevo, vpravo pro úhel napojení  $25^\circ$ . Měřeno metodou PIV.

## 6 Závěr

Hlavním cílem práce bylo optimalizovat cévní spojení infrainguinálních protetikých rekonstrukcí v oblasti distální end-to-side anastomózy, jakožto místa, kde dochází k nejčastějšímu selhání rekonstrukce v důsledku negativního vlivu hemodynamiky a tím minimalizovat procento selhání bypassu.

Klinické i experimentální ověření jasně prokázalo, že hemodynamika – charakter krevního proudu v anastomóze a především WSS hraje klíčovou roli ve vývoji a lokalizaci stenóz v případě intimomediální hyperplazie. Bylo potvrzeno, že maximum změn se odehrává ve špičce, patě a na dně anastomózy.

Při provedení celé řady experimentů se jednoznačně potvrdila hypotéza stanovená na podkladě klinických vyšetření a numerické simulace, že úhel napojení v oblasti distální anastomózy protetikého proximálního femoropopliteálního bypassu sehrává klíčovou úlohu v selhání této rekonstrukce, v časové periodě od půl roku do dvou let po provedeném výkonu na vrub intimomediální hyperplazie. Právě úhel anastomózy, rozhoduje do jaké míry se rozvinou změny ve smyslu intimomediální hyperplazie. Intimomediální hyperplazie charakterizovaná zvýšenou proliferací buněk hladkého svalstva je problémem, který se vyskytuje velmi často, jak udávají statistické hodnoty, a to nejen v případě infrainguinálních rekonstrukcí.

Prokázali jsme, že čím menší je úhel, pod kterým byla anastomóza našita, tím více se hodnoty WSS přibližují fyziologickým hodnotám. Tím dochází k minimalizaci poškozování buněk endotelu a také eliminaci následné negativní stimulace buněk hladké svaloviny. Z námi zkoumaných úhlů napojení (25°, 45°, 60°) jsme nejpříznivější výsledky stran hemodynamiky a fyziologických hodnot WSS dosáhli při napojení protézy na nativní tepnu v oblasti distální anastomózy pod úhlem 25°. Čím je menší úhel napojení, tím se více přibližujeme k laminárnímu proudění v oblasti anastomózy a tím je WSS menší. Za fyziologické hodnoty WSS, které nemají negativní vliv na endotel cévní stěny ve smyslu vzniku a progresu IH se dle dostupné literatury považují hodnoty WSS v rozmezí 10 - 70 dyn/ cm<sup>2</sup> (72, 73). Některé literární zdroje udávají, že toto rozmezí hodnot WSS má naopak účinek protektivní na cévní stěnu a tedy působí proti vzniku a progresi IH (72, 73).

Ani v případě krevního proudu v oblasti anastomózy tomu není jinak. Disturbance neboli víření v oblasti anastomózy jsou nejmenší v případě úhlu napojení 25° a to i při různých

poměrech průměrů nativní tepny a protézy, kdy se z dostupných experimentů jeví jako optimální napojení menšího průměru protézy k danému průměru tepny. Vzhledem k tomu, že nejmenší víření v oblasti distální anastomózy se objevuje v případě užití stejných poměrů průměrů nativní tepny a protetické náhrady přikládáme se v klinické praxi k užití poměrů 1:1. Detailnější výzkum spojení různých průměrů protézy a nativní tepny jsou otázkou dalšího výzkumu a pro potřeby této práce bylo v experimentu provedeno hodnocení pouze jako orientačně doplňující naši problematiku. Dalším významným zjištěním bylo vymizení stagnačního bodu při úhlu napojení 25° v oblasti špičky. Toto je velmi důležité, vzhledem k tomu, že místo výskytu stagnačního bodu je při srovnání AG nálezů totožné s místem výskytu změn ve smyslu IH v oblasti špičky anastomózy. Taktéž i hodnoty WSS se při vymizení stagnačního bodu dostávají v místě špičky do fyziologického intervalu hodnot WSS. Charakter krevního proudu v oblasti špičky v místě původního stagnačního bodu při úhlu napojení 25° byl téměř lineární. Také v oblasti dna i paty došlo k výraznému snížení turbulentního proudění.

Závěrem tedy můžeme konstatovat, že kritickými místy v oblasti distální anastomózy kde dochází k výskytu změn ve smyslu IH jsou špička, pata a dno anastomózy. Tuto hypotézu podporuje i nález změn v oblasti distální anastomózy trombolyzovaných femoropopliteálních proximálních protetických rekonstrukcí, u kterých došlo k uzávěru v časovém intervalu od 6 do 18 měsíce po provedení rekonstrukce.

### **Přínos práce pro klinickou praxi**

Jak vyplývá ze závěrů práce (104), které jsou ve shodě i s jinými literárními prameny (1,24) doporučujeme provádět distální anastomózu s co nejmenším úhlem spojení mezi protézou a nativní tepnou. Tím je automaticky daná i délka arteriotomie. Na otázku, jakou velikost protézy k danému kalibru tepny by měl chirurg zvolit, aby byl negativní vliv krevního proudu na stěnu tepny maximálně eliminován, odpovídáme přibližně stejný kalibr protézy jako je průměr tepny.

Z předchozích odstavců vyplývá nezanedbatelný vliv chirurga provádějícího distální anastomózu rekonstrukce. Jednak ve výběru vhodné velikosti našívané protézy k danému kalibru tepny. Dále tak i úhlu pod jakým je protéza k nativní řečiště našita. Očekávaným výsledkem je prodloužení průchodnosti těchto provedených rekonstrukcí. „Operující chirurg se tedy do určité míry stává klíčem k dlouhodobé průchodnosti prováděných rekonstrukcí“.

## Použitá literatura

- (1) Hobson RW, Wilson SE, Veith FJ. Vascular Surgery. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 2004.
- (2) Firt P, Hejnal J, Vaněk I. Cévní chirurgie. Praha: Avicenum, 1991.
- (3) Vaněk I, a kol. Kardiovaskulární chirurgie. Karolinum, 2003.
- (4) Crawford ES, Salem AS, Babb JW, et al. Infrarenal abdominal aortic aneurysm: Factors influencing survival after operation performed over 25-year period. *Ann Surg* 1981;193:699-709.
- (5) Klinkert P, Schepers A, Burger DH, et al. Vein versus polytetrafluoroethylene in above-knee femoropopliteal bypass grafting: five year results of randomized controlled trial. *J Vasc Surg* 2003;37(1):149-155.
- (6) Johnson WC, Lee KK. A comparative evaluation of polytetrafluoroethylene, umbilical vein, and saphenous vein bypass grafts for femoral-popliteal above-knee revascularisation: a prospective randomized Department of Veterans Affairs cooperative study. *J Vasc Surg* 2000;32(2):268-277.
- (7) Phillips CE Jr, DeWeese JA, Campeti FL. Comparison of peripheral arterial grafts. *Arch Surg* 1961;82:38-48.
- (8) Hayward PA, Hare DL, Gordon I, Buton BF. Effect of radial or saphenous vein conduit for the second graft on 6-year clinical outcome after coronary artery bypass grafting. Results of a randomised trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;34(1):113-117
- (9) Berglund J, Björck M, Elfstrom J. Long-term Results of Above Knee Femoropopliteal Bypass Depend on Indication for Surgery and Graft-material. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005;29:412-418.
- (10) Cheshire NJ, Wolfe JH. Infrainguinal Graft Surveillance: a Biased Overview. *Semin Vasc Surg* 1993;6(2):143-9.
- (11) Callow AD, Welch CS. Arterial Anastomosis in Experimental Arterial Injury. *Surg Gyn Obstet* 1950;90:77-85.
- (12) Netrebska H, Schmirler M, Matecha J, et al. The Stenosis Shape Influence on the Flow Pattern in Distal End-to-Side Anastomosis. The 17th International Symposium on Transport Phenomena, Toyama, Japan 2006.
- (13) Bryan AJ, Angelini GD. The Biology of Saphenous Vein Graft Occlusion: etiology and strategies for prevention. *Curr Opin Cardiol* 1994;9(6):641-9.

- (14) AbuRahma AF, Robinson PA, Holt SM. Prospective controlled study of polytetrafluoroethylene versus saphenous vein in claudicant patients with bilateral above knee femoropopliteal bypasses. *Surgery* 1999;126(4):594-601; discussion 601-602.
- (15) Ernst CB, Stanley JC. *Current Therapy in Vascular Surgery*. 4th ed. St. Louis: Mosby Inc., 2001.
- (16) Hejnal J, Krajiček M, Zástava V. *Cévní náhrady*. Praha: Academia, 1967.
- (17) Leon L, Greisler HP. Vascular grafts. *Exper Rev Cardiovasc Ther* 2003;1(4):581.
- (18) Klinkert P, Post PN, Breslau PJ, et al. Saphenous Vein Versus PTFE for Above-Knee Femoropopliteal Bypass. A Review of the Literature. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;27:357-362.
- (19) Sacks D. The TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC) on the management of peripheral arterial disease. *J Vasc Interv Radiol* 2003;14 (9),S351.
- (20) Reekers JA, Bolia A. Percutaneous intentional extraluminal (subintimal) recanalisation: how to do it yourself. *Eur J Radiol* 1998;8:192-198.
- (21) Scott RA, Ashton HA, Kay DN. Abdominal aortic aneurysm in 4237 screened patients: prevalence, development and management over 6 years. *Br J Surg* 1991;78:1122-1125.
- (22) Scott MN. *Graft type for femoro-popliteal bypass surgery*. Chichester: John Wiley and Sons, The Cochrane Library, Issue 2, 2004.
- (23) Powel JT, Abdominal aortic aneurysm: national history and risk of rupture. In Branchereau A, Jacobs M. *Surgical and Endovascular Treatment of Aortic Aneurysm*. Armonk: Futura Publishing Co., 2000, p. 11-18.
- (24) Rutherford RB. *Vascular Surgery*. 6th ed. Philadelphia (PA): Elsevier Saunders; 2005.
- (25) Hines GL, Wain RA, Montecalvo J, Feuerman M. Femoro-Popliteal Bypass with Endoscopically Harvested Saphenous Vein in Patients with TASC D Disease of the Superficial Femoral Artery. *Ann Vasc Surg* 2009;Nov 3, Epub ahead of print.
- (26) Krajiček M., Peregrin JH, Roček M, Šebesta P, a kol. *Chirurgická a intervenční léčba cévních onemocnění*. První vydání, Praha, Grada Publishing, 2007.
- (27) Neufang A, Espinola-Klein C, Dorweiler B, Messow CM, Schmidt W, Vahl CF. Femoropopliteal prosthetic bypass with glutaraldehyde stabilized human umbilical vein(HUV). *J Vasc Surg* 2007;46(2),280-288.



- (28) Dorigo W, Di Carlo F, Troisi N, Pratesi G, Innoncenti AA, Pulli R, Pratesi C. Lower limb revascularisation with a new bioactive prosthetic graft: early and late results. *Ann Vasc Surg* 2008;22(1),79-87
- (29) Tofigh AM, Warnier De Wailly G, Rhissassy B. Comparing vein with collagen impregnated woven polyester prosthesis in above-knee femoropopliteal bypass grafting. *Int J Surg* 2007;5(2),109-113.
- (30) Kleinstreuer C, Hyun S, Buchanan JR, et al. Hemodynamic Parameters and Early Intimal Thickening in Branching Blood Vessels. *Crit Rev Biomed Eng* 2001;29(1):1-64.
- (31) Callow AD, Balas E, Aboulafia ED. Functional Similarity of Bypass Arterial Collateral Vessel. Studied on Delayed Occlusion in Alternative Arterial Channels. *Ann Surg* 1962;156:24-29.
- (32) Anayiotos AS, Pedroso PD, Eleftheriou EC, Venugopalan R, Holman WL. Effect of flow-streamlining implant at the distal anastomosis of a coronary bypass graft. *Ann Biomed Engineering* 2002;30,917-926.
- (33) Grus T, Lindner J, Vik K, et al. Particle Image Velocimetry Measurement in the Model of Vascular Anastomosis. *Prague Med Rep* 2007;108(1):75-86.
- (34) Greenhalgh RM. *Vascular and Endovascular Surgical Techniques*. 4th ed. London: W. B. Saunders, 2002.
- (35) Longest P, Kleinstreuer C. Particle hemodynamics modeling of the distal end-to-side femoral bypass: effects of graft caliber and graft-end cut. *Med Eng Phys* 2003;25:843-858.
- (36) Szilagyi DE, Jay GD, Munnell ER. Femoral arteriovenous anastomosis in the treatment of occlusive arterial disease. *AMA Arch Surg* 1951;63(4):435-451.
- (37) Griffiths GD, Nagy J, Black D, Stonebridge PA. Randomized clinical trial of distal anastomotic interposition vein cuff in infrainguinal polytetrafluoroethylene bypass grafting. *Br J Surg* 2004;91(5):560-562.
- (38) Trubel W, Schima H, Czerny M, Perktold K, Schimek MG, Polterauer P. Experimental comparison of four methods of end-to-side anastomosis with expanded polytetrafluoroethylene. *Br J Surg* 2004;91(2):159-167.
- (39) Tošenovský P, Edmonds ME. *Moderní léčba syndromu diabetické nohy*. Praha: Galén, 2004
- (40) Leséche G, Penna C, Bouttier S, Joubert S, Andréassian B. Femorodistal bypass using cryopreserved venous allograft for limb salvage. *Ann Vasc Surg* 1997;11(3):230-236.

- (41) Rebane E, Tikko H, Tunder E, Lepner U, Helberg A, Pulges A, Vaasna T, Suba S, Lieberg J, Tamm V, Ellervee T, Vasar O. Venous allograft for infrainguinal vascular bypass. *Cardiovasc Surg* 1997;5(1):21-25
- (42) Šrámek BB, Valenta J, Klimeš F. *Biomechanics of the Cardiovascular System*. Praha: Czech Technical University Press, 1995.
- (43) Davies PF. Flow-Mediated Endothelial Mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995;75(3):519-60.
- (44) Haruguchi H, Teraoka S. Intimal Hyperplasia and Hemodynamic Factors in Arterial Bypass and Arteriovenous Grafts: a Review. *J Artif Organs* 2003;6(4):227-35.
- (45) Bassiouny HS, White S, Glagov S, et al. Anastomotic Intimal Hyperplasia: Mechanical Injury or Flow Induced. *J Vasc Surg* 1992;15(4):708-16.
- (46) Berguer R, Higgins RF, Reddy DJ. Intimal Hyperplasia. An Experimental Study. *Arch Surg* 1980;115(3):332-5.
- (47) Keynton RS, Evancho MM, Sims RL, et al. Intimal Hyperplasia and Wall Shear in Arterial Bypass Graft Distal Anastomoses: an in Vivo Model Study. *J Biomech Eng* 2001;123(5):464-73.
- (48) White FM. *Fluid Mechanics*. New York: Mc Graw-Hill, 1986.
- (49) Passerini AG, Milsted A, Rittgers SE. Shear stress magnitude and directionality modulate growth factor gene expression in preconditioned vascular endothelial cells. *J Vasc Surg*. 2003;37(1):182-90.
- (50) Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JAMA*. 1999;282(21):2035-42.
- (51) Ethier CR, Steinman DA, Zhang X, et al. Flow Waveform Effects on End-to-Side Anastomotic Flow Patterns. *J Biomech* 1998;31(7):609-17.
- (52) Ziegler T, Alexander RW, Nerem RM. An endothelial cell-smooth muscle cell co-culture model for use in the investigation of flow effects on vascular biology. *Ann Biomed Eng*. 1995;23(3):216-25.
- (53) Mackie IJ, Neal CR. The Platelet. In: Pittilo RM, Machsin SJ, eds. *Platelet-Vessel Wall Interactions*. London: Springer-Verlag, 1988:1-32.
- (54) Roth GJ. Platelets and blood vessels: The adhesion event. *Immunol Today* 1992;13(3):100-105.
- (55) Packham MA. The Behavior of Platelets at Foreign Surfaces. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1988;189:261-274.

- (56) Yamamoto K, et al. Tissue distribution and regulation of murine von Willebrand factor gene expression in vivo. *Blood*, 1998;92:2791-2801.
- (57) Ruggeri ZM. The role of von Willebrand factor and fibrinogen in the initiation of platelet adhesion to thrombogenic surfaces. *Tromb Haemost* 1995;74(1):460-463.
- (58) Traub O, Berk BC. Laminar Shear Stress. Brief Review. *Atheroscler Tromb Vasc Biol* 1998;18:677-685.
- (59) Zarins CK, Zatina MA, Giddens DP, et al. Shear stress regulation of artery lumen diameter in experimental atherogenesis. *J Vasc Surg* 1987;5:413-420.
- (60) Sottiurai VS. Biogenesis and etiology of distal anastomotic intimal hyperplasia. *International Angio* 1990;9:59-69.
- (61) Texon M, Imparato AM, Helpert M. The role of vascular dynamics in the development of atherosclerosis. *JAMA*. 1965;194(11):1226-30.
- (62) Fry DL. Acute vascular endothelial changes associated with increased blood velocity gradients. *Circulation* 1968;12:65-97.
- (63) Imparato AM, Bracco A, Kim GE, Zeff R. Intimal and neointimal fibrous proliferation causing failure of arterial reconstructions. *Surg* 1987;72:1007-1017.
- (64) Caro CG, Fitzgerald JM, Schroter RC. Atheroma and arterial wall shear: observation, correlation and proposal of a shear dependent mass transfer mechanism for atherogenesis. *Proc R Soc (Biol)* 1971;177:109-159.
- (65) Ku DN, Giddens DP, Zarins CK, Glagov S. Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. *Arteriosclerosis*. 1985;5(3):293-302.
- (66) Kleinstreuer C, Nazemi M, Archie JP. Hemodynamics analysis of a stenosed carotid bifurcation and its plaque-mitigating design. *J Biomech Eng*. 1991;113(3):330-5.
- (67) Thubrikar MJ, Roskelley SK, Eppink RT. Study of stress concentration in the walls of the bovine coronary arterial branch. *J Biomech*. 1990;23(1):15-26.
- (68) Camejo G, Hurt E, Thubrikar M, Bondjers G. Modification of low density lipoprotein association with the arterial intima. A possible environment for the antiatherogenic action of beta-blockers. *Circulation*. 1991;84(6 Suppl):VII17-22. Review.
- (69) Grus T, Lindner J, Vidim T, Tosovsky J, Matecha J, Rohn V, Lambert L, Grusova G. The anastomosis angle is a key to improved long-term patency of proximal femoropopliteal bypass. *Ann Vasc Surg*. 2009;23(5):598-605.

- (70) Frauenfelder T, Boutsianis E, Schertler T, Husmann L, Leschka S, Poulikakos D, Marincek B, Alkadhi H. Flow and wall shear stress in end-to-side and side-to-side anastomosis of venous coronary artery bypass grafts. *Biomed Eng Online*. 2007 26;6:35.
- (71) Sarkar S, Salacinski HJ, Hamilton G, Seifalian AM. The mechanical properties of infrainguinal vascular bypass grafts: their role in influencing patency. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2006;31(6):627-36.Review
- (72) Passerini AG, Milsted A, Rittgers SE. Shear stress magnitude and directionality modulate growth factor gene expression in preconditioned vascular endothelial cells. *J Vasc Surg*. 2003;37(1):182-90.
- (73) Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JAMA*.1999;282(21):2035-42.
- (74) Polak JF. *Peripheral Vascular Sonography: a practical guide*. Second Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- (75) Eliáš P, Žižka J. *Dopplerovská ultrasonografie*. Hradec Králové: Nukleus, 1998.
- (76) Zierler RE, Meissner M. *Strandness's Duplex Scanning in Vascular Disorders*. Four Edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- (77) Varghese SS, Frankel SH. Numerical modeling of pulsatile turbulent flow in stenotic vessels. *J Biomech Eng*. 2003;125(4):445-60.
- (78) Giordana S, Sherwin SJ, Peiró J, Doorly DJ, Crane JS, Lee KE, Cheshire NJ, Caro CG. Local and global geometric influence on steady flow in distal anastomoses of peripheral bypass grafts. *Biomech Eng*. 2005;127(7):1087-98.
- (79) Hughes PE, How TV. Effects of geometry and flow division on flow structures in models of the distal end-to-side anastomosis. *J Biomech*. 1996;29(7):855-72.
- (80) Qiao A, Liu Y, Guo Z. Wall shear stresses in small and large two-way bypass grafts. *Med Eng Phys*. 2006;28(3):251-8.
- (81) O'Callaghan S, Walsh M, McGloughlin T. Numerical modelling of Newtonian and non-Newtonian representation of blood in a distal end-to-side vascular bypass graft anastomosis. *Med Eng Phys*. 2006;28(1):70-4.
- (82) Cholt M. *Sonografie velkých krčních cév. Repetitorium ultrazvukové cévní diagnostiky a atlas nálezů na CD*. Praha: Grada, 2009.
- (83) Netřebská, H., Schmirler, M., Matěcha, J., and Adamec, J. *Výroba transparentních modelů metodou vytavitelného vosku pro měření metodou PIV*. Výzkumná zpráva - České vysoké učení technické v Praze, 2007

- (84) Matěcha J. Vliv velikosti průměru cévní náhrady na proudění kapaliny v modelu end-to-side distální anastomózy tepenného bypassu dolních končetin. Disertační práce, České vysoké učení technické v Praze, 2009.
- (85) Jiyuan Tu, Guan HY, Chaoqum Liu. Computational Fluid Dynamics: A Practical Burlington: Elsevier, 2008.
- (86) Siouffi M, Deplano V, Pélissier R. Experimental analysis of unsteady flows through a stenosis. *J Biomech.* 1998;31(1):11-9.
- (87) Gaupp S, Wang Y, How TV, Fish PJ. Characterization of vortices using pulsed-wave Doppler ultrasound. *Proc Inst Mech Eng H.* 2000;214(6):677-84.
- (88) Butler MB, Moran CM, Anderson T, Cunningham C, Ross JA, Easson WJ, Fox KA, McDicken WN. Laser Doppler anemometry measurements of the shear stresses on ultrasonic contrast agent microbubbles attached to agar. *Ultrasound Med Biol.* 2005;31(4):545-52.
- (89) Nugent AH, Bertram CD. Three-dimensional ray tracing through curvilinear interfaces with application to laser Doppler anemometry in a blood analogue fluid. *Med Biol Eng Comput.* 2009 Aug 11. [Epub ahead of print]
- (90) Kaminsky R, Dumont K, Weber H, Schroll M, Verdonck P. PIV validation of blood-heart valve leaflet interaction modelling. *Int J Artif Organs.* 2007;30(7):640-8.
- (91) Charonko J, Karri S, Schmiegl J, Prabhu S, Vlachos P. In vitro, time-resolved PIV comparison of the effect of stent design on wall shear stress. *Ann Biomed Eng.* 2009 Jul;37(7):1310-21.
- (92) Ojha M, Cobbold RS, Johnston KW. Influence of Angle on Wall Shear Stress Distribution for an End-to-Side Anastomosis. *J Vasc Surg* 1994;19(6):1067-73.
- (93) Walsh MT, Kavanagh EG, O'Brien T, et al. On the Existence of an Optimum End-to-Side Junctional Geometry in Peripheral Bypass Surgery - a Computer Generated Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003;26(6):649-56.
- (94) Papaharilaou Y, Doorly DJ, Sherwin SJ. The Influence of Out-of-Plane Geometry on Pulsatile Flow Within a Distal End-to-Side Anastomosis. *J Biomech* 2002;35(9):1225-39.
- (95) Longest PW, Kleinstreuer C, Archie JP. Particle Hemodynamics Analysis of Miller Cuff Arterial Anastomosis. *J Vasc Surg* 2003;38(6):1353-62.
- (96) Imparato AM, Bracco A, Kim GE, et al. Intimal and Neointimal Fibrous Proliferation Causing Failure of Arterial Reconstructions. *Surgery* 1972;72(6):1007-17.

- (97) Fry DL. Arterial Intimal-Medial Permeability and Coevolving Structural Responses to Defined Shear-Stress Exposures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(6):H2341-55.
- (98) Giordana S, Sherwin SJ, Peiró J, et al. Local and Global Geometric Influence on Steady Flow in Distal Anastomoses of Peripheral Bypass Grafts 2005; *J Biomech Eng* 2005;127(7):1087-98.
- (99) Fan Y, Xu Z, Jiang W, et al. An S-type bypass can improve the hemodynamics in the bypassed arteries and suppress intimal hyperplasia along the host artery floor. *J Biomech* 2008;41(11):2498-2505.
- (100) Wijesinghe LD, Mahmood T, Scott DJ. Axial flow fields in cuffed end-to-side anastomoses: effect of angle and disease progression. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1999;18(3):240-4.
- (101) Mahler F, Schneider E, Hess H; Steering Committee, Study on Local Thrombolysis. Recombinant tissue plasminogen activator versus urokinase for local thrombolysis of femoropopliteal occlusions: a prospective, randomized multicenter trial. *J Endovasc Ther.* 2001;8(6):638-47.
- (102) Sandbaek G, Staxrud LE, Rosén L, Slagsvold CE, Stavits P, Bay D, Gjølborg T, Kolmannskog F. Outcome after catheter-directed thrombolysis of occluded prosthetic femoropopliteal bypasses. A prospective study. *Acta Radiol.* 2000 May;41(3):249-54.
- (103) Wissgott C, Kamusella P, Richter A, Klein-Weigel P, Schink T, Steinkamp HJ. Treatment of acute femoropopliteal bypass graft occlusion: comparison of mechanical rotational thrombectomy with ultrasound-enhanced lysis. *Rofo.* 2008;180(6):547-52.
- (104) Grus T, Lindner J, Vidim T, Tosovsky J, Matecha J, Rohn V, Lambert L, Grusova G. The anastomosis angle is a key to improved long-term patency of proximal femoropopliteal bypass. *Ann Vasc Surg.* 2009; 23(5):598-605.

## 8 Publikační činnost k tématu práce

1. Grus T, Lindner J, Vidim T, Tosovsky J, Matecha J, Varejka P, Rohn V, Tuma L, Grusova G. **The Anastomosis Angle is a Key to Improved Long-Term Patency of the Proximal Femoropopliteal Bypass.** Ann Vasc Surg 2009; 23(5):598-605 **IF 1.751**
2. Grus T, Lindner J, Vik K, Tosovský J, Matecha J, Netrebská H, Tůma J, Adamec J. **Particle image velocimetry measurement in the model of vascular anastomosis.** Prague Med Rep. 2007;108(1):75-86. *Práce vyhrála publikaci roku časopisu Prague Medical Report v roce 2007.*
3. Lindner J, Jansa P, Kunstyr J, Mayer E, Blaha J, Palecek T, Aschermann M, Grus T, Ambroz D, Tosovský J, Vitkova I. **Implementation of a new programme for the surgical treatment of CTEPH in the Czech Republic-Pulmonary endarterectomy.** Thorac Cardiovasc Surg. 2006 Dec;54(8):528-31 **IF 0.753**
4. Lindner J, Šimo J, Grus T. **A case report of an Extra Anatomical Carotico-iliac Bypass.** Eur Jour Vasc Endovasc Surg Extra. 2005;9:16-18 **IF 1.774**
5. Tikhonoff V, Staessen JA, Kuznetsova T, Thijs L, Hasenkamp S, Bäumer V, Stolarz K, Seidlerová J, Filipovský J, Nikitin Y, Peleska J, Kawecka-Jaszcz K, Casiglia E, Brand-Herrmann SM, Brand E; et investigators (..Grus T..) European Project On Genes in Hypertension (EPOGH) investigators. **SAH gene variants revisited in the European Project On Genes in Hypertension.** J Hypertens 2008; 26(2):244-50 **IF 4.364**
6. Grus T. **Příspěvek k hemodynamice cévních spojení I.** Kurz cévních anastomóz. Vzdělávací akce ČLK v rámci celoživotního vzdělávání lékařů pod č. 16518, Praha 2008
7. Grus T. **Příspěvek k hemodynamice cévních spojení II.** Kurz cévních anastomóz. Vzdělávací akce ČLK v rámci celoživotního vzdělávání lékařů pod č. 17360, Praha 2008
8. Grus T, Lindner J, Krajicek M, Vik K, Tosovsky J, Matecha J, Netrebska H, Tuma J, Adamec J. **Hemodynamic Parameters of End to Side Anastomosis – Experimental study.** 35th Annual Symposium Society for Clinical Vascular Surgery, 2007, Orlando, Florida,USA. In: Book of abstrakt 35th Annual . Symposium Society for Clinical Vascular Surgery, 2007, Orlando, Florida, USA, pp. 142

9. Schmirler M, Netrebska H, Matecha J, Adamec J, Jezek J, Grus T. **Experimental Study of Bypass of Critical Locations in Relation to Vessel Wall Shear Stress.** 4th Latin American Congress on Biomedical Engineering 2007 - Bioengineering Solutions for Latin America Health, 2007 Margarita Isl Venezuela Source: IV Latin American Congress On Biomedical Engineering 2007, Bioengineering Solutions For Latin America Health, Vols 1 And 2 2008;18(1,2):753-757
10. Grus T, Lindner J, Krajicek M, Maresch M, Tosovsky J, Matecha J, Netrebska H, Tuma J, Adamec J. **The Effect of Angle and Hemodynamics upon long-term patency in Distal Vascular Graft Anastomoses – experimental study.** 5th Annual Current Trends in Cardiothoracic Surgery, Baylor College of Medicine Division of Cardiothoracic Surgery, Houston, Texas, 2007.
11. Grus T, Lindner J, Krajíček M, Tošovský J. **Chirurgická léčba stenóz a uzávěrů tepen.** Workshop na téma Teoretická a experimentální optimalizace cévních rekonstrukcí z hlediska hemodynamiky, 2005, Odbor mechaniky tekutin a termodynamiky Fakulta strojní, ČVUT v Praze.
12. Krajíček M, Novotný K, Pasák K, Grus T. **Bezstehové cévní spojení.** I. Sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, Brno, Česká republika, 2004. In: 1. sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie. Sborník abstrakt 2004 (Angiochirurgická sekce).



## 9 Ostatní publikační a přednášková činnost

1. Peleska J, Anger Z, Beran O, Grus T, Handlicek P, Reissigová J, Zvarova J. **Structured Electronic Record in Outpatient Care for Hypertensives.** Eur Jour Int Med 2001; 12(3):217-218 (ISSN: 0953-6205)
2. Grus T, Lindner J, Šlais M, Vaněk I. **Thoracic Outlet Syndrome. Netypické etiologie na typickém místě.** Rozhledy v Chir. 2003; 82(1):32-33
3. Lindner J, Vondráček V, Stříteský M, Grus T, Vaněk I, Pavlíková M. **Trendy a výsledky operace mitrální chlopně.** Časopis lékařů českých 2003; 149(6):363-367
4. Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Eckhard M, Grus T, Heller S, Paleček T, Linhart A, Aschermann M, Tošovský, Jan. **Naše první zkušenosti s plicní endarterektomií pro chronickou tromboembolickou plicní hypertenzi.** Cor et Vasa 2004; 46(11):552-555
5. Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Paleček T, Heller S, Grus T, Tošovský J, Linhart A, Aschermann M, Křivánek J, Vítková I. **Endarterektomie plicnice – chirurgická léčba chronické tromboembolické plicní hypertenze.** Cor et Vasa 2005; 47(4):61
6. Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Bláha J, Grus T, Mlejnský F, Heller S, Škavřilová M, Ambrož D, Tošovský Jan, Aschermann M, Linhart A, Křivánek J, Vítková I, Stříteský M. **Endarterektomie plicních tepen – chirurgická léčba chronické tromboembolické plicní hypertenze.** Časopis lékařů českých 2006; 145:307-311
7. Grus T, Lindner J, Vik K, Maresch M, Mlejnský F, Tošovský J. **Dissection of thoracic aorta. Combined surgical and endovascular treatment.** Rozhl Chir. 2007; 86(7):363-5.
8. Vik K, Lindner J, Grus T, Miler I, Táborský J, Šlais M, Aschermann M, Tošovský J. **Arteria Radialis, klinické výsledky a průchodnost štěpů po třech letech.** Intervenční Akutní Kardiologie 2007; 6:12-15
9. Grus T, Lindner J, Grusová G, Rohn V, Vítková I  
Chirurgická léčba poinfarktové ruptury komorového septa. Kardioforum 2007;4:20-23
10. Blaha J, Kremen M, Grus T, Ellmerer M, Lindner J, Lips M, Kotulak T, Rubes D, Matias M, Haluzik M. **Evaluation of the subcutaneous route for glucose monitoring in patients undergoing deep hypothermia.** 22<sup>st</sup> Annual EACTA Meeting, Krakow, 12.-16.6.2007, Poland. Eur Jour Anaesth 2007; 24(S41) **IF 1.169**
11. Blaha J, Kremen M, Lindner J, Grus T, Kunstýř J, Kotulak T, Haluzik M

- Evaluation of the subcutaneous route for glucose monitoring in patients undergoing deep hypothermia.** 20<sup>th</sup> ESICM Annual Congress, 7.-10.10. 2007, Berlin, Germany. Intensive Care Medicine 2007; 33(S2):263 **IF 4.406**
12. Tikhonoff V, Staessen JA, Kuznetsova T, Thijs L, Hasenkamp S, Bäumer V, Stolarz K, Seidlerová J, Filipovský J, Nikitin Y, Peleska J, Kawecka-Jaszcz K, Casiglia E, Brand-Herrmann SM, Brand E; et investigators (..Grus T...) European Project On Genes in Hypertension (EPOGH) investigators. **SAH gene variants revisited in the European Project On Genes in Hypertension.** J Hypertens 2008;26(2):244-50 **IF 4.364**
13. Lindner J, Jansa P, Salaj P, Kunstýř J, Grus T, Maruna P, Bláha J, Rubeš D, Ambrož D, Mlejnský F, Linhart A. **Thrombophilia and Pulmonary Endarterectomy.** Prag Med Rep 2009; 110(1):51–59

#### **Práce v recenzovaných zbornících**

1. Lindner J, Pavlíková M, Zvárová J, Grus T, Peleška J. **Interim Analysis of the medical Database MITRYT Concentrated on Arrhythmia after Mitral Valve Operations.** International Joint Meeting EuroMISE, 2004, Prague, CZ. Proceedings. International Joint Meeting EuroMISE, 2004, Prague, CZ. 80-903431-0-4
2. Lindner J, Grus T, Pavlíková M, Zvárová J, Tošovský J. **Comparison of the two approaches to the mitral valve focused on arrhythmia.** Book of abstract. 12th Annual meeting of the Asian Society for Cardiovascular Surgery, 2004, Istanbul.
3. Lindner J, Pavlíková M, Zvárová J, Grus T, Peleška J, Grusová G. **Analysis of the medical Database MITRYT.** Sborník semináře: Informační technologie v péči o zdraví. Praha, 2004, EuroMISE. 0-903431-1-2

## Přednášky

1. Peleška J, Anger Z, Beran O, Grus T, Handlíček P, Reissigová J, Zvárová J. **Structured Electronic Record in Outpatient Care for Hypertensives.** Congress of the European Federation of Internal Medicine /3./, Edinburgh, GB, 01.05.09-01.05.12
2. Grus T, Lindner J, Šlais M. **Poranění nervově cévního svazku v podkolenní jamce.** II.Ročník-Dny mladých chirurgů prof. Čárského-Havlíčkův Brod 6 -7.6.2002
3. Šlais M, Tábořský J, Grus T. **Výduť podkolenní tepny.** II.Ročník-Dny mladých chirurgů prof. Čárského-Havlíčkův Brod 6 - 7.6.2002
4. Lindner J, Pavlíková M, Zvárová J, Grus T, Peleška J, Šťovíček P. **Interim analysis of the medical database MITRIT concentrated on arrhythmia after mitral valve operations.** Pracovní setkání EUROMISE AV ČR únor 2004
5. Lindner J, Grus T, Pavlíková M, Zvárová J, Tosovský J. **Comparison of the two approaches to the mitral valve focused on arrhythmia.** Asian Society for Cardiovascular Surgery, 2004, Istanbul, Turkey
6. Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Grus T, Bláha Jan. **Program endarterectomie plicnice v České republice.** XIV. Sjezd České kardiologické společnosti, 2006, Brno
7. Lindner J, Jansa P, Paleček T, Grus T, Vítková I, Kunstýř J, Rubeš D, Kvasnička J, Aschermann M, Linhart A. **Časný výsledky plicní endarterectomie pacientů s plicní hypertenzí a antifosfolipidovým syndromem.** XV. Sjezd České kardiologické společnosti, 2007, Brno
8. Bláha J, Křemen M, Grus T, Kopecký P, Lipš M, Lindner J, Haluzík M. **Možnosti subkutání monitorace glykémie u pacientů v intenzivní péči.** XIV. Národní kongres KARIM, 2007, Pardubice
9. Grus T, Lindner J, Rohn V, Tošovský J, Vítková I, Grusová G. **Chirurgická léčba ruptury komorového septa u akutního infarktu myokardu.** XVI. Sjezd České kardiologické společnosti, 2008, Brno
10. Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Ambrož D, Grus T, Paleček T, Bláha J, Aschermann M, Tošovský J, Linhart A. **Chirurgická léčba chronické tromboembolické plicní hypertenze, kombinované výkony, indikace, výsledky.** XVI. Sjezd České kardiologické společnosti, 2008, Brno
11. Rohn V, Grus T, Lindner J, Tošovský J, Vítková I, Grusová G. **Ruptura mezikomorového septa – pohled kardiochirurga.** XVI. Sjezd České kardiologické společnosti, 2008, Brno

12. Grus T, Lindner J, Vidim T, Tůmová J, Tošovský J. **Využití Aquacelu Ag v kardiiovaskulární chirurgii.** VI.celostátní mezioborový kongres léčby ran a kožních defektů s mezinárodní účastí. České společnosti pro léčbu rány, 2008, Pardubice
13. Sedlář M, Grus T, Šlais M, Kraus J, Zeman M. **Luxace kolenního kloubu.** III. Pražské traumatologické dny s mezinárodní účastí, Praha, 2008  
Vzdělávací akce ČLK v rámci celoživotního vzdělávání lékařů č. 16078
14. Grus T, Salmay M. **Endoskopický odběr žilních a tepenných štěpů.** II. den kardiiovaskulární chirurgie VFN a 1.LF UK – celostátní kongres, Praha, 2008  
Vzdělávací akce ČLK v rámci celoživotního vzdělávání lékařů č. 18183
15. Grus T, Klika T. **Možnosti chirurgické léčby podkolenní tepny.** PragueAngio 2009 – celostátní angiologický kongres, Praha, 2008  
Vzdělávací akce ČLK v rámci celoživotního vzdělávání lékařů pod č. 18036
16. Grus T, Klika T. **Cystická degenerace adventicie a její chirurgická léčba.** XXXIV. Angiologické dny s mezinárodní účastí - Mezinárodní angiologický kongres, Praha, 2009
17. Grus T, Klika T, Mítáš P, Hrubý J, Semrád M, Lindner J. **Chirurgická léčba syndromu diabetické nohy.** XVI. Pražské chirurgické dny s mezinárodní účastí 2009
18. Semrád M, Táborský J, Lindner J, Tošovský J, Urban T, Mítáš P, Hrubý J, Grus T, Klika T. **Výduť břišní aorty – epidemiologie, diagnostika, chirurgická léčba a dlouhodobé výsledky.**XVI. Pražské chirurgické dny s mezinárodní účastí 2009
19. Hrubý J, Mítáš P, Grus T, Semrád M, Klika T, Lindner J. **Akutní končetinová ischemie, diagnostika a chirurgická léčba.** XVI. Pražské chirurgické dny s mezinárodní účastí 2009
20. Mítáš P, Semrád M, Hrubý J, Grus T, Klika T, Lindner J. **Akutní končetinová ischemie – reperfuze končetiny, predikce kompartment syndromu a jeho léčba.** XVI. Pražské chirurgické dny s mezinárodní účastí 2009
21. Grus T, Lindner J, Tosovsky J. **Surgical and endovascular treatment of aortic dissection.** Sborník abstrakt I. sjezd České společnosti kardiiovaskulární chirurgie. ČR, Brno, 2004
22. Lindner J, Grus T, Vondráček V. **Jaké je současné postavení plicní embolektomie ?** XII.výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2004. Cor et Vasa 2004,46 (S4):50

23. Dytrych V, Bělohávek J, Lindner J, Grus T, Škulec R, Kovárník T, Horák J, Poláček P, Linhart A, Aschermann M. **Subakutní ruptura volné stěny levé komory u nemocného s non-stemi inferolaterálně prezentující se kardiogenním šokem.** XIII. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2005. Cor et Vasa 2005;(S4):16-17
24. Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Paleček T, Heller S, Grus T, Tošovský J, Linhart A, Aschermann M. **Endarterectomie plicnice – chirurgická léčba chronické tromboembolické plicní hypertenze.** XIII. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2005. Cor et Vasa 2005;(S4):61
25. Paleček T, Jansa P, Lindner J, Kunstýř J, Škvařilová M, Heller S, Grus T, Tošovský J, Linhart A, Aschermann M. **Plicní endarterectomie v léčbě chronické tromboembolické plicní hypertenze : Echokardiografické sledování u prvních nemocných operovaných v České republice.** XIII. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2005. Cor et Vasa 2005; (S4):78
26. Grusová G, Paleček T, Jansa P, Lindner J, Grus T, Aschermann M. **Sledování EKG známek hypertrofie pravé komory po plicní endarterectomii.** XIII. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2005. Cor et Vasa 2005; (S4):24
27. Grus T, Lindner J, Šimo J, Tošovský J, Chochola M, Linhart A, Grusová G, Křivánek J. **Výhody kombinované léčby disekce aorty.** XIII. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2005. Cor et Vasa 2005; (S4):23–24
28. Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Grus T, Bláha J. **Program endarterectomie plicnice v České republice.** XIV. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2006. Cor et Vasa 2006; 48(S4):62
29. Grus T, Lindner J, Vik K, Grusová G, Tošovský J. **Je nutný ke každému miniinvasivnímu odběru štěpů pro revaskularizaci endoskop?** XV. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2007. Cor et Vasa 2007; S4:27
30. Lindner J, Jansa P, Paleček T, Grus T, Vítková I, Kunstýř J, Rubeš D, Kvasnička J, Aschermann M, Linhart A. **Časný výsledky plicní endarterectomie pacientů s plicní hypertenzí a antifosfolipidovým syndromem.** XV. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2007. Cor et Vasa 2007;S4:60

31. Grus T, Lindner J, Rohn V, Tošovský J, Mlejnský F, Kubzová K, Grusová G. **Endoskopický odběr štěpů pro aortocoronární bypass.** XVI. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2008. Cor et Vasa 2008;S5:15
32. Jirát S, Klika T, Grus T, Linhart A, Mrázek V. **Cystická degenerace adventicie – vzácné onemocnění popliteální tepny.** XVII. výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 2009

### Citované práce

#### A.

Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Eckhard M, Grus T, Heller S, Paleček T, Linhart A, Aschermann M, Tošovský J. **Naše první zkušenosti s plicní endarterektomií pro chronickou tromboembolickou plicní hypertenzi.** Cor et Vasa, ČR, 0010-8650, 2004; 46(11):552-555

#### Citují:

Sládková Helena- Jansa, Pavel-Aschermann Michael. **Diferenciální diagnostika plicní hypertenze.** Kardiofórum, 2005; 3(1):24-26

#### B.

Grus T, Lindner J, Šimo J. et al.

**Kombinovaná chirurgická a endovaskulární léčba disekce.** I. sjezd ČSKVCH. Sborník abstrakt 2004; 11:158

#### Citují:

Krška Z, Miler I, Výborný J, Horejš J, Šváb J, Čermák S.

**Non-recognized cause of intrathoracic bleeding.** Bratislavské lekárske listy, SR, 0006-9248, 2005; 106(4-5):182-184

#### C.

Lindner J, Jansa P, Kunstyr J, Mayer E, Blaha J, Paleček T, Aschermann M, Grus T, Ambroz D, Tosovský J, Vitkova I. **Implementation of a new programme for the surgical treatment of CTEPH in the Czech Republic-Pulmonary endarterectomy.** Thorac Cardiovasc Surg. 2006 Dec; 54(8):528-31

## Citační ohlas Web of Science

### IMPLEMENTATION OF A NEW PROGRAMME FOR THE SURGICAL TREATMENT OF CTEPH IN THE CZECH REPUBLIC - PULMONARY ENDARTERECTOMY

Lindner J, Jansa P, Kunstyr J, Mayer E, Blaha J, Palecek T, Aschermann M, **Grus T**,  
Ambroz D, Tosovsky J, Vitkova I  
THORACIC AND CARDIOVASCULAR SURGEON 54 (8) 528-531 DEC 2006

1. Pulmonary arterial hypertension - contemporary management strategy  
Jansa P, Ambroz D, Maresova J, Polacek P, Aschermann M, Linhart A  
BRATISLAVA MEDICAL JOURNAL-BRATISLAVSKE LEKARSKE LISTY  
Volume: 110 Issue: 10 Pages: 603-608 Published: 2009
2. Why is pulmonary hypertension so frustrating?  
Kaldararova M. BRATISLAVA MEDICAL JOURNAL-BRATISLAVSKE  
LEKARSKE LISTY Volume: 110 Issue: 9 Pages: 536-543 Published: 2009
3. Palecek T, Jansa P, Ambroz D, Hlubočka Z, Horak J, Skvarilova M, Aschermann  
M, Linhart A. Pulmonary artery pulsatility indexes in differentiating chronic  
pulmonary thromboembolism from pulmonary arterial hypertension  
CURRENT MEDICAL RESEARCH AND OPINION Volume: 23 Pages: S35-  
S41 Supplement: Suppl. 2 Published: 2007.

## Citační ohlas - Scopus

### IMPLEMENTATION OF A NEW PROGRAMME FOR THE SURGICAL TREATMENT OF CTEPH IN THE CZECH REPUBLIC - PULMONARY ENDARTERECTOMY

Lindner J, Jansa P, Kunstyr J, Mayer E, Blaha J, Palecek T, Aschermann M, **Grus T**,  
Vitkova I.  
THORACIC AND CARDIOVASCULAR SURGEON, 54 (8), 2006, pp. 528-531.

1. Contemporary methods in the treatment of chronic pulmonary hypertension |  
[Aktuální možnosti léčby chronické plicní hypertenze]  
Jansa, P, Lindner, J, Ambrož, D, Marešova, J, Poláček, P, Jelínková, L,  
Aschermann, M, Linhart, A. Casopis Lekarů Ceských 148 (2), 2009, pp. 59-64
2. Pulmonary hypertension in an interdisciplinary perspective | [Plicní hypertenze v  
mezioborovém pohledu]  
Jansa, P. Alergie 10 (SUPPL. 1), 2008, pp. 54-58.
3. Pulmonary artery pulsatility indexes in differentiating chronic pulmonary  
thromboembolism from pulmonary arterial hypertension  
Palecek, T, Jansa, P, Ambroz, D, Hlubočka, Z, Horak, J, Skvarilova, M,  
Aschermann, M, Linhart, A. Current Medical Research and Opinion 23 (SUPPL.  
2), 2007, pp. S35-S41

### **Citační ohlas ze sborníku**

KOMBINOVANÁ CHIRURGICKÁ A ENDOVASKULÁRNÍ LÉČBA DISEKCE.

**Grus T**, Lindner J, Šimo J.

Sborník abstrakt I. sjezdu České společnosti kardiovaskulární chirurgie 2004, s. 158.

1. Krška Z, Miler I, Výborný J, Hořejš J, Šváb J, Čermák S.: Non-recognized cause of intrathoracic bleeding. Bratislavské lékařské listy 106(4-5), 2005, 182-184.



## 10 Přílohy

### Příloha 1.....

Lindner J, Šimo J, **Grus T**. A Case Report of an Extra Anatomical Cartico-iliac Bypass. Eur Jour BASF Endovasc Surg Extra. 9, 2005, 16-18. **IF = 1,774**

### Příloha 2.....

Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Mayer E, Bláha J, Paleřek T, Aschermann M, **Grus T**, Ambrož D, Tošovský T, Vítková I. Implementation of a New Programme for the Surgical Treatment of CTEPH in the Czech Republic – Pulmonary Endarterectomy. Thoracic and Cardiovascular Surgeon 54(8), 2006, 528-531. **IF = 0,814**

### Příloha 3.....

**Grus T**, Lindner J, Vik K, Tošovský J, Matěcha J, Netřebská H, Tůma L, Adamec J. Particle Image Velocimetry Measurement in the Model of Vascular Anastomosis. Prague Medical Report 108(1), 2007, 75-86.

### Příloha 4.....

Tikhonoffa V, Staessenb J, Kuznetsovab T, Thijsb L, Hasenkampe S, B“Sumere V, Stolarzf K, Seidlerová J, Filipovský J, Nikotine Y, Peleška J, Kawecka-Jaszczf K, Casigliaa E, Brand-Herrmanni S, Brande E .

The following investigators participated in the EPOGH Study.

Belgium (Leuven): Balkestein E, Celis H, Den E, Hond, Tabard R, Gąsowski J, .

Kuznetsova T, Li Y, Nawrot T, Plusquin M, Thijs L, Staessen A, Wang JG;

Bulgaria (Sofia): Nachev C, Postadjian A, Prokopova E, Shipkovenska E, Vitljanova K;

**Czech Republic (Pilsen and Prague):** Beran O, Filipovský J, Goláň L, **Grus T**, Grusová G, Jáchymová, Seidlerová J, Marečková Z, Peleška J, Svobodová V, Tichá M,

Italy (Padua): Casiglia E, Schiavon L, Tikhonoff V;

Poland (Cracow): Adamkiewicz-Piejko A, Cwynar M, Grodzicki T, Kawecka-Jaszcz K, Lubaszewski W, Olszanecka A, Stolarz K, Wizner B, Wojciechowska W, Zyczkowska J;

Romania (Bucharest): Babeanu S, Jianu D, Sandu D, State D, urea M;

Russian Federation (Novosibirsk): Kuznetsova T, Malyutina S, Nikotin Y, Pello E, Ryabikov M, Voevoda M.

Project coordinator Staessen JA Scientific coordinator. SAH Gene Variants Revisited in the European Project on Genes in Hypertension ( EPOGH). 26 (2),2008, 244 – 250. **IF = 4,364**

**Příloha 5**.....

**Grus T**, Lindner J, Vidim T, Tošovský J, Matěcha J, Rohn V, Lambert L, Grusová G. The Anastomosis Angle Is a Key to Improved long – Term Patency of Proximal femoropopliteal bypass. Annals of Vascular Surgery 23(5), 2009, 598-605. **IF = 1,262**

## SHORT REPORT

## A Case Report of an Extra Anatomical Carotico-iliac Bypass

J. Lindner,\* J. Šimo and T. Grus

Department of Cardiovascular Surgery, 1st Medical Faculty of Charles University,  
General University Hospital, Prague, Czech Republic

*We describe an extra-anatomical bypass from the right common carotid artery to a patent ilio-femoral crossover bypass in a high risk patient with an occluded aorta, bilateral subclavian artery disease, and a critical ischaemic left leg. An occluded right internal carotid artery allowed us to use the right common carotid artery as a donor vessel for carotico-iliac bypass without risking steal syndrome.*

*Keywords: Extra-anatomical reconstruction; Vascular surgery; Case report; Caroticoiliac bypass.*

**Introduction**

Controversy still exists about extra-anatomical reconstructions since their first introduction 50 years ago.<sup>1–5</sup> Extra-anatomical reconstructions are used for the treatment of infected grafts or aneurysms or in high-risk patients.<sup>5,6</sup> We report a non-traditional extra-anatomical bypass reconstruction as the solution for critical ischemia of the lower limb in a high risk patient.

**Case Report**

A 64-year-old female patient, with history of ischemic heart disease, hypertension, hyperuricemia, embolus to the left central retinal artery, left inguinal hernia repair had a left aortofemoral bypass in 1980. She subsequently had a left to right ilio-femoral crossover bypass for right leg ischemia.

In 1993 she had a right hemispheric stroke which

caused a left hemiplegia. However, after rehabilitation she was able to walk with a stick.

In April 1996 she presented with rest pain and tissue loss of her left leg and no femoral pulses on both sides. Intravenous DSA angiography showed an occluded infra renal aorta (Fig. 1), a patent crossover bypass and an occluded aortofemoral bypass (Fig. 2). The angiogram also showed occlusion of the right subclavian artery, a stenosis of the left subclavian artery, and an occlusion of the right internal carotid artery. We verified this by MRI.

The operative risk of high femoral amputation was considered high, with no hope for successful rehabilitation. The occlusion of right internal carotid artery made a steal syndrome unlikely. We therefore, elected to do an extra-anatomical prosthetic bypass from the right common carotid artery to the patent crossover iliofemoral bypass in this obese female patient with renal failure, ischemic heart disease with left-ventricular failure and a critical ischaemic left leg (Fig. 2). A supraclavicular incision, similar to one used for carotid-subclavian bypass, was used for access to the common carotid artery. The bypass graft was positioned dorsally to the right jugular vein. The proximal anastomosis was an end-to-side of an 8 mm ringed Goretex<sup>®</sup> graft to the right common carotid artery. The iliofemoral crossover bypass was approached through

\* Corresponding author. Dr Jaroslav Lindner, MD, PhD, Head of the Department—Associate Professor Jan Tošovský, Department of Cardiovascular Surgery, 1.LF UK, VFN, U Nemocnice 2, 12808 Prague, Czech Republic.  
E-mail address: lindner@seznam.cz

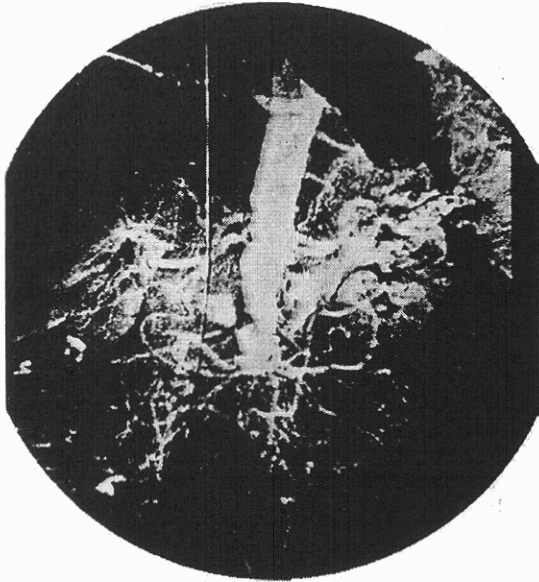


Fig. 1. Occluded infrarenal aorta.

an oblique incision above the right inguinal ligament and the distal end of Goretex® graft was sutured to the older, but still patent crossover bypass. Surgical incisions of the patient healed well as did the defect in the left leg.

An intravenous DSA 1 year later showed a patent bypass graft (Fig. 3) with contrast outflow into the femoral arteries of both legs (Fig. 4).

The bypass was still patent after 3 years follow up.

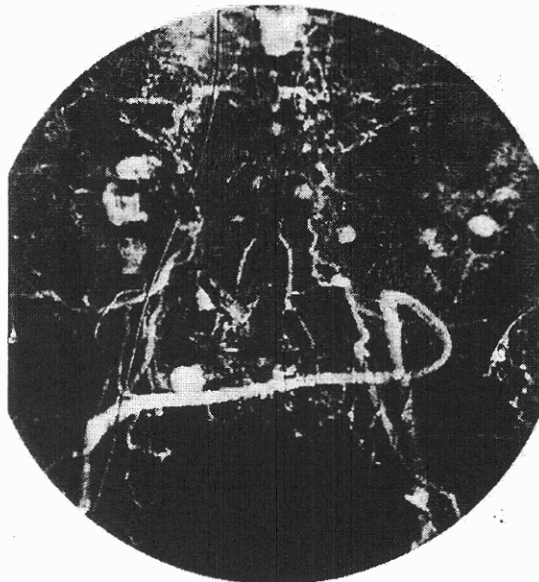


Fig. 2. Patent iliofemoral cross over bypass.

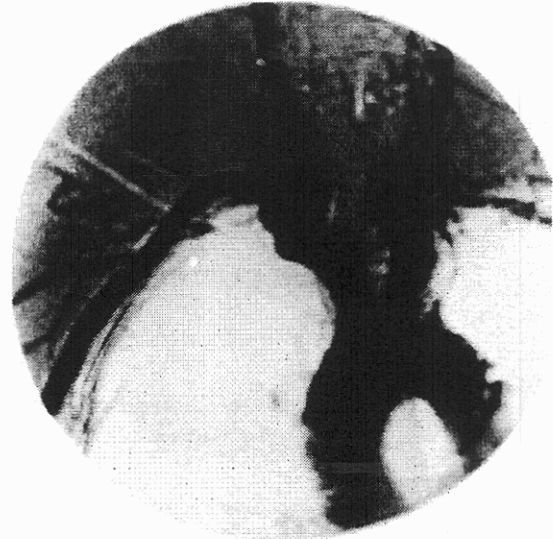


Fig. 3. Branches of aortic arch.

The patient had no claudication but had a limited mobility due to her stroke in 1993.

### Discussion

We believe that extra-anatomical bypass procedures will gain a wider application with improvement of uncompressible vascular grafts in combination with improvements in local and regional anaesthesia.<sup>6</sup> We report a non-traditional solution for a high-risk patient with good immediate result and patency of the bypass 3 years later. The occluded right internal carotid artery in this patient allowed us to use the right common



Fig. 4. Patent caroticoiliac extra-anatomical bypass one year after surgery.

carotid artery as a donor vessel for caroticoiliac bypass without risking steal syndrome.

### References

- 1 BLAISDELL FW *et al.* Axilofemoral and femorofemoral bypass: history and evolution of technique. In: GREENHALGH R, ed. *Extra-anatomic and secondary arterial reconstruction*. Pitman, 1982:84–95.
- 2 KOŘÍSTEK V, ČERNÝ J. Extra-anatomical bypasses in reconstructive arterial surgery. *Rozhledy v chirurgii* 1985;64(5):350–357.
- 3 RUTHEFORD RB, CRAWFORD ES *et al.* Newer developments of extra-anatomic bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;4:1106–1109.
- 4 KYRRIADES C, KAN Y, KERLE M, CHESHIRE NJ, MANSFIELD AO, WOLFE JHN. 11 Years experience with anatomical and extra-anatomical repair of mycotic aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;27(6):585–589.
- 5 SEMRÁD M, LINDNER J, MILER I, BARTOŠ J, VANĚK I. Extra-anatomical reconstructions in pelvic region as an alternative for anatomical reconstructions. *Praktická flebologie V*. 1996;3–4:113–114.
- 6 BARTOŠ J, STRÁTESKÝ M, VANĚK I. Výsledky operací tepen zásobujících mozek. (Results of operations of brain supplying arteries). *Cor et Vasa* 1998;1:24–26.

Accepted 18 January 2005

## Implementation of a New Programme for the Surgical Treatment of CTEPH in the Czech Republic – Pulmonary Endarterectomy

J. Lindner<sup>1</sup>, P. Jansa<sup>2</sup>  
 J. Kunstýr<sup>3</sup>, E. Mayer<sup>4</sup>  
 J. Blaha<sup>3</sup>, T. Paleček<sup>2</sup>  
 M. Aschermann<sup>2</sup>, T. Grus<sup>1</sup>  
 D. Ambroz<sup>2</sup>, J. Tosovský<sup>1</sup>  
 I. Vitkova<sup>5</sup>

### Abstract

**Background:** Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) in indicated cases can be successfully cured by endarterectomy of pulmonary arteries (PEA). Symptomatic nontreated CTEPH has a very poor prognosis; the five-year survival rate in patients with a medium pressure of over 50 mmHg in the main pulmonary artery is as low as 10%. This kind of operation was previously not available in the Czech Republic. In 2004, a PEA programme was launched at the Cardiocentre of the General Teaching Hospital in Prague in co-operation with the institution of a well known specialist in this field (Prof. Mayer, Johannes Gutenberg University in Mainz, Germany). **Patients:** Between September 2004 and January 2006, 21 patients (14 males and 7 females; average age 48 years) with CTEPH were operated on, after a complex investigation. The mean pressure in the main pulmonary artery in these patients was 54.8 mmHg; 7 patients suffered from coagulopathy. **Method:** The new surgical technique, modifications of which are used at most facilities, was developed by Jamieson and Daily at the University of California in San Diego: an arrest of circulation in deep hypothermia to protect the brain is vital for the visualisation of distal branches of

the pulmonary artery. **Results:** 21 patients were operated on with a mortality of 4.76% (1 patient died). Other surgeries performed were suture of a defect of the atrial septum (three times), aortocoronary bypass (three times), and cryoablation of the right atrium for flutter (once). The average circulatory arrest time was 42 minutes, the average total pumping time was 331 minutes, and the average total duration of an operation was 450 minutes; the average duration of mechanical ventilation was 58 hours. Within one month there was a considerable improvement or normalisation of haemodynamic parameters and an increase in the average walking distance on the six-minute walking test by 132 metres. **Conclusions:** PEA is a curative method for patients with CTEPH with a surgically accessible obstruction of the pulmonary artery. Centralisation of the care of these patients is a rational necessity, as this enables the centre to gain a maximum of experience with this complicated diagnosis and treatment. Multidisciplinary co-operation is a *sine qua non* for success in these programmes.

### Key words

Cardiovascular surgery · thoracic surgery · pulmonary endarterectomy · pulmonary hypertension

### Affiliation

- <sup>1</sup> 2nd Surgical Department, Clinical Department of Cardiovascular Surgery, General Teaching Hospital and the First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic
- <sup>2</sup> 2nd Medical Department, Clinical Department of Cardiology and Angiology, General Teaching Hospital and the First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic
- <sup>3</sup> Department of Anaesthesiology, Resuscitation and Intensive Medicine, General Teaching Hospital and the First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic
- <sup>4</sup> Department of Cardiothoracic and Vascular Surgery, Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany
- <sup>5</sup> Department of Pathology, General Teaching Hospital and the First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

### Correspondence

Prof. Jaroslav Lindner · 2nd Surgical Department – Clinical Department of Cardiovascular Surgery · General Teaching Hospital and the First Faculty of Medicine · Charles University · U nemocnice 2 · 128 08 Prague 2 · Czech Republic · Phone: + 42 02 24 96 27 46 · Fax: + 42 02 24 92 26 95 · E-mail: lindner@seznam.cz

Received April 22, 2006

### Bibliography

Thorac Cardiovasc Surg 2006; 54: 528–531 © Georg Thieme Verlag KG · Stuttgart · New York · DOI 10.1055/s-2006-924465 · ISSN 0171-6425



Fig. 1 Eccentric intimal fibrosis resulting from organisation of a thrombembolus in the muscular pulmonary artery (van Gieson and resorcin fuchsin).



Fig. 2 Histological picture of endarterium from the periphery of the pulmonary artery. Recanalisation of the obliterating lesion. Multiple luminal channels and bronchopulmonary collaterals (van Gieson and resorcin-fuchsin, 40 ×).

## Introduction

Endarterectomy of the pulmonary artery (PEA) is a potential curative method of treatment for selected patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH). For patients with a mean pressure of over 50 mmHg in the main pulmonary artery, the five-year survival prognosis without this operation is 10% [1].

CTEPH is a relatively rare condition which develops in patients after repeated embolisation, when a complete lysis of the thromboembolus does not occur (most frequently due to inadequate treatment). Through fibrotic re-arrangement of residual thrombi (Fig. 1), it stenoses and obstructs branches of the pulmonary artery, which causes an increase in pressure in the pulmonary artery and an increase in pulmonary vascular resistance (PVR) and gradually develops into right heart failure [2, 3]. The prognosis in patients with CTEPH without surgical treatment is poor, and survival depends on the degree of pulmonary hypertension [4]. The exact incidence of the disease is unknown, but we assume that CTEPH develops in as many as 4% of cases, as reported in Pengo's study [5]. This is ten times higher than earlier estimations [6]. The essential prerequisite for a successful PEA programme is multidisciplinary cooperation, which leads to the establishment of an accurate diagnosis, a correct selection of patients, precise surgical technique, and high-quality, scrupulous intensive post-operative care.

## Method and Patients

The operation consists in restoring pulmonary perfusion in such a way that will prevent secondary arteriopathy of pulmonary arteries. It has been proven [16] that due to improved haemodynamics after an endarterectomy, there was a regression of the changes within the pulmonary arteries. The new surgical technique, used with modifications at most institutions, was developed by Daily and Jamieson from San Diego [7, 10]. Our modifica-

tion is based on our co-operation with Prof. E. Mayer from Johannes Gutenberg University in Mainz and his wealth of experience. In rare cases, the CTEPH is a bilateral condition and bilateral surgery is then required. The operation should not be confused with an embolectomy. A true endarterectomy involves the removal of obstructive fibrous material from the pulmonary arteries (Fig. 2).

Tricuspid insufficiency usually regresses following a successful PEA. Plastic surgery of the tricuspid valve is, therefore, not indicated nor performed. Jamieson [11] has suggested a perioperative classification of CTEPH into three groups according to the location of the obstruction: type I – central obstruction, type II – prevalently lobar and segmental lesion, and type III – peripheral segmental and subsegmental lesion. In our sample we operated on 13 type II patients, 6 type III patients, and 2 type I patients. The accessibility of peripheral lesions depends on the experience of the surgical team.

The average total duration of the hypothermic circulatory arrest during the operation was 42 minutes. The head was cooled topically with ice bags whilst protecting the eyes, ears, and nose against frostbite. Via the extracorporeal circulation (ECC), methylprednisolone (30 mg/kg), thiopentone (20 mg/kg), and phenytoin (15 mg/kg) were administered. Extracorporeal circulation was not stopped until bispectral analysis showed a zero reading and oxygen saturation in the blood taken from the jugular bulb was equal to 95% or higher.

A MEDOS HILITE 7000LT oxygenator (Stolberg, Germany) was used for the extracorporeal circulation. Heparin (3 mg/kg) was administered with a target activated clotting time (ACT) of 480 s as described [12]. St. Thomas cardioplegic crystalloid solution was used for protection of the heart. The Cooling Jacket (CardoMed, Ontario, Canada) was used for topical cooling of the heart.

Table 1 Early results of PEA and cardiosurgical procedures done with PEA

	Mean $\pm$ SD
Circulatory arrest time (min)	42.2 $\pm$ 10.89
Extracorporeal circulation time (min)	331.2 $\pm$ 45.73
Total duration of operation (min)	445.6 $\pm$ 47.51
Duration of mechanical ventilation (h)	58.1 $\pm$ 54.92
Additional cardiosurgical procedures	
- Suture of atrial septal defect	3
- CABG	3
- Cryoablation of right atrium	1

Table 2 Haemodynamic results early after operation

	Preoperative	Postoperative (24 h)	p value (t-test)
mPAP (mmHg)	54.88 $\pm$ 9.42	22.28 $\pm$ 6.69	< 0.001
CI (l/min/m <sup>2</sup> )	1.9 $\pm$ 0.47	2.96 $\pm$ 0.42	< 0.001
PVR (dynes $\cdot$ s <sup>-1</sup> $\cdot$ cm <sup>-5</sup> )	970.2 $\pm$ 302.35	150.6 $\pm$ 86.47	< 0.001

mPAP: mean pressure in the main pulmonary artery; CI: cardiac index; PVR: pulmonary vascular resistance

## Results

Between September 2004 and January 2006, we operated on 21 patients (14 males and 7 females; average age, 48 years). Their mean pressure in the main pulmonary artery (mPAP) was 54.8 mmHG, and mean PVR was 970 dynes  $\cdot$  s<sup>-1</sup>  $\cdot$  cm<sup>-5</sup>. Seven patients had coagulopathy. These were highly symptomatic patients; using the NYHA classification, 15 of them classified as NYHA III and 6 as NYHA IV.

Our PEA operation results and other cardiosurgical procedures performed on our group of patients concurrently with PEA are shown in Table 1. The average duration of circulatory arrest was 42 minutes; the duration of artificial lung ventilation was between 16 and 212 hours. There was a significant decrease in mPAP, as well, as PVR in all patients, and at times an increase of the cardiac output, as shown in Table 2. The degree of tricuspid regurgitation decreased and the patients' ECHO findings improved, as shown in Table 3. Treatment of these grave conditions is often accompanied by a number of specific complications, which we also encountered and had to overcome, as summarised in Table 4. Early mortality in our set of patients was 4.76%.

Following surgery, patients were transferred back to the respective medical department for further treatment and continual observation. The early results showed a considerable improvement of symptoms; patients preoperatively classified as NYHA III and IV became NYHA II or even I (details given in Fig. 3). Furthermore,

Table 3 Early ECHO results after PEA

	Preoperative	1 month after operation	p value
RVEDD (mm)	48 $\pm$ 6	31 $\pm$ 5	< 0.001
LVEDD (mm)	36 $\pm$ 6	51 $\pm$ 3	< 0.001
RVEDA (cm <sup>2</sup> )	39 $\pm$ 5	25 $\pm$ 5	< 0.001
RVESA (cm <sup>2</sup> )	30 $\pm$ 6	16 $\pm$ 5	< 0.001
RVFAC (%)	22 $\pm$ 8	34 $\pm$ 12	< 0.001
RVMPI	0.78 $\pm$ 0.36	0.25 $\pm$ 0.06	< 0.001
CI (l/min/m <sup>2</sup> )	1.99 $\pm$ 0.49	3.43 $\pm$ 0.71	< 0.001
LVEF (%)	64 $\pm$ 6	65 $\pm$ 5	n.s.

RVEDD: right ventricular end-diastolic diameter; LVEDD: left ventricular end-diastolic diameter; RVEDA: right ventricular end-diastolic area; RVESA: right ventricular end-systolic area; RVFAC: right ventricular fractional area change; RVMPI: right ventricular myocardial performance index; CI: cardiac index; LVEF: left ventricular ejection fraction

Table 4 Complications of PEA and mortality (9/2004–1/2006)

Mortality (n = 21)	1 (4.76%)
<b>Complications</b>	
- reperfusion oedema	4
- pericardial effusion	7
- delirium	2
- bleeding (into the lungs)	2
- wound infection	1
- bronchopneumonia	4
- renal insufficiency	3

there was an improvement in the six-minute walking test (6MWT), which proved to be a very useful parameter in monitoring these patients (6MWT results are given in Fig. 4).

## Discussion

According to reviews of the literature, mortality rates after PEA range from 5 to 24% [13]. It has been clearly demonstrated that centres with more experience in diagnosis, surgical techniques, and postoperative care, in which there is good interdisciplinary cooperation and where the highest numbers of such operations are undertaken, have better results with lower levels of mortality and morbidity.

The most serious complication following the operation is persistent pulmonary hypertension due to inadequate endarterectomy or significant secondary vasculopathy with a reperfusion oedema in the endarterectomized parts of the lungs [13]. Apart from protective ventilation, prevention of reperfusion damage to the lungs includes maintaining the negative crystalloid balance and avoiding the enhancement of cardiac output with unnecessary



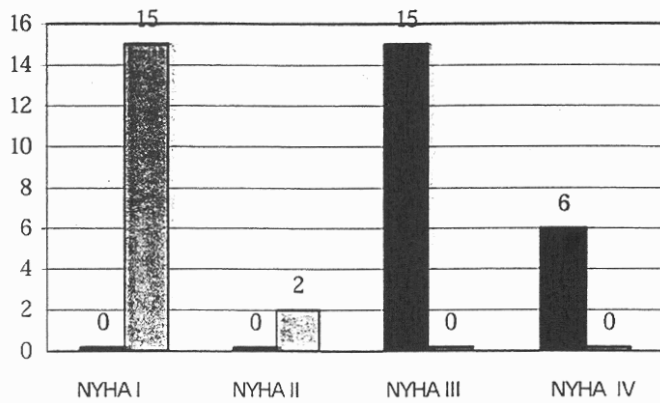


Fig. 3 Early results - NYHA classification.  
 ■ = before operation, ▨ = after operation.

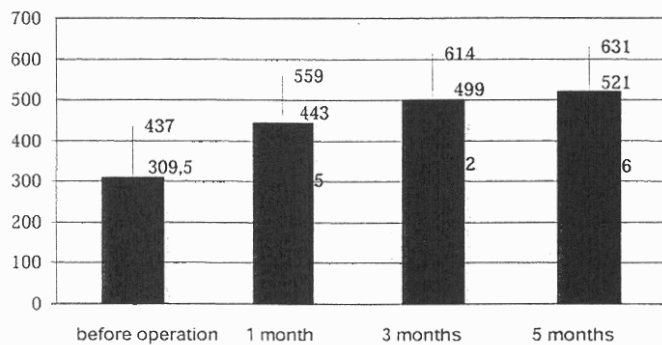


Fig. 4 Results of six-minute walking test (6MWT).

inotrope administration. Reocclusion is prevented with early prophylaxis, i.e., continuous administration of heparin 4–8 hours after the operation. Once the drains are removed on the 5th or 6th postoperative day, the patients are switched to oral anticoagulant treatment with warfarin. Excessive pericardial effusion production is prevented by early (from 1st postoperative day) indometacin administration. A caval filter is not inserted in all patients before PEA; this is only indicated in patients at high risk and with coagulopathy. In three cases, the filter had already been inserted in the patient during the course of the disease, and in one patient we inserted it preoperatively.

## Conclusions

PEA is an effective and potentially curative method for patients with CTEPH whose prognosis would otherwise be very poor. After its introduction in the Czech Republic, it has become available to scores of patients every year, both from the Czech Republic and other countries of Eastern Europe.

Although control studies have not been performed, the results of PEA are very convincing. As shown by our early results and confirmed in large numbers of patients [14, 15], there is an improvement in the quality of life, the function of the right heart and the NYHA functional class. Other studies also provide evidence of a

long-term decrease in pressure in the pulmonary artery and a considerable decrease in PVR [14]. Cardiac output and saturation return to normal, and tricuspid insufficiency improves considerably within a few days after a successful operation. Long-term results following PEA are good, with a five-year survival rate of 75–80%, which is considerably better than after treatment with medication or a transplant [10]. Moreover, 60–65% of patients who were previously invalids before the operation are able to resume an active, working life. This is another reason why, despite the expensive postoperative care, in the long term PEA is still more favourable from an economic point of view than any other alternative. Concentration of these patients is an obvious requirement.

## References

- Riedel M, Stanek V, Widimsky J, Přerovský I. Long term follow-up of patients with pulmonary embolism: late prognosis and evolution of hemodynamic and respiratory data. *Chest* 1982; 81: 151–158
- Jamieson SW, Kapelanski DP, Sakakibara N, Manecke GR, Thistlethwaite PA, Kerr KM, Channick RN, Fedullo PF, Auger WR. Pulmonary endarterectomy: Experience and lessons learned in 1500 cases. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: 1457–1464
- Moser KM, Auger WR, Fedullo PF. Chronic major-vessel thromboembolic pulmonary hypertension. *Circul* 1990; 81: 1735–1743
- Lewczuk J, Pisyko P, Jagas J et al. Prognostic factor in medically treated patients with chronic pulmonary embolism. *Chest* 2001; 119: 818–823
- Pengo V, Lensing A, Prins M, Marchiori A, Davidson B, Tiozzo F, Albanese P, Biasiolo A, Pegoraro C, Iliceto S, Prandoni P. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2004; 350: 2257–2264
- Rich S, Levitsky S, Brundage BH. Pulmonary hypertension from chronic thromboembolism. *Ann Intern Med* 1988; 108: 425–434
- Jamieson SW, Kapelanski DP. Pulmonary endarterectomy. *Curr Probl Surg* 2000; 37: 165–252
- Mayer E, Kramm T, Guth S, Kreitner KF, Eberle B, Oelert H. Pulmonary thromboendarterectomy. *Eur Respir Mon* 2003; 26: 47–61
- Klepetko W, Mayer E, Sandoval J et al. Interventional and surgical modalities of treatment for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 735–805
- Daily PO, Dembitsky WP, Peterson KL, Moser KM. Modification of techniques and early results of pulmonary thromboendarterectomy for chronic pulmonary embolism. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93: 221–233
- Thistlethwaite PA, Mo M, Madani MM et al. Operative classification of thromboembolic disease determines outcome after pulmonary endarterectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124: 1203–1211
- Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Mayer E, Grus T, Heller S, Paleček T, Linhart A, Ascherman M, Tošovský J. Naše první zkušenosti s plicní endarterektomií pro chronickou tromboembolickou plicní hypertenzi (Our first experience of pulmonary endarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension). *Cor Vasa* 2004; 46: 522–555
- Fedullo PF, Augre WR, Kerr KM, Rubin LJ. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2001; 345: 1465–1472
- Mayer E, Dahm M, Hake U et al. Mid-term results of pulmonary thromboendarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1788–1792
- Archibald CJ, Auger WR, Fedullo PF et al. Long-term outcome after pulmonary thromboendarterectomy. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 160: 523–528
- Fadel E, Michel RP, Eddaahibi S et al. Regression of postobstructive vasculopathy after revascularization of chronically obstructed pulmonary artery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127: 1009–1017

# Particle Image Velocimetry Measurement in the Model of Vascular Anastomosis

Grus T.<sup>1</sup>, Lindner J.<sup>1</sup>, Vik K.<sup>1</sup>, Tošovský J.<sup>1</sup>, Matěcha J.<sup>2</sup>,  
Netřebská H.<sup>2</sup>, Tůma J.<sup>2</sup>, Adamec J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Second Surgical Department – Clinical Department of Cardiovascular Surgery of the First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, and General Teaching Hospital, Czech Republic;

<sup>2</sup>Department of Fluid Dynamics and Power Engineering, Czech Technical University in Prague, Czech Republic

Received January 26, 2007; Accepted February 14, 2007.

**Key words:** Neointimal hyperplasia – Vascular anastomosis – Particle image velocimetry – Wall shear stress – Flow pattern – 3D blood flow simulation – Computational fluid dynamics

*This research has been supported by grant of GA ČR 101/05/0675.*

**Mailing Address:** Tomáš Grus, MD., Second Surgical Department of Cardiovascular Surgery, U Nemocnice 2, 128 00 Prague 2, Czech Republic, e-mail: tgrus@seznam.cz

**Abstract:** Neointimal hyperplasia is the most common complication of all forms of arterial reconstructions. This response of the vascular wall to injury is influenced by many factors, especially, but not limited to, by the hemodynamic profile in the area of vascular anastomosis and in its close proximity. To eliminate this negative influence of hemodynamics on progression of neointimal hyperplasia, we tried to develop anastomosis with optimal hemodynamic parameters. In our experimental study we used Particle Image Velocimetry measurement and 3D blood flow simulation for studying flow characteristics for different length and angles of anastomoses. Based on our experimental studies and numerical simulations we believe that anastomosis with smaller angle demonstrates better hemodynamic parameters, optimal angle being less than 30 dg. Length of anastomosis in this smaller angle anastomosis is app. 2–2.5 of native vessel diameter.

### Introduction

Numerous bypass grafts are implanted annually worldwide to relieve coronary arterial obstruction. However, up to 25% of the grafts fail by the end of first year and up to 50% of the grafts fail by the end of first decade [1, 2]. The principal cause of graft failure is stenosis secondary to intimal hyperplasia. There is a well known relationship between vessel wall biology and the local flow parameters, with wall shear stress (WSS) being one of the most influential [3, 4, 5, 6, 7].

In spite of the fact that there is no definite opinion on how WSS values or WSS distribution influence the development of neointimal hyperplasia, it is generally assumed that these values and distribution should not differ from physiological ones.

The research of hemodynamics in the bypass connection is carried out both *in vivo* and *in vitro*. The *in vivo* studies present results from the experiments with laboratory animals [8], or present long-term patient follow-ups of restenosis or describe flow characteristics in anastomosis [9, 10]. The studies presenting *in vivo* measurements study the influence of geometry of anastomosis on flow characteristics (i.e. on WSS [10, 11, 12]), deal with the comparison of end-to-side and end-to-end anastomosis [13] or secondary flow in the distal part of bypass [14].

Several *in vitro* studies investigate the influence of hemodynamics on the progression of (vascular diseases). The effect of different characteristics such as angle of anastomosis [15, 16, 17], symmetry of anastomosis [18], shape of anastomosis [19], pulse shape and inlet velocity profile shape are being investigated. Authors correlate diseases with different flow characteristics by measuring with pressure magnitude, shear stress magnitude [18], turbulence intensity and flow rate ratio [21, 22].

*In vitro* hemodynamic flow velocity measurements have been performed using Laser Doppler Anemometry (LDA) [20, 24], Particle Image Velocimetry (PIV) [25] and Ultrasonic Velocity Profiling (UVP) [18, 26].

*In vitro* research is also being performed by numerical simulation, using computational fluid dynamics (CFD) or 3D blood flow simulation [27, 28, 29, 30, 31]. This new progressive CFD method of computation allows more precise approximation both to the reality and to the experiment and also allows to obtain information in parts of experimental model where it is difficult to insert the measurement probe or in case when obtaining complex information about the flow would increase the number of necessary measurements.

The objective of our long-term project is to find the optimal shape of the end-to-side anastomosis. The negative impact of flow dynamics on the vascular walls and blood can be minimized, therefore reducing the risk of bypass graft failure. This study is based on the results of our previous experiments *in vitro* we used the laser doppler anemometry (LDA) method to analyze unsteady flow [32] and particle image velocimetry (PIV) method for investigation of flow in cardiovascular models [14, 21]. The influence of the angle of end-to-side anastomosis on flow field characteristics was investigated in different flow rates both in native arteries and bypass grafts.

### Materials and Methods

The vessel anastomosis (Figure 1) for vessel diameter from  $d=4$  to 6 mm, blood kinematics viscosity  $\nu = 4 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  and flow rate from  $Q = 500 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$  to  $1000 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$  was modelled. The similitude theory used for blood flow model determines conditions when the fluid flow in anastomosis model is physically similar to blood flow in vessel anastomosis. The similitude dictates accord of dimensionless numbers. The Reynolds number ( $Re = vd/\nu$ ), where  $v$  is average velocity,  $d$  is diameter of tube and  $\nu$  is kinematics viscosity, is used in our case of stationary flow. The range of dimensionless Reynolds number is from  $Re = 500$  to 1400 for our case. The set of experimental and numerical models were created for these flow parameters. The models had graft and host artery diameter  $d = 10 \text{ mm}$  with different anastomosis angle ( $\alpha = 20^\circ, 30^\circ, 45^\circ, 60^\circ$  and  $90^\circ$ ).

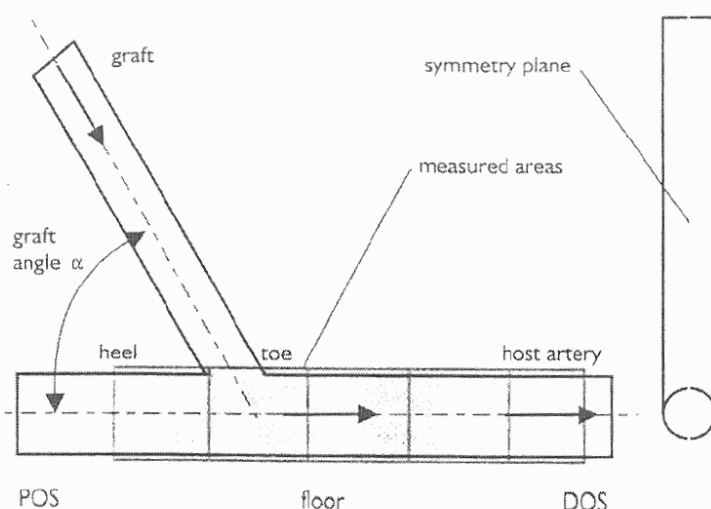


Figure 1 – Scheme of the bypass model for measurement by PIV method. In the picture the parts of bypass are illustrated: the symmetry plane where the PIV measurement was carried out, the measured areas, the areas of proximal outlet segment (POS) and distal outlet segment (DOS).

### Experimental equipment

The experimental equipment (Figure 2) for visualization and measurement by PIV method in symmetry plane of bypass junction for steady conditions was made. The liquid was pumped into a tank with overflow to create a constant pressure gradient. The liquid passed from the tank through the first ultrasound flow meter and through a valve, which could change total flow rate. Fluid then continued into the tube simulating the native artery and then into the model of bypass anastomosis. The second ultrasound flow meter and valve were placed in the tube simulating the bypass graft and it allowed a controlled flow rate between native artery and graft and to simulate different rate of stenosis.

### Visualization

The glass models were made for visualization. Water was used as a working fluid. The silver covered glass sphere particles (S-HGS  $10\mu\text{m}$ ) were added into water as seeding particles. These were illuminated with red laser diode with wave length 650 nm. The beam was conducted through the cylindrical lens which created the light sheet. Particles added into fluid were scanned by camera Lumenera Lu175 (Frame Rate 15 fps at  $1280\times 1024$ , 60 fps at  $640\times 480$ ). Visualization was carried out for flow regimes corresponding with Re 500 and 1 400 in symmetry plane and in parallel planes.

### PIV measurement

The principle of PIV method is measuring the movement of the particles, which are added to the working fluid, during the known time interval. The PIV system

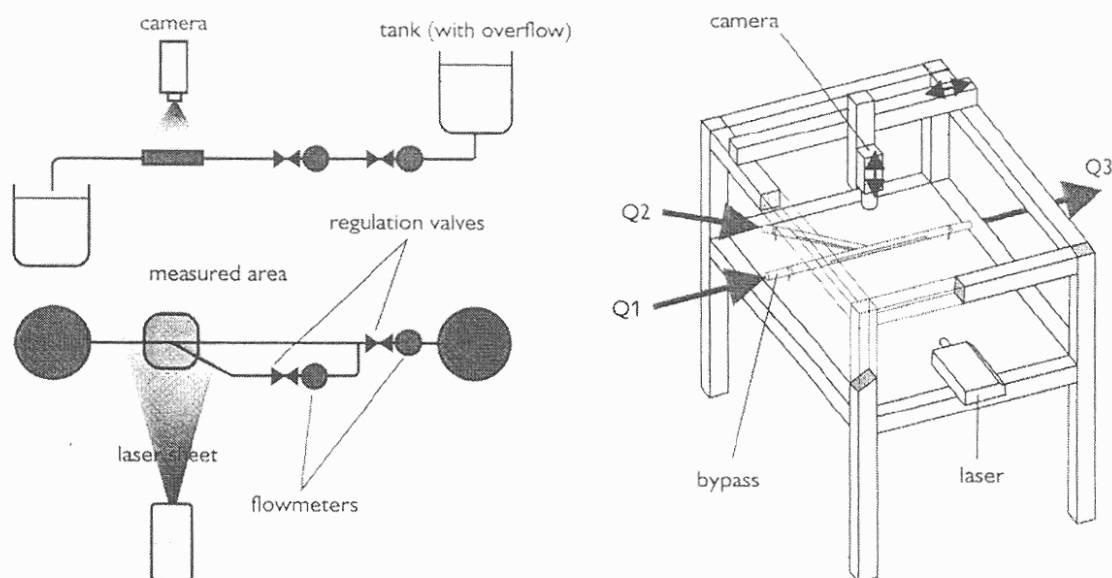


Figure 2 – Left: Experimental equipment for visualization and flow fields measurement by PIV. Right: Scheme of measuring place with fixed model.  $Q_1$ ,  $Q_2$ ,  $Q_3$  are flow rates in different parts of the model. Laser and camera are placed on the sliding equipments, which enabled illumination and taking photos of precisely determined place.

from Dantec Dynamics which comprises these components: a pair of cameras Dantec HiSense, 1 024k × 1 280k pixel CCD, frequency 4.5 Hz for double frame mode and 9 Hz for single frame mode; a pair of pulsed lasers Nd:YAG New Wave Gemini 15 Hz–120 mJ, with optics; PIV processor Dantec FlowMap 1500, 2 × 1 Gb buffer was used.

The bypass models were made from plexiglas for PIV measurements. Solution of sodium-iodine (58% NaI,  $\rho = 1730 \text{ kg/m}^3$ ,  $\eta = 0,00254 \text{ Ns/m}^2$ ,  $t = 24^\circ\text{C}$ ) was used as a working fluid. NaI solution was used because its refractive index is the same as the refractive index of plexiglas and thus the optical distortions between model and working fluid were minimized. Fluorescent particles with diameter 1–20  $\mu\text{m}$  were used as seeding particles. This type of particles was used because it allows filtering reflexes from laser in the boundary of model and liquid. If these particles are illuminated with ND-YAG laser ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ ) and if the screen for the camera (which transmits only the light with the wave length higher than  $\lambda = 580 \text{ nm}$ ) is used then it is possible to scan only the light emitted from the particles and thus to filter out the reflections.

The flow field was measured in symmetry plane of the model for steady conditions ( $Re = 500; 1400$ ). Six areas (Figure 1) were measured along the native artery (length of measured area was approximately 60 mm). The instantaneous velocity fields and time-averaged velocity fields with velocity fluctuations were evaluated. The velocity gradients near the wall were evaluated [33]. These gradients multiplied with working fluid dynamic viscosity correspond with wall shear stress. The post processing in PIV measurement is very important. Using correct post processing enables removal of signal noise from the background and reflection generated by wall and thus increases the accuracy of measurement [34, 35].

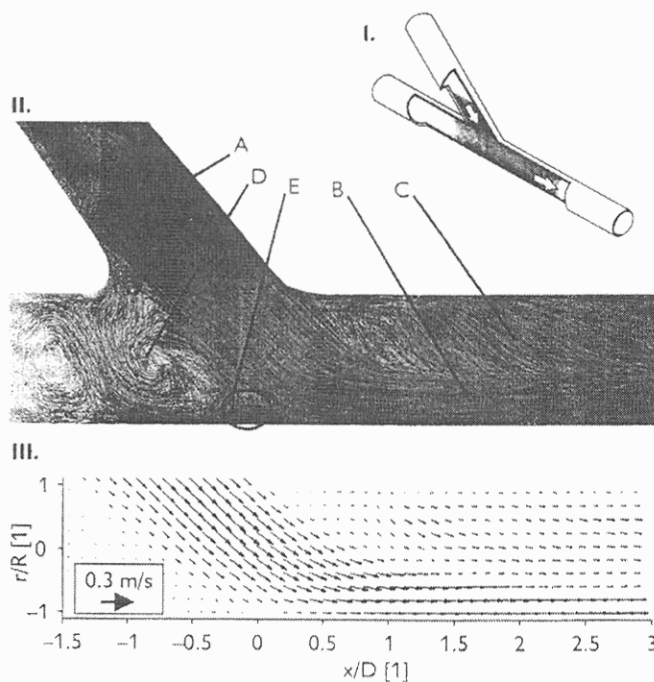


Figure 3 – The flow field in symmetry plane. I. Scheme of flow in anastomosis. II. Result of visualization in the symmetry plane: A) incoming flow, B) flow in the symmetry plane accelerates in connection place and continues around floor, C) secondary flow, D) vortex structure, E) area with intensive velocity gradient, which is moving parallel to the host artery axis. III. PIV visualization of model for  $45^\circ$  by-pass connection angle and  $Re = 1400$ . The arrows illustrate velocity in every point. Direction of flow is illustrated by direction of arrows and velocity of flow is illustrated by size of arrows. Distance in host artery direction, which is multiplied by the diameter of host artery, is on the horizontal axis. Distance from host artery centre, which is multiplied by the host artery radius, is on the vertical axis.

### *Numerical simulation*

Numerical simulations were carried out for the same models as experiments. They consist of two tubes with inner diameter  $d = 10$  mm. The length of graft to junction was  $l = 700$  mm. The length of proximal outlet segment (POS) was 100 mm and it was closed in order to simulate the stenosis. The length of distal outlet segment (DOS) was  $l = 700$  mm. 3D computation grid was generated with hexahedron elements of about 800 000 cells. Numerical solutions were carried out for the same conditions as experiments (working fluid, flow rate in native artery and graft). The mathematical model was selected as the laminar model. The boundary conditions were set on the input to the graft – velocity inlet, on input to the native artery – wall and on the output – pressure outlet.

### **Results**

The complex space flow was built in an anastomosis model. Numerical and experimental models were shaped so that the developed laminar velocity profile could be entered at the anastomotic region. The flow stream coming from graft begins to form helix vortex structures after entering the anastomosis (Figure 4).

The symmetry plane visualization demonstrates that the inlet flow (Figure 3A) (only flow lines in symmetry plane) in the symmetry plane gets to the floor and then the flow accelerates and goes parallel with x axis as a narrow jet (Figure 3B). There is also a very distinct area opposite to the floor (Figure 3C) with a secondary flow.

The character of complex vortex structures created in the POS area depends on the liquid flow parameters. They look like two vortices in the symmetry plane (Figure 3E). The shape of these vortices is strongly dependent on the stenosis distance from the anastomosis. The flow outside the symmetry plane moves in the form of a helical shaped vortex structure with variable spiral angle.

Vortex structures are shown in figure 3. These structures create secondary flow in the cross section. The secondary flow intensity decreases downstream and the velocity profile is gradually formed into developed laminar velocity profile. There is an area with strong velocity gradient (Figure 3E) between the main flow (Figure 3B) and the vortex structure in POS area (Figure 3D). The size and placing of this area is time-dependent both by steady and unsteady inlet conditions. In this area the magnitude of WSS is maximal due to the large velocity gradients. Maximum WSS is time-dependent and shifts along the x axis downstream and upstream that causes wall shear stress oscillation. Future investigation will be focused on this area.

The comparison of visualization with PIV results was carried out. Figure 3 shows that flow field evaluated from PIV measurement correlates with the flow shape demonstrated by direct visualization.

Comparatively good correlation between the experiments and numeric simulations of flow in bypass was shown on velocity profile characteristics

(Figures 5 and 6). The deviation of these profiles in symmetry plane can be caused by several causes.

### Discussion

The velocity in the bypass was derived from measured mass flow data. Because of ultrasound meter accuracy some differences existed between real and measured data.

Laser sheet has non-zero thickness and therefore CCD camera records signal from seeding particles which are not in symmetry plane only. It can cause inaccuracy of measured data.

Selected laminar computational model was a source of inaccuracy because the definition of type of flow in the place behind the connection is different due to the secondary flow.

Many models would have to be constructed and each model would have to be checked in a large number of measurements in order to find out the optimal bypass junction shape with the help of an experimental research only. Due to good agreement of numerical and experimental results it was possible to decrease the

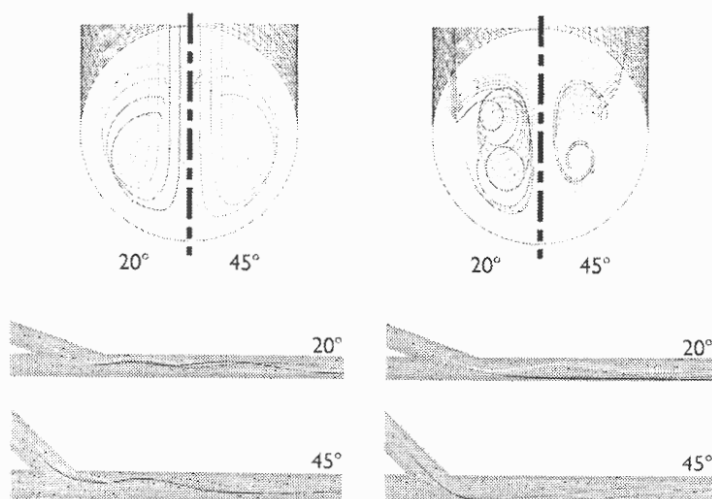


Figure 4 – Flow pattern comparison for two models of by-pass anastomosis (anastomosis angle 20° and 45°). Flow fields are illustrated by path lines. The left part of the figure shows comparison of the path lines, which begin in the centre of graft. The right part of the figure shows comparison of the path lines, which begin near the wall of graft. In the upper part of the figure the views from DOS in upstream direction in host artery are seen. In the bottom part of the figure the side views on the model are seen.

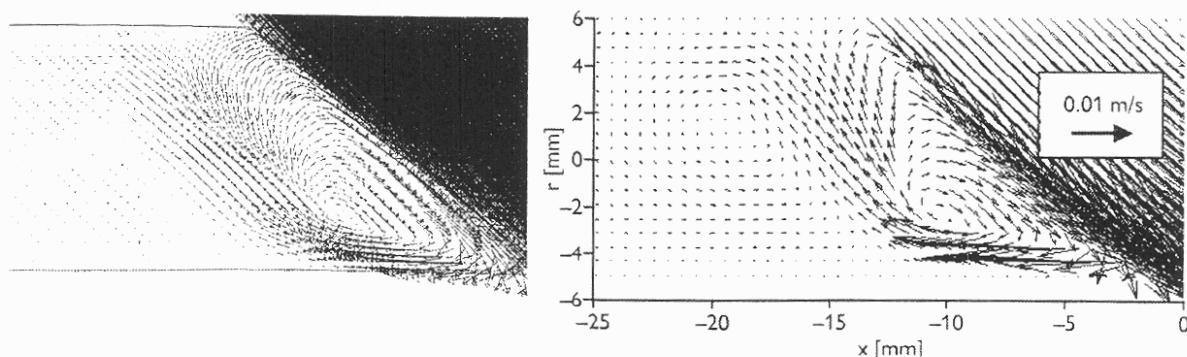


Figure 5 – Vortex structure in symmetry plane model in POS area with connection angle 45° and  $Re=1400$ . Left: numerical simulation, Right: PIV experimental measurement. A good quality and quantity agreement between numerical and experimental solution is visible.



number of experiments planned to do in future only to necessary amount and replace these experiments with numerical simulation.

The influence of the graft angle on flow field is seen in figure 6 and 7. They show the velocity fields in symmetry plane measured by PIV. The secondary flow intensity increases with increasing anastomosis angle. In the region in host artery (Figure 7) the flow field in the host artery axis direction has monotonic decreasing character for the small graft angle. The areas with higher and lower velocity appear in this region with increasing angle at the projection of flow field into symmetry plane. It is caused by increasing secondary flow with increasing graft angle which can be seen from the numerical simulation.

The space distributions of WSS evaluated from CFD are shown in figure 8 – right. The magnitude of WSS behind the graft junction rises. Maximum value of WSS is in the floor region.

The behaviors of WSS evaluated from CFD in symmetry plane for floor line for different graft angles are shown in figure 8 – left. Maximum value of WSS is approximately in distance of one diameter from the junction. It shifts downstream for bigger graft angles and upstream for smaller graft angles. The maximum value of WSS rises with rising graft angle. The WSS drop to value close to WSS value during developed laminar flow is faster for smaller angles than for bigger angles. The character of the behavior of WSS is similar for floor and opposite the floor of anastomosis. For floor of the anastomosis, maximum values are approximately three to four times bigger.

The values of velocity profile gradient on the floor, multiplied with dynamic viscosity of working fluid, were evaluated from PIV data for several models and

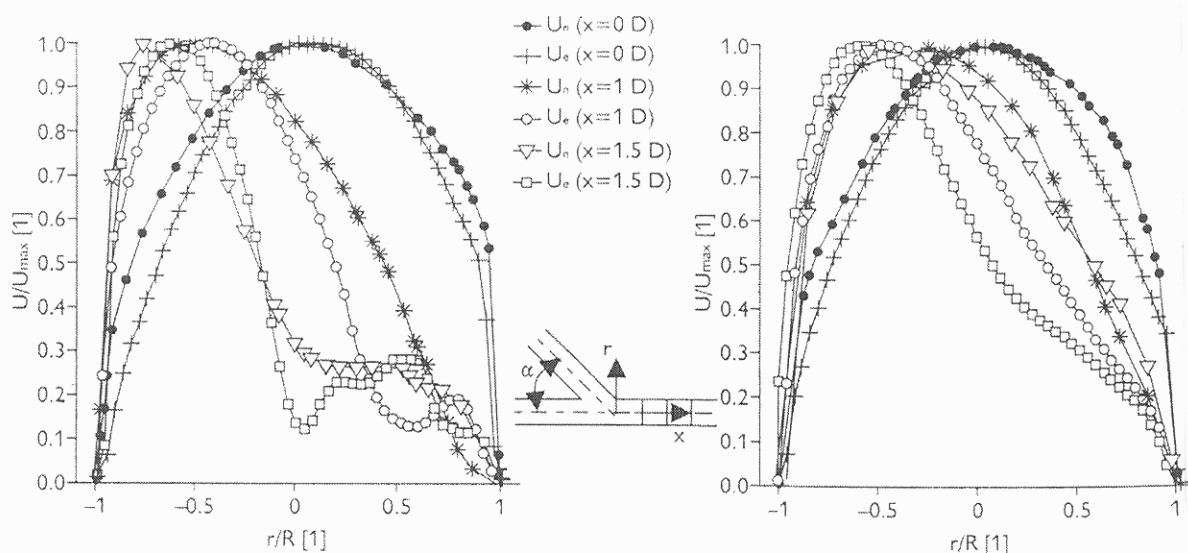


Figure 6 – Comparison of experimental (marked with subscript e) and numerical (marked with subscript n) velocity profiles in cross sections  $x = 0; 1; 1.5 D$ . Left: for angle  $\alpha = 45^\circ$ . Right: for angle  $\alpha = 20^\circ$ . In the pictures we can see a good agreement between numerical and experimental solution. Comparison of the flow fields shows that the region of secondary flow is bigger for angle connection  $\alpha = 45^\circ$ .

several measured regimes. The character of behavior of these values is similar to WSS evaluated from CFD. The maximum value of WSS increases with increasing flow rate. In case that flow rate in graft is 75% of the total flow rate then the maximum values of WSS decrease.

The pathological phenomena in the anastomosis are induced by many factors. Some of them are studied by hemodynamics. The shear stress in blood flow stream is assuredly one of the parameters that influence interactive impingement of fluid flow most, causing blood corpuscles to dash against vessel wall and their damage. These reasons lead us to deal with WSS thoroughly and therefore it was chosen as optimization parameter when solving the bypass.

The blood is non-Newtonian fluid with complicated thermophysical properties, the mechanical vessel properties are difficult to describe and the flow quantities are time dependent. This is the reason why the first phase of hemodynamics research of cardiovascular system parts proceeds on simplified models. This relates both for mathematical and experimental models carried out *in vitro*. It is generally possible to determine WSS experimentally by two ways:

- indirectly – evaluation of measured velocity profile,
- directly – with the help of special probe (CTA).

The velocity field determination has crucial meaning for finding hemodynamics parameters and thus WSS. The measured velocity profiles allow evaluating WSS. We prefer non-invasive methods for velocity field measurement because they do not influence the flow. These methods are used most often for this sort of measurement:

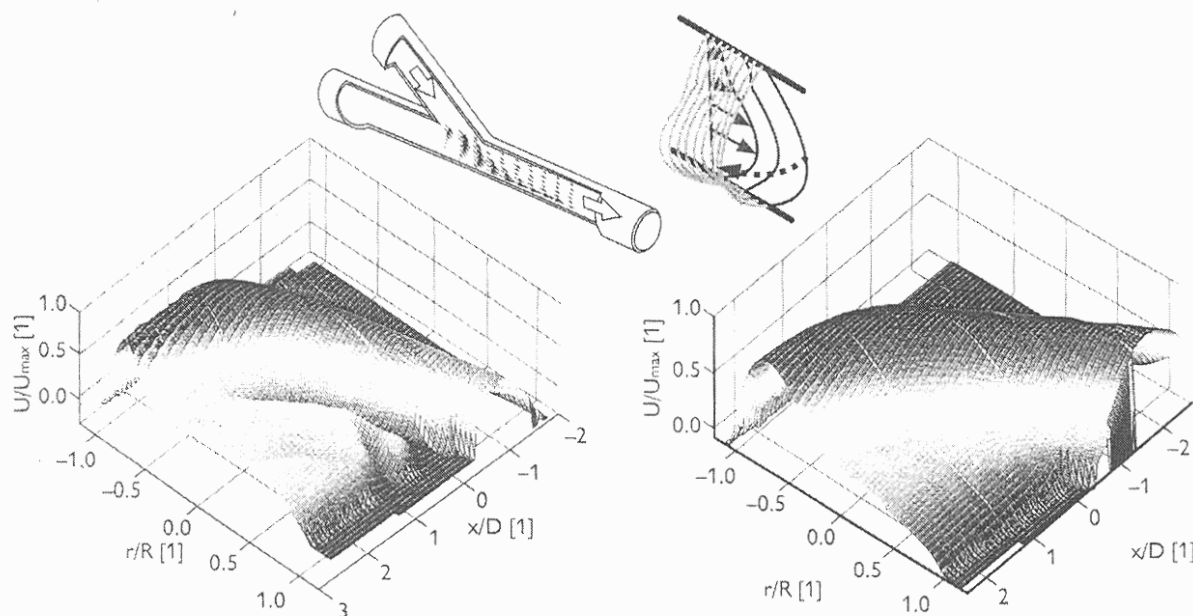


Figure 7 – Velocity distribution in  $x$  direction for  $Re$  1400 from PIV. Velocity in direction  $x$  is projected to the  $z$ -axis, as it is illustrated in the small pictures. Left: velocity fields in direction  $x$  for connection angle  $45^\circ$ . Right: velocity fields in direction  $x$  for connection angle  $20^\circ$ .

- Ultrasonic Velocity Profiling (UVP),
- Laser-Doppler Anemometry (LDA),
- Particle Image Velocimetry (PIV).

When using UVP method we measure velocity with the help of ultrasound. LDA and PIV belong to the optical methods. These methods measure velocity of particles added into the working fluid in model.

When we compare the methods mentioned above the PIV method appears to be the most suitable. It is the most modern method with enormous progress possibility. It does not disturb the flow and allows measuring instantaneous velocity field (in requested plane) on the instant. It also allows evaluating mean velocity and fluctuation deviations. PIV has the advantage in comparison with LDA and UVP due to the fact that PIV measures the velocity field on the instant and LDA measures velocity point by point and UVP method measures velocity in one line. The WSS evaluation based on velocity profile uses instantaneous velocity field and no velocity profile which is measured point by point. The PIV method is the most precise and the least time-consuming method which results from the reasons mentioned above.

The models used in experiments are designed in conformity with physical similitude laws and they must satisfy the specific conditions of measurement method. In case of PIV method the models must be transparent and model material and working fluid must have certain optical properties.

We realize that graft patency is influenced by many factors, but we consider angle of anastomosis to be one of the most important and in real life of those the most easily changed. Based on our results we believe, that endorsing parameters

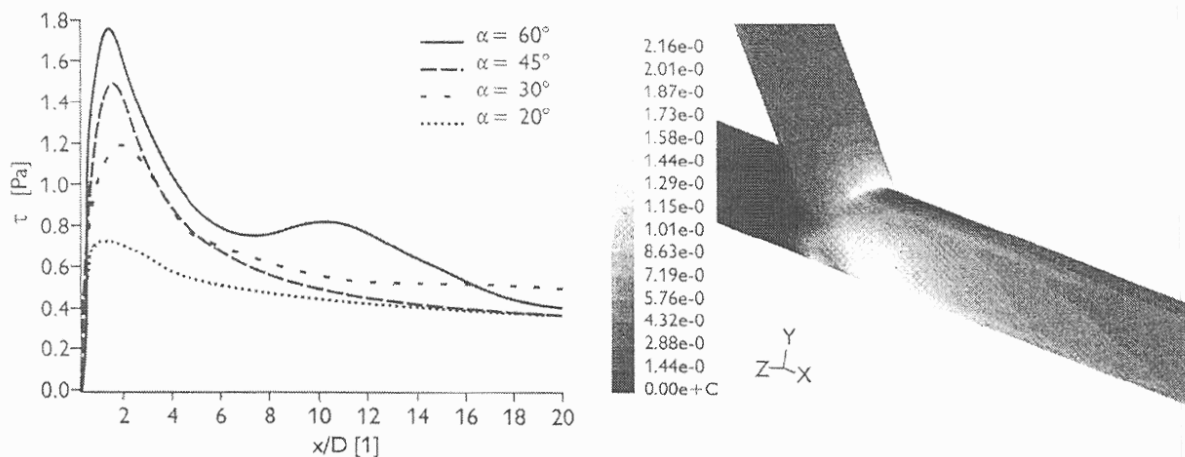


Figure 8 – Wall shear stress computed by numerical simulation. Left: Comparison of WSS on the floor for different angles from numerical simulation. The areas of shear stress maximum are in the distance  $x/D$  is 1 to 2. In these areas the post operation complications are very frequent. Right: Wall shear stress for angle  $45^\circ$  from numerical simulation. The gray scale represents the quantity of wall shear stress. The areas of higher shear stress values are illustrated in the figure. The shear stress values correspond with flow field obtained by PIV measurement.

of anastomosis mentioned above, i.e. small angle of anastomosis and appropriate length of anastomosis, gives us a chance of higher long-term patency of vascular anastomosis. The reason is that the anastomosis of smaller angle has lower maximum value of shear stress, lower secondary flow and lower velocity fluctuation. Length of anastomosis in this smaller angle anastomosis is app. 2–2.5 of native vessel diameter.

## References

1. BRYAN A. J., ANGELINI G. D.: The biology of saphenous vein graft occlusion: etiology and strategies for prevention. *Current Opinion in Cardiology* 9: 641–649, 1994.
2. CHESHIRE N. J., WOLFE J. H.: Infrainguinal graft surveillance: a biased overview. *Seminars in Vascular Surgery* 6: 143–149, 1993.
3. DAVIES P.: Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol. Rev.* 75: 519–560, 1995.
4. HARUGUCHI H., TERAOKA S.: Intimal hyperplasia and hemodynamic factors in arterial bypass and arteriovenous grafts: a review. *Japan. Soc. for Artificial Organs* 6: 227–235, 2003.
5. BASSIOUNY H. S., WHITE S., GLAGOV S., CHOI E., GIDDENS D. P., ZARINS C. K.: Anastomotic intimal hyperplasia: mechanical injury or flow induced. *J. Surgery* 15: 708–717, 1992.
6. BERGUER R., HIGGINS R. F., REDDY D. J.: Intimal hyperplasia. An experimental study. *Archives of Surg.* 115: 332–335, 1980.
7. KEYNTON R. S., EVANCHO M. M., SIMS R. L., RODWAY N. V., GOBIN A., RITTGERS S. E.: Intimal hyperplasia and wall shear in arterial bypass graft distal anastomoses: an *in vivo* model study. *J. Biomechanical Eng.* 123: 464–473, 2001.
8. TOZZI P., SOLEM J. O., BOUMZEBRA D., MUCCILOLO A., GENTON C. Y., CHAUBERT P., SEGESSER L. K.: Is the GraftConnector a Valid Alternative to Running Suture in End-to-Side Coronary Arteries Anastomoses? *The Society of Thoracic Surgeon* 72: 999–1003, 2001.
9. GREENWALD S. E., BERRY C. L.: Improving vascular grafts: the importance of mechanical and hemodynamic properties. *J. Pathology* 190: 292–299, 2000.
10. HOBALLAH J. J., MOHAN C. R., CHALMERS R. T. A., SCHUEPPERT M. T., SHARP W. J., KRESOWIK T. F., CORSON J. D.: Does the geometry of distal vein graft anastomosis affect patency? *Vascular Surg.* 30: 371–378, 1996.
11. OJHA M., COBBOLD R. S., JOHNSTON K. W.: Influence of angle on wall shear stress distribution for an end-to-side anastomosis. *J. Vascular Surg.* 19: 1067–1073, 1994.
12. ETHIER C. R., STEINMAN D. A., ZHANG X., KARPIK S. R., OJHA M.: Flow waveform effects on end-to-side anastomotic flow patterns. *J. Biomechanics* 31: 609–617, 1998.
13. HOEDT M. T., URK H., HOP W. C., LUGT A., WITTENS C. H.: A comparison of distal end-to-side and end-to-end anastomoses in femoropopliteal bypasses. *Euro. J. Vasc. and Endovasc. Surg.* 21: 266–270, 2001.
14. ANAYIOTOS A. S., PEDROSO P. D., ELEFThERIOU E. C., VENUGOPALAN R., HOLMAN W. L.: Effect of a flow-streamlining implant at the distal anastomosis of a coronary bypass graft. *Annals Biomed. Engineering* 30: 917–926, 2002.
15. JACKSON Z. S., ISHIBASHI H., GOTLIEB A. I., LANGILLE B. L.: Effects of anastomotic angle on vascular tissue responses at end-to-side arterial grafts. *J. Vascular Surg.* 34: 300–307, 2001.
16. LEE D., SU J. M., LIANG H. Y.: A numerical simulation of steady flow fields in a bypass tube. *J. Biomech.* 34: 1407–1416, 2001.
17. CHUA L. R., YU S. C. M., TAM W. P.: PIV measurements of proximal models with different anastomotic angles. *Int. Comm. in Heat and Mass Transf.* 27: 517–526, 2000.

18. SIOUFFI M., DEPLANO V., PÉLISSIER R.: Experimental analysis of unsteady flows through a stenosis. *J. Biomech.* 31: 11–19, 1998.
19. KHUNATORN Y., MAHALINGAM S., DEGROFF C. G., SHANDAS R.: Influence of connection geometry and SVC-IVC flow rate ratio on flow structures within the total cavopulmonary connection: A numerical study. *J. Biomech. Engineering* 124: 364–377, 2002.
20. LOTH F., JONES S. A., ZARINS CH. K., GIDDENS D. P., NASSAR R. F., GLAGOV S., BASSIOUNY H, S.: Relative contribution next term of wall shear stress and injury in experimental intimal thickening at PTFE end-to-side arterial anastomoses. *J. Biomech. Engineering* 124: 44–49, 2002.
21. LI X. M., RITTGERS S. E.: Hemodynamics factors at the distal end-to-side anastomosis of a bypass graft with different POS:DOS flow ratios. *J. Biomech. Engineering* 123: 270–276, 2001.
22. HUGHES P. E., HOW T. V.: Flow structures at the proximal side-to-end anastomosis influence of geometry and flow division. *J. Biomech. Engineering – transactions of the ASME* 117: 224–236, 1995.
23. CHENG CH. P., PARKER D., TAILOR, CH. A.: Wall shear stress quantification from magnetic resonance imaging data using lagrangian interpolation functions. Bioengineering Conference ASME, 2001, 50.
24. SIVANESAN S., HOW T. V., BLACK R. A., BAKRAN A.: Flow patterns in the radiocephalic arteriovenous fistula: next term an *in vitro* study. *J. of Biomechanics* 32: 915–925, 1999.
25. KNAPP Y. E., MOUREK B. F.: 2D-PIV measurements of the pulsative flow in a left heart simulator. Proceedings of PSFVIP-4, F4082: 1–9, France, 2003.
26. GAUPP S., WANG Y., HOW T. V., FISH P. J.: Characterisation of vortex shedding in vascular anastomosis models using pulsed doppler ultrasound. *J. of Biomech.* 32: 639–645, 1999.
27. COLE J. S., WATTERSON J. K., O'REILLY M. J. G.: Is there a haemodynamic advantage associated with cuffed arterial anastomoses? *J. of Biomech.* 35: 1337–1346, 2002 .
28. WALSH M. T., KAVANAGH E. G., O'BRIEN T., GRACE P. A., MCGLOUGHLIN T.: On the Existence of an Optimum End-to-side Junctional Geometry in Peripheral Bypass Surgery—A Computer Generated Study. *Eur. J. Vasc. and Endovasc. Surg.* 26: 649–656, 2003.
29. LONGEST P. W., KLEINSTREUER C., ARCHIE J. P.: Particle hemodynamics analysis of Miller cuff arterial anastomosis. *J. of Vasc. Surg.* 38: 1353–1362, 2003.
30. PAPAHRILAOU Y., DOORLY D. J., SHERWIN, S. J.: The influence of out-of-plane geometry on pulsatile flow within a distal end-to-side anastomosis. *J. of Biomech.* 35: 1225–1239, 2002.
31. BERTOLOTTI C., DEPLANO V.: Three-dimensional numerical simulations of flow through a stenosed coronary bypass. *J. of Biomech.* 33: 1011–1022, 2000.
32. ADAMEC J, NOŽIČKA J, HANUS D., KOŘENÁŘ J.: Experimental Investigation of Pulsatile Flow in Circular Tubes. *J. of Propulsion and Power* 17: 1133–1136, 2001.
33. MATĚCHA J., NETŘEBSKÁ H., TŮMA J., ADAMEC J, BÍČA M.: Flow Investigation behind the End-to-Side Anastomosis. The 16-th International Symposium on Transport Phenomena, Prague, 2005, 107.
34. NOVOTNÝ J.: Accuracy of Stereo PIV Measurement. 2nd International PhD Conference on Mechanical Engineering. Pilsen, 2004, 91–92.
35. PĚTA M., NOVOTNÝ J.: Image Processing in PIV The 16th International Symposium on Transport Phenomena. Prague, 2005, 40.

## SAH gene variants revisited in the European Project On Genes in Hypertension

Valérie Tikhonoff<sup>a,b</sup>, Jan A. Staessen<sup>b,c</sup>, Tatiana Kuznetsova<sup>b,d</sup>, Lutgarde Thijs<sup>b</sup>, Sandra Hasenkamp<sup>e</sup>, Veronika Bäumler<sup>e</sup>, Katarzyna Stolarz<sup>f</sup>, Jitka Seidlerová<sup>g</sup>, Jan Filipovský<sup>g</sup>, Yuri Nikitin<sup>d</sup>, Jan Peleška<sup>h</sup>, Kalina Kawecka-Jaszcz<sup>f</sup>, Edoardo Casiglia<sup>a</sup>, Stefan-Martin Brand-Herrmann<sup>i</sup> and Eva Brand<sup>e</sup>, for the European Project On Genes in Hypertension (EPOGH) investigators

**Objective** Previous studies found significant association of hypertension and hypertension-related phenotypes with genetic variation in SAH (Spontaneously hypertensive rat-clone A-Hypertension-associated). We sought independent confirmation of these findings in the European Project On Genes in Hypertension.

**Methods and results** We randomly recruited 2603 relatives from 560 families and 31 unrelated subjects from six European populations (mean age  $38.8 \pm 15.7$  years; 52.1% women). We measured systolic/diastolic blood pressure (mean, 122.4/76.6 mmHg), body mass index ( $24.9 \text{ kg/m}^2$ ), triceps skinfold (1.7 cm), waist-to-hip ratio (0.83 units), serum total and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol (5.14 and 1.33 mmol/l), serum triglycerides (1.95 mmol/l) and blood glucose (4.90 mmol/l). We genotyped the *G-1606A* and *-962del/ins* polymorphisms. In all subjects, the allele frequencies were 11.8 and 29.5% for *-1606A* and *-962del*, respectively. Lewontin's *D'* was 0.97 ( $P < 0.0001$ ). Haplotype frequencies were 58.8% for *-1606G* plus *-962ins*, 29.5% for *-1606G* plus *-962del*, and 11.7% for *-1606A* plus *-962ins*. Both before and after adjustment for covariates, none of the phenotype-genotype associations approached statistical significance. Our study had 80% power to detect on two-sided tests ( $P = 0.05$ ), effect sizes of 1.8/1.3 mmHg for systolic/diastolic blood pressure,  $0.52 \text{ kg/m}^2$  for body mass index, 0.01 units for the waist-to-hip ratio, 0.96 mm for the triceps skinfold, 0.13 and 0.05 mmol/l for total and HDL cholesterol, 0.18 mmol/l for serum triglycerides, and 0.11 mmol/l for blood glucose. The family-based analyses did not reveal population stratification ( $P \geq 0.67$ ).

**Conclusion** The evidence supporting an association of hypertension or hypertension-related phenotypes with the SAH gene remains equivocal in human studies. *J Hypertens* 26:244–250 © 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

Journal of Hypertension 2008, 26:244–250

**Keywords:** body mass index, hypertension, population study, SAH gene, serum lipids

**Abbreviations:** CoA, coenzyme A; EPOGH, European Project On Genes in Hypertension; HDL, high-density lipoprotein; PEGASE, Project d'Etude des Gènes de l'Hypertension Artérielle Sévère à Modérée Essentielle; QTDT, quantitative transmission disequilibrium test; RFLP, restriction fragment length polymorphism analysis; SAH, Spontaneously hypertensive rat-clone A-Hypertension-associated

<sup>a</sup>Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Padova, Italy, <sup>b</sup>Studies Coordinating Center, Division of Hypertension and Cardiovascular Rehabilitation, Department of Cardiovascular Diseases, University of Leuven, Belgium, <sup>c</sup>Genetic Epidemiology Unit, Department of Epidemiology, University of Maastricht, The Netherlands, <sup>d</sup>Institute of Internal Medicine, Novosibirsk, Russian Federation, <sup>e</sup>Department of Internal Medicine D, Nephrology and Hypertension, University Clinic of Münster, Germany, <sup>f</sup>First Cardiac Department, Jagiellonian University, Cracow, Poland, <sup>g</sup>Faculty of Medicine, Charles University, Pilsen, Czech Republic, <sup>h</sup>3<sup>rd</sup> Department of Medicine, General University Hospital and Institute of Computer Science AS, Prague, Czech Republic and <sup>i</sup>Leibniz-Institute for Arteriosclerosis Research, Department of Molecular Genetics of Cardiovascular Disease, University of Münster, Germany

Correspondence to Jan A. Staessen, MD, PhD, FAHA, FESC, Studies Coordinating Center, Campus Gasthuisberg, Herestraat 49, Box 702, B-3000 Leuven, Belgium  
Tel: +32 16 34 7104; fax: +32 16 34 7106;  
e-mail: jan.staessen@med.kuleuven.be

Received 25 July 2007 Revised 14 September 2007  
Accepted 1 October 2007

### Introduction

The expression of SAH (Spontaneously hypertensive rat-clone A-Hypertension-associated) gene is markedly higher in the kidneys of spontaneously hypertensive rats compared with normotensive Wistar-Kyoto controls [1]. In rats, SAH is expressed mainly in proximal renal tubules and in hepatocytes [2,3]. The human SAH gene

is located on chromosome 16p13.11, spans about 33 kb, consists of 14 exons and 13 introns, and is expressed in the kidney [4]. Transfected cells express the SAH protein in the mitochondria [5]. Cell experiments suggest that it has medium-chain fatty acid coenzyme A ligase activity and that it might be involved in lipid metabolism [5,6].

The Suita population study [5,7] and subsequent case-control studies [8–10] reported significant associations of

Details of the European Project On Genes in Hypertension (EPOGH) investigators are listed in the Acknowledgements section.

0263-6352 © 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

hypertension and related phenotypes, such as obesity, hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia, with genetic variation in the SAH gene. More recently, Telgmann *et al.* [8] identified five polymorphisms in the SAH promoter region (*C-1808T*, *G-1606A*, *-962I/D*, *G-451A*, *T-67C*), two polymorphisms in introns 5 and 7 (*C+9/In5T*, *A+20/In7T*), and one missense variant (*K359N*). In the Project d'Etude des Gènes de l'Hypertension Artérielle Sévère à Modérée Essentielle (PEGASE) case-control study, Telgmann and colleagues [8] reported association between obesity-related hypertension and the SAH *G-1606A* and *-962ins/del* polymorphisms. Using continuous phenotypes, we sought independent confirmation of Telgmann's findings in the randomly recruited participants of the family-based European Project On Genes in Hypertension (EPOGH).

## Methods

### Study population

The EPOGH project was conducted according to the principles outlined in the Helsinki declaration for investigations in human subjects [11]. The Ethics Committee of each institution approved the protocol. The investigators randomly enrolled nuclear and extended families of white ethnicity from the populations of Bucharest (Romania;  $n=295$ ), Cracow (Poland;  $n=326$ ), Hechtel-Eksel (Belgium;  $n=1276$ ), Mirano (Italy;  $n=355$ ), Novosibirsk (Russian Federation;  $n=324$ ), and Pilsen and Prague (Czech Republic;  $n=399$ ). The overall response rate was 63.7%. All participants gave informed written consent. Of these 2975 subjects, we excluded 341 from analysis, because DNA could not be extracted or could not be genotyped or failed to amplify ( $n=308$ ), or because of inconsistency in Mendelian segregation ( $n=33$ ). Thus, the number of subjects statistically analyzed totaled 2634.

### Phenotypes

The blood pressure phenotype was the average of five consecutive readings at one home visit. After the subjects had rested in the sitting position for 10 min or longer, trained observers measured blood pressure with a mercury sphygmomanometer according to the guidelines of the British Hypertension Society [12]. We previously described the quality control of the blood pressure phenotype in detail [13]. Hypertension was a blood pressure of at least 140 mmHg systolic or 90 mmHg diastolic, or the use of antihypertensive drugs. The observers also measured weight and height with the subjects wearing light indoor clothing without shoes. Body mass index was weight in kilograms divided by the square of height in meters. The waist-to-hip ratio, determined by means of a measuring tape, was the ratio of the smallest circumference at the waist to the largest circumference at the hip. The triceps skinfold was measured at the midportion of the muscle by means of a Harpenden Skinfold Caliper (Bedfordshire, UK), providing a constant

pressure of  $0.01 \text{ kg/mm}^2$  ( $0.098 \text{ N/mm}^2$ )  $\pm 10\%$  at all openings of the  $90 \text{ mm}^2$  anvils.

We administered a validated questionnaire [14] to collect information on each subject's medical history, use of medications, and smoking and drinking habits. From the type and number of alcoholic beverages used each day, we calculated alcohol consumption in g/day. To exclude occasional drinkers, we defined current alcohol intake as a consumption of at least 5 g of ethanol per day. Venous blood samples, collected in the late afternoon (1056 Belgian participants) or after overnight fasting (181 Belgian and 1397 non-Belgian participants), were analysed for serum total and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, serum triglycerides and blood glucose by automated enzymatic methods.

### Determination of genotypes

We extracted genomic DNA from white blood cells, using standard kits (Qiagen, Hilden, Germany). For genotyping, we used restriction fragment length polymorphism analysis (RFLP) of the respective polymerase chain reaction (PCR) products at the frequent polymorphic loci *G-1606A* (restriction enzyme *KspAI*) and *-962ins/del* (*XapI*); as *C-1808T* was completely associated with *G-1606A*, we did not genotype for this variant.

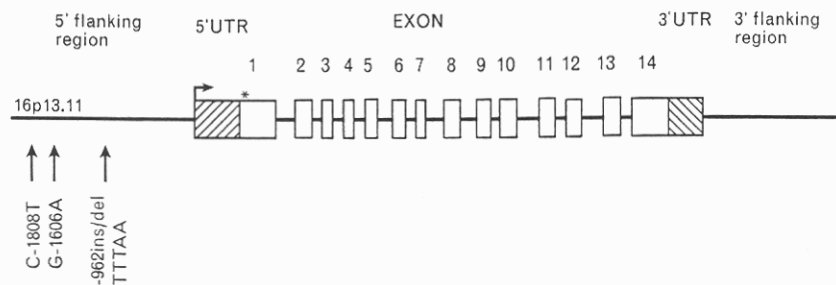
Using the published sequence of human SAH gene (accession number AC004381.1; Fig. 1), primers were designed to amplify both fragments covering the SAH polymorphisms *G-1606A* and *-962ins/del*. The PCR amplification was carried out in a 20- $\mu\text{l}$  volume, containing 5 ng genomic DNA, 10 and 25 pmol/l of each primer (for both fragments, respectively), 2.5 mmol/l  $\text{MgCl}_2$ , 200  $\mu\text{mol/l}$  of each dNTP, 5 mmol/l betaine and 1 U AmpliTaq polymerase (Rapidozym, Berlin, Germany). The PCR was performed initially for 3 min at  $94^\circ\text{C}$  and followed by 35 cycles, each with 45 s at  $94^\circ\text{C}$ , 45 s at  $54^\circ\text{C}$  and  $56^\circ\text{C}$  (depending on primer sequence), 60 s at  $72^\circ\text{C}$  and final elongation of 10 min at  $72^\circ\text{C}$ .

In the presence of the *-1606A* allele, the PCR product (221 bp) was digested by *KspAI* into two fragments of 191 and 30 bp in length (*-1606G* undigested). In the presence of the *-962del* allele, the PCR product (339 bp) was digested by *XapI* into three fragments of 180, 93 and 66 bp in length. For *-962ins*, the PCR product (344 bp) was digested into four fragments of 180, 82, 66 and 16 bp in length visualized on ethidium bromide-stained 3% agarose gels (primer sequences and digestion conditions available upon request).

### Statistical methods

For database management and statistical analysis, we used SAS version 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). Population means and proportions were compared by Tukey's test for multiple comparisons and the

Fig. 1



Schematic representation of the human SAH gene (accession number AC004381.1) and positions of the analyzed single nucleotide polymorphisms (SNPs). The SAH gene is located on chromosome 16p13.11, spans approximately 33 kb and consists of 14 exons (open boxes) and 13 introns. Black arrows indicate the localization of the variants in the 5'-flanking region (C-1808T, G-1606A, -962ins/del TTTAA). G-1606A is in complete association with C-1808T. The bent arrow indicates the transcription starting site. The asterisk marks the starting ATG sequence.

$\chi^2$ -statistic with Bonferroni's correction, respectively. Because Shapiro–Wilk's test showed significant departure from normality, we logarithmically transformed triceps skinfold thickness as well as blood glucose and serum triglyceride concentrations. We searched for possible covariates of the metabolic phenotypes, using stepwise multiple regression analysis with the *P* value for independent variables to enter and stay in the models set at 0.10. Depending on the phenotypes, the variables considered for entry into the models were sex, age, age squared, body mass index, use of  $\beta$ -blockers, diuretics or angiotensin-converting enzyme inhibitors, intake of lipid-lowering drugs, smoking (0, 1) and alcohol consumption (0, 1). We adjusted all models for center and those for blood glucose and serum lipids also for fasting status (0, 1).

We tested linkage disequilibrium between the two polymorphisms and we reconstructed haplotypes using the PROC HAPLOTYPE procedure available in the genetics module of the SAS software. In population-based analyses, we applied a generalization of the standard linear model, as implemented in the PROC MIXED procedure of the SAS package, to test the association between phenotypes and single polymorphisms or haplotypes, while adjusting for covariates as well as for the nonindependence of observations within families. In the mixed model, we also tested for heterogeneity across centers, using appropriate interaction terms. To remain consistent with previous studies [8], we compared SAH -1606GG homozygotes with carriers of the less frequent -1606A allele and SAH -962ins homozygotes with carriers of the less frequent -962del allele. Our association study had 80% power to detect on two-sided tests at an  $\alpha$ -level of 0.05, for SAH G-1606A effect sizes of 1.8/1.3 mmHg for systolic/diastolic blood pressure, 0.52 kg/m<sup>2</sup> for body mass index, 0.01 units for the waist-to-hip ratio, 0.96 mm for the triceps skinfold, 0.13 mmol/l and 0.05 mmol/l for total and HDL cholesterol, 0.18 mmol/l for serum triglycerides, and 0.11 mmol/l for blood glucose; for the SAH -962del/ins polymorphism,

the corresponding effect sizes were 1.6/1.2 mmHg for systolic/diastolic blood pressure, 0.48 kg/m<sup>2</sup> for body mass index, 0.01 units for the waist-to-hip ratio, 0.87 mm for the triceps skinfold, 0.12 mmol/l and 0.04 mmol/l for total and HDL cholesterol, 0.17 mmol/l for serum triglycerides and 0.10 mmol/l for blood glucose.

To take advantage of the family structures of our data, we performed family-based analyses. We evaluated the within- and between-family components of phenotypic variability using the orthogonal model proposed by Abecasis and colleagues [15]. We implemented the quantitative transmission disequilibrium test (QTDT) in SAS, using a mixed model with similar adjustments as in the population-based analyses.

## Results

### Characteristics of the participants

The study population consisted of 2603 relatives from 560 families and 31 unrelated individuals. Mean  $\pm$  SD age was 38.8  $\pm$  15.7 years (range, 9.5–80.4). The prevalence of hypertension was 25.3% in the whole study sample and 48.8% among 737 founders. Table 1 provides the characteristics of the participants by center. There were significant between-center differences in age, body mass index, waist-to-hip ratio, triceps skinfold, blood pressure, smoking and drinking habits, use of medications, serum total and HDL cholesterol, serum triglycerides and blood glucose, but not in the sex distribution. Among women, 1002 were premenopausal (222 on oral contraceptives) and 370 were postmenopausal (none on hormonal replacement therapy).

### Genotype and haplotype frequencies

Across centers (Table 2), allele frequencies for -1606A ranged from 10.8 to 13.5% with no significant between-center differences ( $P \geq 0.06$ ). For the -962del allele, frequencies ranged from 27.0 to 32.6% with the highest value in Bucharest ( $P < 0.05$ ). The within-country frequencies of the SAH G-1606A and -962ins/del genotypes



Table 1 Characteristics of the study participants by centers

Characteristics	Belgium (n = 1237)	Czech Republic (n = 310)	Italy (n = 298)	Poland (n = 297)	Romania (n = 216)	Russian Federation (n = 276)
<b>Clinical features</b>						
Female, n (%)	627 (50.7)	149 (48.2)	158 (53.0)	158 (53.2)	121 (56.2)	156 (56.4)
Age (year)	40.2 ± 17.0	37.3 ± 13.7	40.9 ± 14.2	35.0 ± 13.9	37.0 ± 15.1	37.2 ± 13.7
Body weight (kg)	70.3 ± 14.0	76.7 ± 15.1	70.5 ± 13.6	72.6 ± 14.2	69.2 ± 15.5	70.9 ± 13.7
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	24.7 ± 4.2	25.6 ± 4.4	25.2 ± 4.1	25.2 ± 4.6	24.4 ± 4.9	24.9 ± 4.7
Waist-to-hip ratio <sup>b</sup>	0.83 ± 0.09	0.83 ± 0.09	0.84 ± 0.08	0.84 ± 0.08	0.82 ± 0.09	0.81 ± 0.07
Triceps skinfolds (cm)	1.78 ± 0.85	1.62 ± 0.87	1.62 ± 0.68	1.80 ± 0.86	1.62 ± 0.44	1.49 ± 0.62
Systolic pressure (mmHg) <sup>c</sup>	121.5 ± 14.2	121.3 ± 14.1	124.2 ± 14.8	125.4 ± 15.7	121.1 ± 17.9	123.7 ± 17.3
Diastolic pressure (mmHg) <sup>d</sup>	74.5 ± 10.8	76.5 ± 10.9	79.7 ± 9.6	78.5 ± 11.3	78.1 ± 12.5	79.7 ± 11.6
Heart rate (bpm)	67.8 ± 9.4	71.5 ± 9.3	73.3 ± 9.7	73.7 ± 10.0	76.0 ± 8.2	74.1 ± 8.5
<b>Lifestyle</b>						
Tobacco use, n (%)	317 (25.6)	65 (21.1)	71 (23.7)	78 (26.4)	54 (24.8)	85 (30.7)
Alcohol intake ≥5 g/day, n (%)	276 (22.3)	124 (39.9)	124 (41.6)	52 (17.4)	52 (24.3)	129 (46.6)
Arterial hypertension (%)	273 (22.1)	86 (27.7)	89 (29.9)	89 (30.0)	55 (25.5)	74 (26.8)
<b>Use of drugs</b>						
Antihypertensive agents, n (%)	147 (11.9)	51 (16.5)	41 (13.9)	53 (17.7)	29 (13.3)	32 (11.7)
Diuretics, n (%)	58 (4.7)	19 (6.1)	24 (8.1)	20 (6.7)	11 (5.2)	17 (6.1)
β-blockers, n (%)	93 (7.5)	34 (11.0)	10 (3.4)	28 (9.4)	9 (4.3)	5 (1.8)
ACE inhibitors, n (%)						
Lipid-lowering agents, n (%)	36 (2.9)	9 (2.9)	7 (2.4)	3 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)
Antidiabetic agents, n (%)	12 (0.9)	8 (2.6)	8 (2.7)	7 (2.3)	5 (2.4)	2 (0.7)
<b>Biochemical measurements</b>						
Serum total cholesterol (mmol/l)	5.25 ± 1.34	5.19 ± 1.12	5.19 ± 1.13	5.00 ± 1.13	4.81 ± 1.24	4.95 ± 1.25
Serum HDL-cholesterol (mmol/l)	1.40 ± 0.38	1.45 ± 0.33	1.21 ± 0.26	1.58 ± 0.37	0.98 ± 0.24	0.99 ± 0.30
Serum triglycerides (mmol/l)	2.58 (2.48–2.57)	1.51 (1.36–1.65)	1.08 (1.01–1.16)	1.28 (1.18–1.38)	1.66 (1.48–1.84)	1.50 (1.38–1.62)
Blood glucose (mmol/l)	4.90 (4.84–4.96)	5.27 (5.18–5.35)	5.00 (4.90–5.10)	4.54 (4.43–4.65)	4.96 (4.84–5.09)	4.77 (4.71–4.84)

Values are arithmetic means ± SD or number of subjects (%). Alternatively, in cases of skewed distributions, values are geometric means (95% confidence interval). Differences between countries were significant ( $P \leq 0.05$ ) except for female sex. To convert values for total and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol to mg/dl, divide by 0.02586. To convert values for triglycerides to mg/dl, divide by 0.01129. To convert values for glucose to mg/dl, divide by 0.05551. ACE, angiotensin-converting enzyme; HDL, high-density lipoprotein. <sup>a</sup> The body mass index is weight (kg) divided by the square of the height (m<sup>2</sup>). <sup>b</sup> The waist-to-hip ratio is the smallest circumference at the waist divided by the largest circumference at the hip level. <sup>c</sup> Average of five blood pressure readings obtained at one home visit.

complied with Hardy–Weinberg proportions ( $0.12 < P < 0.89$  and  $0.22 < P < 0.98$ , respectively), except for SAH *G-1606A* polymorphism in Cracow ( $P = 0.03$ ). The two polymorphisms were in significant linkage disequilibrium; Lewontin's disequilibrium coefficient  $D'$  was 0.97 ( $P < 0.0001$ ). The haplotype frequencies were 1549 (58.8%) for the combination of *-1606G* and *-962ins* (H1-G/ins), 777 (29.5%) for the combination of *-1606G* and *-962del* (H2-G/del), and 308 (11.7%) for the combination of *-1606A* and *-962ins* (H3-A/ins).

#### Phenotypes in relation to covariates

Based on results of stepwise multiple regression, we adjusted all models for center, sex, age, current smoking and alcohol intake. We additionally adjusted systolic and diastolic blood pressures for the quadratic term of age, body

mass index and the use of antihypertensive drugs. We additionally adjusted indexes of obesity, serum lipids and blood glucose for the use of lipid-lowering drugs, and serum triglycerides and blood glucose also for fasting status. With these adjustments applied, we did not detect any heterogeneity between centers in the relation of the phenotypes under study with the *G-1606A* ( $0.12 > P > 0.99$ ) or *-962ins/del* polymorphisms ( $0.22 > P > 0.96$ ) of the SAH gene. There was also no heterogeneity between women and men ( $0.32 > P > 0.90$  and  $0.18 > P > 0.89$ , respectively). In all analyses, we therefore pooled all subjects.

#### Population-based association study

Table 3 shows that for the *G-1606A* polymorphism, both before and after adjustment for covariates, none of the

Table 2 SAH genotypes and allele frequencies by centers

Population	SAH <i>G-1606A</i>					SAH <i>-962ins/del</i>				
	Genotypes			Alleles		Genotypes			Alleles	
	GG	GA	AA	G	A	DD	DI	II	D	I
Belgium (n = 1237)	1008 (79.1)	259 (20.3)	8 (0.6)	2275 (89.2)	275 (10.8)	124 (10.0)	522 (42.1)	593 (47.9)	770 (31.1)	1708 (68.9) <sup>†</sup>
Czech Republic (n = 310)	238 (74.4)	78 (24.4)	4 (1.2)	554 (86.6)	86 (13.4)	31 (10.0)	125 (40.3)	154 (49.7)	187 (30.2)	433 (69.8) <sup>†</sup>
Italy (n = 298)	227 (74.7)	72 (23.7)	5 (1.6)	526 (86.5)	82 (13.5)	17 (5.7)	127 (42.6)	154 (51.7)	161 (27.0)	435 (73.0)
Poland (n = 297)	233 (76.1)	73 (23.9)	0 (0.0)	466 (86.5)	73 (13.5)	17 (5.7)	103 (34.7)	177 (59.6)	137 (23.1)	457 (76.9)
Romania (n = 216)	179 (78.5)	45 (19.7)	4 (1.8)	403 (88.4)	53 (11.6)	23 (10.6)	95 (44.0)	98 (45.4)	141 (32.6)	291 (67.4) <sup>†</sup>
Russia (n = 276)	218 (76.2)	63 (22.0)	5 (1.8)	499 (87.2)	73 (12.8)	27 (9.8)	105 (38.0)	144 (52.2)	159 (28.8)	393 (71.2) <sup>†</sup>

The within-center frequencies of genotypes complied with Hardy–Weinberg proportions ( $0.12 < P < 0.89$  for *G-1606A* and  $0.22 < P < 0.98$  for SAH *-962ins/del*) except for the *G-1606A* polymorphism in Poland ( $P = 0.03$ ). <sup>†</sup>  $P < 0.05$  versus Poland.

Table 3 Characteristics of phenotypes by genotypes of G-1606A polymorphism

	A allele carriers			Homozygotes	P trend	P <sub>A-G</sub>
	All (n = 596)	AA (n = 25)	GA (n = 571)	GG (n = 2038)		
Clinical features unadjusted						
Systolic blood pressure (mmHg) <sup>a</sup>	122.6 ± 0.7	121.8 ± 3.0	122.6 ± 0.7	122.9 ± 0.4	0.85	0.61
Diastolic blood pressure (mmHg) <sup>a</sup>	77.1 ± 0.5	76.7 ± 2.2	77.2 ± 0.5	77.5 ± 0.3	0.77	0.49
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>b</sup>	25.1 ± 0.2	25.6 ± 0.9	25.1 ± 0.2	25.0 ± 0.1	0.79	0.69
Waist-to-hip ratio <sup>c</sup>	0.83 ± 0.01	0.82 ± 0.02	0.83 ± 0.01	0.83 ± 0.01	0.75	0.61
Triceps skinfold (cm)	1.68 (1.61–1.75)	1.81 (1.49–2.12)	1.68 (1.61–1.75)	1.68 (1.64–1.72)	0.73	0.88
Clinical features adjusted						
Systolic blood pressure (mmHg) <sup>a</sup>	125.4 ± 0.6	124.8 ± 2.5	125.4 ± 0.7	126.0 ± 0.5	0.63	0.36
Diastolic blood pressure (mmHg) <sup>a</sup>	78.8 ± 0.5	78.4 ± 1.8	78.8 ± 0.5	79.4 ± 0.4	0.17	0.39
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>b</sup>	25.3 ± 0.3	25.7 ± 0.8	25.3 ± 0.3	25.1 ± 0.3	0.58	0.40
Waist-to-hip ratio <sup>c</sup>	0.84 ± 0.1	0.85 ± 0.01	0.84 ± 0.01	0.84 ± 0.01	0.79	0.51
Triceps skinfold (cm)	1.61 (1.50–1.72)	1.68 (1.39–1.97)	1.61 (1.50–1.72)	1.60 (1.50–1.70)	0.82	0.72
Biochemical measurements unadjusted						
Serum total cholesterol (mmol/l)	5.09 ± 0.05	5.18 ± 0.23	5.09 ± 0.05	5.11 ± 0.03	0.88	0.73
Serum HDL-cholesterol (mmol/l)	1.29 ± 0.02	1.28 ± 0.08	1.29 ± 0.02	1.29 ± 0.01	0.99	0.95
Serum triglycerides (mmol/l)	1.69 (1.56–1.82)	1.62 (1.03–2.22)	1.69 (1.55–1.83)	1.77 (1.69–1.86)	0.53	0.27
Blood glucose (mmol/l)	4.93 (4.85–5.01)	4.98 (4.60–5.35)	4.93 (4.84–5.01)	4.88 (4.83–4.95)	0.59	0.32
Biochemical measurements adjusted						
Serum total cholesterol (mmol/l)	4.98 ± 0.08	5.05 ± 4.97	4.99 ± 0.07	4.99 ± 0.07	0.91	0.86
Serum HDL-cholesterol (mmol/l)	1.27 ± 0.03	1.27 ± 0.06	1.27 ± 0.03	1.28 ± 0.02	0.75	0.45
Serum triglycerides (mmol/l)	1.62 (1.39–1.85)	1.64 (1.06–2.21)	1.62 (1.38–1.85)	1.64 (1.43–1.86)	0.91	0.67
Blood glucose (mmol/l)	5.00 (4.85–5.15)	5.01 (4.63–5.40)	5.00 (4.84–5.16)	4.94 (4.80–5.09)	0.42	0.19

Values are arithmetic means ± SE. Alternatively, in cases of skewed distributions, values are geometric means (95% confidence interval). To convert values for total and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol to mg/dl, divide by 0.02586. To convert values for triglycerides to mg/dl, divide by 0.01129. To convert values for glucose to mg/dl, divide by 0.05551. Statistical parameters, which were obtained by PROC MIXED, were adjusted for center, age, gender, smoking and alcohol consumption. Additional adjustments included: for blood pressure, body mass index and use of antihypertensive drugs; for body mass index, for the waist-to-hip ratio, for triceps skinfold, and for serum total and HDL cholesterol, use of lipid-lowering drugs; for serum triglycerides and blood glucose, use of lipid-lowering drugs and fasting status. P<sub>A-G</sub> indicates the significance of the difference between A allele carriers and GG homozygotes. <sup>a</sup>Average of five blood pressure readings obtained at one home visit. <sup>b</sup>The body mass index is weight (kg) divided by the square of the height (m<sup>2</sup>). <sup>c</sup>The waist-to-hip ratio is the smallest circumference at the waist divided by the largest circumference at the hip level.

phenotype-genotype associations approached statistical significance. We obtained similarly negative findings when we analyzed the -962ins/del polymorphism or carriers versus noncarriers of specific haplotypes. Tables with these results are available from the authors on request. A sensitivity analysis restricted to fasting subjects confirmed that all aforementioned associations were consistently nonsignificant. Furthermore, in 737 founders (mean age, 53.0 ± 6.7 years; range, 34.7–80.4), we did not find any association between the phenotypes under study, in particular blood pressure, and the G-1606A (0.12 > P > 0.62) or -962ins/del polymorphisms (0.10 > P > 0.76) of the SAH gene. Finally, when we dichotomized the study population according the presence or absence of hypertension, we could not demonstrate any association with the SAH genotypes or haplotypes in the whole study population (P > 0.31), as well as in the founders (P > 0.62).

#### Family-based association study

Our family-based analyses consisted of 560 pedigrees, of which 103 spanned more than two generations. We adjusted the QTDT analyses as described above. For G-1606A and -962ins/del, the orthogonal model did not reveal significant population stratification for any phenotype under study (P ≥ 0.21 and P ≥ 0.28, respectively). Transmission of single alleles or haplotypes from informative parents to offspring was not associated with any difference in the phenotypes under study. Table 4

illustrates these findings for the transmission of the most informative haplotype (H2-G/del) to the offspring.

#### Discussion

The key finding of our study was that we could not replicate the association of blood pressure, hypertension, or any blood pressure-related phenotype with variation in the human SAH gene, as previously reported in

Table 4 Changes associated with transmission of haplotype H2-G/del in the quantitative transmission disequilibrium test

Trait	Effect size (95% confidence interval)	P
Clinical features		
Systolic blood pressure (mmHg) <sup>a</sup>	2.800 (–2.056 to 7.657)	0.25
Diastolic blood pressure (mmHg) <sup>a</sup>	1.777 (–2.095 to 5.648)	0.37
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>b</sup>	0.090 (–1.4984 to 1.6787)	0.91
Waist-to-hip ratio <sup>c</sup>	0.016 (–0.009 to 0.042)	0.21
Triceps skinfold (cm)	0.129 (–0.189 to 0.439)	0.41
Biochemical measurements		
Serum total cholesterol (mmol/l)	–0.302 (–0.754 to 0.149)	0.19
Serum HDL-cholesterol (mmol/l)	–0.078 (–0.217 to 0.059)	0.26
Serum triglycerides (mmol/l)	0.206 (–0.155 to 0.567)	0.26
Blood glucose (mmol/l)	0.098 (–0.185 to 0.381)	0.49

The number of informative offspring was 1680. The effect sizes, which were obtained by the PROC MIXED procedure, were adjusted for center, age, gender, smoking and alcohol consumption. Additional adjustments included: for blood pressure, body mass index and use of antihypertensive drugs; for body mass index, the waist-to-hip ratio, the triceps skinfold, serum total and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, and use of lipid-lowering drugs; and for serum triglycerides and blood glucose, use of lipid-lowering drugs and fasting status. <sup>a</sup>Average of five blood pressure readings obtained at one home visit. <sup>b</sup>The body mass index is weight (kg) divided by the square of height (m<sup>2</sup>). <sup>c</sup>The waist-to-hip ratio is the smallest circumference at the waist divided by the largest circumference at the hip level.

case-control [8,9] and population studies [5,7]. Research into the SAH gene found its root in studies of genes, which are overexpressed in genetically hypertensive rats [16,17]. Analyses of several F<sub>2</sub> cohorts [18,19] and the establishment of several congenic rat strains [17,20], initially confirmed that the SAH gene, located on rat chromosome 1, might contribute to blood pressure regulation in this rodent; however, more recent studies with fine-mapping in congenic strains separated the blood pressure quantitative trait loci on rat chromosome 1 from the SAH locus [21–23]. Thus, on balance, the evidence from animal experiments is inconsistent with respect to the association of hypertension with the SAH locus.

Benjafield and colleagues [10] reported a case-control study including 121 hypertensive patients with two hypertensive parents, and 178 normotensive subjects whose parents were both normotensives. These Australian investigators did not find any association of hypertension with genetic variation in the SAH gene, including the *-962ins/del* polymorphism in the promoter. However, the frequency of the minor allele of the intron-1 polymorphism was higher in overweight (body mass index >25 kg/m<sup>2</sup>) than in normal-weight hypertensive patients. Experimental evidence supports a possible role of SAH in lipid metabolism [5,24]. Indeed, the SAH protein shares homology with a number of metabolic enzymes, including bacterial acetyl coenzyme A (CoA) synthetase [25], and acyl-CoA ligases [26]. The SAH product also exerts acyl-CoA synthetase activity for medium-chain fatty acids [5].

In line with the putative role of SAH in lipid metabolism, Haketa and colleagues [9], in a study of 287 hypertensive patients and 259 normotensive controls, reported association of plasma HDL-cholesterol with a SAH intron 3 variant, as well as with a single nucleotide polymorphism (SNP) in exon 8 of the *MACS1* gene, which maps within a 150-kb region, including the SAH locus, on human chromosome 16p13.11. The PEGASE Study [8] included 651 hypertensive patients and 776 controls. Carriers of the *-1606A* allele had a slightly increased risk of hypertension (odds ratio, 1.28; *P* = 0.049). Conversely, the odds ratio for carriers of the *-962del* polymorphism was 0.18. Moreover, after adjustment for body mass index, only the odds ratio associated with the deletion polymorphism remained significant (odds ratio, 0.77; *P* = 0.028).

In contrast to the present findings, two publications on large Japanese population [5,7] samples (*n* = 4000 and *n* = 1976, respectively) reported significant associations of the SAH region with blood pressure, heart rate, fasting blood glucose and serum triglycerides; however, blood pressure was only significantly associated with a SAH intron-12 variant. We cannot exclude that ethnicity,

lifestyle or other context-dependent factors might impact on the possible associations of blood pressure and blood pressure related phenotypes with genetic variation in SAH. The prevalence of hypertension in the Japanese population studies was 38.0%, whereas in our study it was 25.3%; however, we do not believe that under-representation of hypertensive patients in our random population sample might explain our null findings. Indeed, mean age was 21 years higher in the Japanese studies (59.8 versus 38.8 years). Moreover, a prevalence of hypertension of approximately 25% is in line with other population studies with a similar age distribution as ours [27]. A more plausible explanation of the negative findings in our study, as opposed to the positive results of some previous reports, might be confounding by population stratification or admixture. Our family-based analyses suggested that population stratification did not influence our current results. Moreover, our study addresses some weaknesses of previous reports, such as small sample size, not accounting for lifestyle factors, and/or low-quality or dichotomized blood pressure phenotypes.

In conclusion, the evidence supporting an association of hypertension or hypertension-related phenotypes with the SAH gene is mainly based on animal experiments and remains equivocal in human studies.

### Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the expert assistance of Sandra Covens, Linda Custers, Marie-Jeanne Jehoul, Katrien Staessen, Hanne Truyens, Renilde Wolfs (Leuven, Belgium) and Mira Schiwiek (Münster, Germany).

Sources of funding: the European Union (grants IC15-CT98-0329-EPOGH, QLGI-CT-2000-01137-EURNETGEN, and LSHM-CT-2006-037093 InGenious HyperCare) provided support for the recruitment and phenotyping of families. Research included in the present article was funded by grants (G.0424.03 and G.0575.06) from the Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek Vlaanderen, (FWO, Brussels, Belgium), by special grant (OT/99/28, OT/00/25, OT/05/49 and GOA/2003/09) from the Katholieke Universiteit Leuven, (Leuven, Belgium), by the International Scientific Collaboration between Poland and Flanders (BIL 00/18 and BIL 05/22) and a grant from the Else Kröner-Fresenius Stiftung (P27/05//A24/05//F01). E.B. was supported by a Heisenberg professorship from the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Br1589/8-1). J.A.S. is holder of the Pfizer Chair for Hypertension and Cardiovascular Research (<http://www.kuleuven.be/mecenaat/leerstoelen/overzicht.htm>). E.B. and S.-M.B.-H received support from the German Ministry of Education and Science in the framework of the BioProfile-Project 'Innovations in treatment concepts for the metabolic syndrome' (BMBF 0313040C).

There are no conflicts of interest.

### Investigators

The following investigators participated in the EPOGH Study. *Belgium* (Leuven): E. Balkestein, H. Celis, E. Den Hond, R. Fagard, J. Gąsowski, T. Kuznetsova, Y. Li, T. Nawrot, M. Plusquin, L. Thijs, J.A. Staessen, J.G. Wang; *Bulgaria* (Sofia): C. Nachev, A. Postadjian, E. Prokopova, E. Shipkovenska, K. Vitljanova; *Czech Republic* (Pilsen and Prague): O. Beran, J. Filipovský, L. Goláň, T. Grus, G. Grusová, M. Jáchymová, J. Seidlerova, Z. Marečková, J. Peleška, V. Svobodová, M. Tichá; *Italy* (Padua): E. Casiglia, L. Schiavon, V. Tikhonoff; *Poland* (Cracow): A. Adamkiewicz-Piejko, M. Cwynar, T. Grodzicki, K. Kawecka-Jaszcz, W. Lubaszewski, A. Olszanecka, K. Stolarz, B. Wizner, W. Wojciechowska, J. Zyczkowska; *Romania* (Bucharest): S. Babeanu, D. Jianu, C. Sandu, D. State, M. Udrea; *Russian Federation* (Novosibirsk): T. Kuznetsova, S. Maljutina, Y. Nikitin, E. Pello, M. Ryabikov, M. Voevoda.

### Project coordinator

J.A. Staessen.

### Scientific coordinator

K. Kawecka-Jaszcz.

### Steering committee

S. Babeanu, E. Casiglia, J. Filipovský, K. Kawecka-Jaszcz, C. Nachev, Y. Nikitin, J. Peleška, J.A. Staessen.

### Data management committee

T. Kuznetsova, Y. Li, J.A. Staessen, K. Stolarz, V. Tikhonoff, J.G. Wang.

### Advisory committee on molecular biology

G. Bianchi (Università Vita Salute, Milan, Italy), E. Brand and S.M. Brand-Herrmann (University of Münster and LIFA, Germany), P. Schiffers and H.A. Struijker-Boudier (Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht, The Netherlands).

### References

- Iwai N, Inagami T. Isolation of preferentially expressed genes in the kidneys of hypertensive rats. *Hypertension* 1991; **17**:161–169.
- Patel HR, Thiara AS, West KP, Lodwick D, Samani NJ. Increased expression of the SA gene in the kidney of the spontaneously hypertensive rat is localized to the proximal tubule. *J Hypertens* 1994; **12**:1347–1352.
- Yang T, Hassan SA, Singh I, Smart A, Brosius FC, Holzman LB, et al. SA gene expression in the proximal tubule of normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 1996; **27**:541–551.
- Samani NJ, Whitmore SA, Kaiser MA, Harris J, See CG, Callen DF, Lodwick D. Chromosomal assignment of the human SA gene to 16p13.11 and demonstration of its expression in the kidney. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; **199**:862–868.
- Iwai N, Katsuya T, Mannami T, Higaki J, Ogihara T, Kokame K, et al. Association between SAH, an acyl-CoA synthetase gene, and hypertriglyceridemia, obesity, and hypertension. *Circulation* 2002; **105**:41–47.
- Fujino T, Kang MJ, Suzuki H, Iijima H, Yamamoto T. Molecular characterization and expression of rat acyl-CoA synthetase 3. *J Biol Chem* 1996; **271**:16748–16752.
- Iwai N, Mannami T, Tomoike H, Ono K, Iwanaga Y. An acyl-CoA synthetase gene family in chromosome 16p12 may contribute to multiple risk factors. *Hypertension* 2003; **41**:1041–1046.
- Telgmann R, Brand E, Nicaud V, Hagedorn C, Beining K, Schönfelder J, et al. SAH gene variants are associated with obesity-related hypertension in Caucasians: the PEGASE Study. *J Hypertens* 2007; **25**:557–564.
- Haketa A, Soma M, Nakayama T, Sato M, Kosuge K, Aoi N, Matsumoto K. Two medium-chain acyl-coenzyme A synthetase genes, SAH and MACS1, are associated with plasma high-density lipoprotein cholesterol levels, but they are not associated with essential hypertension. *J Hypertens* 2004; **22**:1903–1907.
- Benjafield AV, Iwai N, Ishikawa K, Wang WYS, Morris BJ. Overweight, but not hypertension, is associated with SAH polymorphisms in Caucasians with essential hypertension. *Hypertens Res* 2003; **26**:591–595.
- 41st World Medical Assembly. 1990 Declaration of Helsinki: recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. *Bull Pan Am Health Organ* 1990; **24**:606–609.
- Petrie JC, O'Brien ET, Littler WA, de Swiet M. Recommendations on blood pressure measurement by a working party of the British Hypertension Society. *BMJ* 1989; **293**:611–615.
- Kuznetsova T, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K, Babeanu S, Cavaglia E, Filipovsky J, et al. Quality control of the blood pressure phenotype in the European Project on Genes in Hypertension. *Blood Press Monit* 2002; **7**:215–224.
- Staessen JA, Fagard R, Amery A. Life style as a determinant of blood pressure in the general population. *Am J Hypertens* 1994; **7**:685–694.
- Abecasis GR, Cardon LR, Cookson WO. A general test of association for quantitative traits in nuclear families. *Am J Hum Genet* 2000; **66**:279–292.
- Lindpaintner K, Hilbert P, Ganten D, Nadal-Ginard B, Inagami T, Iwai N. Molecular genetics of the SA-gene: cosegregation with hypertension and mapping to rat chromosome 1. *J Hypertens* 1993; **11**:19–23.
- Iwai N, Tsujita Y, Kinoshita M. Isolation of a chromosome 1 region that contributes to high blood pressure and salt sensitivity. *Hypertension* 1998; **32**:636–638.
- Iwai N, Inagami T. Identification of a candidate gene responsible for the high blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1992; **10**:1155–1157.
- Harris EL, Dene H, Rapp JP. SA gene and blood pressure cosegregation using Dahl salt-sensitive rats. *Am J Hypertens* 1993; **6**:330–334.
- Frantz SA, Kaiser M, Gardiner SM, Gauguier D, Vincent M, Thompson JR, et al. Successful isolation of a rat chromosome 1 blood pressure quantitative trait locus in reciprocal congenic strains. *Hypertension* 1998; **32**:639–646.
- Cui ZH, Nemoto K, Kawakami K, Gonda T, Nabika T, Masuda J. Fine linkage mapping of the blood pressure quantitative trait locus region on rat chromosome 1. *Hypertens Res* 2002; **25**:605–608.
- Hübner N, Lee Y-A, Lindpaintner K, Ganten D, Kreutz R. Congenic substitution mapping excludes SA as a candidate gene locus for a blood pressure quantitative trait locus on rat chromosome 1. *Hypertension* 1999; **34**:643–648.
- Frantz S, Clemitson JR, Bihoreau MT, Gauguier D, Samani NJ. Genetic dissection of region around the Sa gene on rat chromosome 1: evidence for multiple loci affecting blood pressure. *Hypertension* 2001; **38**:216–221.
- Vessey DA, Kelley M. Purification and partial sequencing of the XL-1 form of xenobiotic-metabolizing medium chain fatty acid: CoA ligase from bovine liver mitochondria, and its homology with the essential hypertension protein. *Biochem Biophys Acta* 1997; **1346**:231–236.
- Iwai N, Ohmichi N, Hanai K, Nakamura Y, Kinoshita M. Human SA gene locus as a candidate locus for essential hypertension. *Hypertension* 1994; **23**:375–380.
- Lodwick D, Norman RI, Feeney G, West KP, Samani NJ. Immunohistochemical localisation of SA protein [abstract]. *J Hypertens* 1998; **16**:S45.
- Lamon-Fava S, Wilson PW, Schaefer EJ. Impact of body mass index on coronary heart disease risk factors in men and women. The Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; **16**:1509–1515.

# The Anastomosis Angle Is a Key to Improved Long-Term Patency of Proximal Femoropopliteal Bypass

T. Grus,<sup>1</sup> J. Lindner,<sup>1</sup> T. Vidim,<sup>1</sup> J. Tosovsky,<sup>1</sup> J. Matecha,<sup>2</sup> V. Rohn,<sup>1</sup> L. Lambert,<sup>3</sup> and G. Grusova,<sup>4</sup> Prague, Czech Republic

**Background:** Femoropopliteal bypass is a common vascular reconstructive procedure. A significant proportion of bypasses become ineffective within 1 year because of occlusion due to progression of intimal hyperplasia (IH).

**Methods:** The clinical part of the study involved an analysis of 43 patients with proximal femoropopliteal bypass, which became occluded no later than 1 year from the procedure, who were successfully treated with thrombolysis. Morphological changes of intima in the anastomosis (evaluated angiographically) and the angle of the distal end-to-side anastomosis were evaluated. In the second part of the study, blood flow in the distal end-to-side anastomosis was modeled experimentally (by particle image velocimetry) and numerically (by computational fluid dynamics). The results were correlated with the previously identified locations of IH.

**Results:** We proved that the locations of IH correlate with the locations of disturbed blood flow, increased wall shear stress, and stagnation points as documented by experimental visualization and angiographic findings. We also confirmed that anastomoses with more acute angles are less prone to IH and occlusion of the lumen.

**Conclusion:** We suggest that a better understanding of the hemodynamics and its influence on IH should lead to an optimized graft design by adopting a more acute angle of the anastomosis.

## INTRODUCTION

Affecting nearly all known vascular reconstructive procedures, intimal hyperplasia (IH) constitutes an enormous clinical challenge. For the first time ever, in 1950, IH was documented in a canine model of arterial injury, described as “fibrous thickening of

the intima” of microscopically evaluated specimens obtained 5-10 weeks after an operation of the femoral artery.<sup>1</sup> Bypassing an affected section of the bloodstream is the most common method of vascular reconstruction. However, >25% of bypasses fail within the first year from surgery and >50% within the first 10 years. Stenosis at the site of the anastomosis due to IH is a principal cause of bypass failure within 1 year from the reconstructive procedure.<sup>2,3</sup>

Many factors, with hemodynamics at the top of the list, contribute to the development of IH. Still, it remains unclear which type of blood flow shows the most harmful effect with respect to intimal proliferation. IH is associated with numerous flow parameters, e.g., turbulent flow, high or low or even oscillating wall shear stress (WSS), and high or low temporal or spatial WSS gradient.<sup>4,5</sup> Conversely, some authors have suggested that blood flow in an injured artery may have even a protective effect, acting purely as a mechanical factor that suppresses the endothelial response by washing away thrombogenic factors and cytokines.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Cardiovascular Surgery, General University Hospital, Prague, Czech Republic.

<sup>2</sup>Department of Fluid Dynamics and Power Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University, Prague, Czech Republic.

<sup>3</sup>Department of Radiology, General University Hospital, Prague, Czech Republic.

<sup>4</sup>4th Medical Department, General University Hospital, Prague, Czech Republic.

Correspondence to: Lukas Lambert, Department of Radiology, General Teaching Hospital, Prague, Czech Republic, E-mail: lambert.lukas@gmail.com

Ann Vasc Surg 2009; 23: 598-605  
DOI: 10.1016/j.avsg.2009.06.008  
© Annals of Vascular Surgery Inc.

The objective of this study was to evaluate optimal geometrical parameters for an infrainguinal end-to-side anastomosis of a vascular bypass that would minimize the negative influence of hemodynamics on the vascular wall and therefore enhance its long-term patency. Moreover, we aimed to further our current understanding of the flow characteristics in such anastomoses.

## METHODS

In the clinical part of the study, 43 proximal (infrainguinal) femoropopliteal prosthetic bypasses, which became occluded within 6 months from reconstruction, were evaluated on a control angiography (AG) 1 day after successful thrombolysis. The anastomosis angle, changes in the vascular wall morphology suggestive of IH (narrowing of the lumen, irregular vessel wall), and percentage of residual flow in the host artery (proximal outlet segment [POS]) were quantified in the distal end-to-side anastomosis.

According to an analysis of the anastomosis angle and the frequency of intimal changes as evaluated on AG, there appeared to be two distinct groups of patients (group A angle  $\leq 30^\circ$ ,  $n = 9$ ; group B angle  $> 30^\circ$ ,  $n = 34$ ). Changes suggestive of IH in the toe, the heel, and the floor of the anastomosis were evaluated; and the two groups were compared.

Afterward, experimental (flow visualization and particle image velocimetry [PIV]) and numerical (computational fluid dynamics [CFD]) models of the distal end-to-side anastomosis of a femoropopliteal bypass with complete obliteration of residual flow in the host artery were created and tested. The angle of the anastomosis was  $25^\circ$ ,  $45^\circ$ , and  $60^\circ$  in each model type (Fig. 1). These values were chosen with regard to the distribution of angles found on AG (Fig. 2).

The fundamental principle of PIV is an evaluation of the velocity field from the shift of particles previously added to the working fluid (64% NaI solution in distilled water,  $\rho = 1,730 \text{ kg/m}^3$ ,  $\eta = 0.00254 \text{ Ns/m}^2$ ,  $t = 24^\circ\text{C}$ ). The fluid has the same refractive index as Plexiglas. The PIV system was supplied by Dantec Dynamics (Skovlunde, Denmark) and included a pair of cameras (Dantec HiSense  $1,024 \times 1,280$  pixel charge-coupled device with a sampling frequency 4.5 Hz for double-frame mode and 9 Hz for single-frame mode), a pair of pulse lasers (Nd:YAG New Wave Gemini 15 Hz/120 mJ with optics), and a PIV processor (Dantec Flow-Map 1500 and  $2 \times 1$  gigabit buffer). The motion was visualized by fluorescent particles (diameter

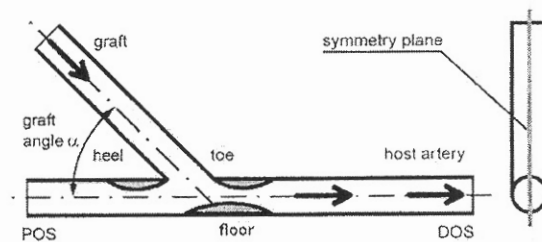


Fig. 1. Schematic drawing of the end-to-side anastomosis and regions of particular interest as recognized on AG. POS, proximal outlet segment; DOS, distal outlet segment.

$10 \mu\text{m}$ ) that emit light when exposed to an ND-YAG laser ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ ).<sup>7</sup>

For the numerical simulation, CFD was used to model sine pulsatile flow in the anastomosis.<sup>8</sup> With respect to the flow characteristics that were studied, the simulation was focused on the maximum of the pulse wave. In the maximum, the flow field is nearly identical to a stationary state with corresponding instant flow values.

An instance of anastomosis with 6 mm internal diameter<sup>9</sup> of both the graft and the host artery was modeled for a kinematic blood viscosity ( $\nu = 3.5 \cdot 10^{-6} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) and blood density ( $\rho = 1,056 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ).

The range of Reynolds number,

$$\text{Re} = vd/\nu$$

where  $v$  is the mean volume velocity in an instant of period,  $d$  is the diameter of the host artery, and  $\nu$  is the kinematic viscosity of blood, was in the femoropopliteal bypass between  $\text{Re}_{\text{MIN}} = -300$  (negative sign indicates flow in a reverse direction) and  $\text{Re}_{\text{MAX}} = 1,000$  in resting conditions.

According to the similitude theory, transparent models with 20 mm internal diameter of both the graft and the host artery were created. The models had rigid walls. As a working fluid, NaI water solution with added marking particles (diameter  $10 \mu\text{m}$ ) was used. The visualization and PIV measurements were done in a model symmetry plane. For the numerical simulation (CFD), a three-dimensional computational hexahedral grid was generated. The length of the model distally from the anastomosis was 25 times the diameter of the model. For the simulation, a laminar mathematical model was chosen. Detailed descriptions of the experiment and the numerical methods can be found in the references.<sup>2,7,8,10</sup>

Both the experiment and CFD were executed in four modes of stationary flow ( $\text{Re} = 300, 500, 800, 1,000$ ), and laminar flow was generated in the inlet

into the anastomosis. The flow pattern was visualized and evaluated (vortices, stagnation points, etc.). In PIV the  $x$  and  $y$  axes' components of the mean velocity vector and their respective standard deviations were estimated:

$$\begin{aligned}\mu_u &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N u_i, \\ \mu_v &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N v_i, \\ \sigma_u &= \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (u_i - \mu_u)^2}, \\ \sigma_v &= \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (v_i - \mu_v)^2}.\end{aligned}$$

The amplitude of the velocity fluctuation at a point can be expressed as

$$\bar{\sigma} = \sqrt{\sigma_u^2 + \sigma_v^2}.$$

From the numerical simulation, a three-dimensional flow field, the amplitude of WSS,

$$WSS = \tau_{WSS} = \sqrt{\tau_x^2 + \tau_y^2 + \tau_z^2}$$

and its spatial gradient (WSSG) in the main flow direction ( $x$  axis)

$$WSSG = \frac{d\tau_{WSS}}{dx}$$

were computed.

To compare the distribution of WSS among the various models, WSS was normalized by the shear stress ( $\tau_{LAM}$ ), which was derived from a laminar profile with identical Reynolds number ( $Re$ ).

$$\tau_{LAM} = \frac{8\bar{v}\rho}{Re},$$

where  $\bar{v}$  is the mean volume velocity and  $\rho$  is the fluid density. The value of normalized WSS ( $WSS_{NORM}$ ) is calculated as

$$WSS_{NORM} = \frac{WSS}{\tau_{LAM}}$$

## RESULTS

In the first part of the study, AG in all 43 patients were evaluated. The anastomosis angle was below  $30^\circ$  in nine patients. Complete obliteration of the host artery was found in 37 patients. Changes in

the intimal morphology were located in 34 patients in the toe, in 42 patients in the heel, and in 40 patients in the floor of the anastomosis.

According to the anastomosis angle (ranging between  $20^\circ$  and  $60^\circ$ ) and the frequency of intimal changes on AG, two groups of patients were distinguished (group A angle  $\leq 30^\circ$ ,  $n = 9$ ; group B angle  $> 30^\circ$ ,  $n = 34$ ). Changes located in the toe of the anastomosis indicating neointimal proliferation were found in 11% in group A and in as much as 97% in group B (Table I), the only observation that proved significant (Fisher's exact test,  $p = 0.036$ ).

In the experimental part of the study, we opted for a model of complete obliteration of the host artery (consistent with the finding of 86% of all anastomoses completely obliterated on AG). Moreover, no relationship between the presence of morphological changes detected on AG and the obliteration (partial versus complete) of the host artery was revealed ( $\chi^2$ ,  $p > 0.05$ ) (Table II).

Visualization of the flow field clearly delineated three zones of fluid stagnation (toe, heel, and floor) in the  $45^\circ$  and  $60^\circ$  models (Fig. 3, bottom), a finding that precisely corresponds to AG studies. Conversely, in the  $25^\circ$  model (Fig. 3, top), only two stagnation points (heel and floor) were identified. This again closely resembles the findings on AG.

Evaluation of the velocity field by PIV revealed elevated WSS in the proximity of stagnation points in the  $45^\circ$  and  $60^\circ$  models, in contrast to the  $25^\circ$  model where no changes were observed. Moreover, more obtuse angles of anastomosis yielded higher values of flow velocity fluctuation in the toe, where the highest rate of changes on AG was observed (Fig. 4). Only slightly increased velocity fluctuation was found in anastomoses with more obtuse angles near the floor, and low values were observed in the heel, regardless of the anastomosis angle.

When comparing the distribution of WSS obtained from the numerical simulation of the  $25^\circ$  and  $45^\circ$  anastomosis models to the flow rate of fluid of arbitrarily set volume density ( $Re = 300, 500, 800, 1,000$ ), it became apparent that WSS was reduced in the case of more acute angles, particularly for higher values of  $Re$ . Similarly, WSSG was markedly decreased for the  $25^\circ$  angle compared to the  $45^\circ$  angle model, particularly in an area extending from the toe distally to  $x = 2D$  (where  $D$  is the diameter of the model) (Fig. 5).

## DISCUSSION

IH has been identified as a frequent cause of late failure of numerous revascularization procedures (bypass surgery, balloon angioplasty, atherectomy,

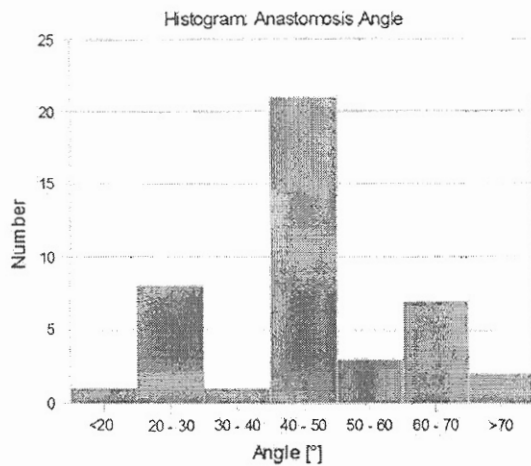


Fig. 2. Flow velocity field in the 25° (top) and 60° (bottom) anastomosis models obtained from PIV. Detail of the anastomosis near the toe (right).

etc.). This constitutes a serious problem of enormous scale. Our present understanding of its development remains somewhat incomplete, and there are no unified guidelines whatsoever as to how to prevent formation and slow down the progression of IH in clinical practice.

The accelerated growth of smooth muscle cells and the surrounding matrix is the principal cause of a long-term failure of end-to-side vascular graft anastomoses.<sup>11</sup> Both clinical and experimental findings in previous studies demonstrated that the hemodynamics—flow pattern and WSS in particular—play a pivotal role in the development and localization of IH.<sup>12-16</sup> However, the process alone is far more complicated. WSS magnitude and direction modulate cytoskeletal arrangement and expression of many growth factors. For example, nitric oxid synthase, transforming growth factor-beta, fibroblast growth factor 2, endothelin-1, platelet-derived growth factor B, angiotensin-converting enzyme, and vascular endothelial growth factor show a non-uniform change in expression according to WSS in the range of common WSS values (1-6 dyn/cm<sup>2</sup> in the venous system and 10-70 dyn/cm<sup>2</sup> in the arterial system).<sup>17,18</sup> In general, WSS below 5 dyn/cm<sup>2</sup> stimulates an atherogenic/vasoconstrictive profile, whereas values over 15 dyn/cm<sup>2</sup> induce endothelial quiescence; the endothelial response maintains mean arterial WSS magnitude at approximately 15-20 dyn/cm<sup>2</sup>. High WSS values (70 dyn/cm<sup>2</sup> and more) have an adverse effect on endothelial function by causing mechanical injury.<sup>18</sup> Several in vitro studies have investigated the influence of hemodynamics on the progression of anastomosis

dysfunction. The importance of various characteristics such as the angle of the anastomosis,<sup>9,19-22</sup> the symmetry and shape of the anastomosis,<sup>23-25</sup> pulse shape, and inlet velocity profile have been researched.<sup>26</sup> Some authors correlate anastomosis function with different flow characteristics like pressure and WSS magnitude,<sup>27</sup> turbulence intensity, or disproportion between the diameter and compliance of the graft and the host artery.<sup>28-30</sup> Globally decreased WSS is associated with a higher incidence of IH. This was clearly demonstrated by Binns et al.,<sup>31</sup> who measured neointimal thickening in end-to-side polytetrafluorethylene (PTFE) graft anastomoses (diameter 4.6 and 8 mm) in a canine model. They reported that oversized grafts induced lower WSS, resulting in a higher degree of IH, whereas undersized grafts led to an abnormally high WSS, with early thrombosis and graft failure due to mechanical endothelial injury with increased surface wettability. In another study, Kohler et al.<sup>32</sup> demonstrated that increased blood flow and WSS resulted in a significant reduction of neointimal thickening in PTFE grafts in baboons. Similarly, Imperato et al.<sup>33</sup> and Fry<sup>34</sup> found that high-velocity flow and increased shear stress can effectively cause endothelial injury and, thus, sustain reactive subendothelial fibrocollagenous proliferation. Analysis of shear stress in an anastomosis led Faulkner et al.<sup>35</sup> and Giordana et al.<sup>36</sup> to believe that IH in distal anastomosis was a sequela of abnormal flow dynamics.

The question of the optimal angle of end-to-side anastomosis has been studied by numerical simulations (e.g., CFD)<sup>24,25</sup> and mechanical models (e.g., PIV),<sup>7,22,37</sup> as well as in vivo studies.<sup>38,39</sup> The observations were notably unanimous: More acute angles imply decreased vortex and separation zones and reduced intimal thickening. In daily surgical practice, a distal end-to-side anastomosis with an angle below 20° is rarely constructed—the length of an anastomosis increases in  $\sin(\alpha)^{-1}$  proportion to the diameter of the graft, where  $\alpha$  is the anastomosis angle. With a 20° angle the length of an anastomosis is already threefold the diameter of the graft. Moreover, it would be difficult to construct longer (more acute) anastomoses and embed them into their anatomic locations.

In our study, the evaluation of 43 AGs of femoropopliteal bypasses shortly after thrombolysis revealed a predilection for locations of intimal changes—predominantly in the toe, heel, and floor of the anastomoses. The significant difference in the frequency of changes in the toe of the anastomosis is indicative of the propensity of anastomoses with more obtuse angles to develop IH. This is not an unexpected result; however, it is this particular



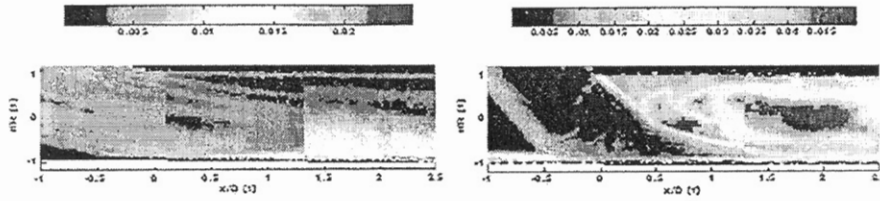


Fig. 4. Visualization of the 25° (top) and the 45° (bottom) anastomosis models in the symmetry plane. Detail of the anastomosis near the toe (right).

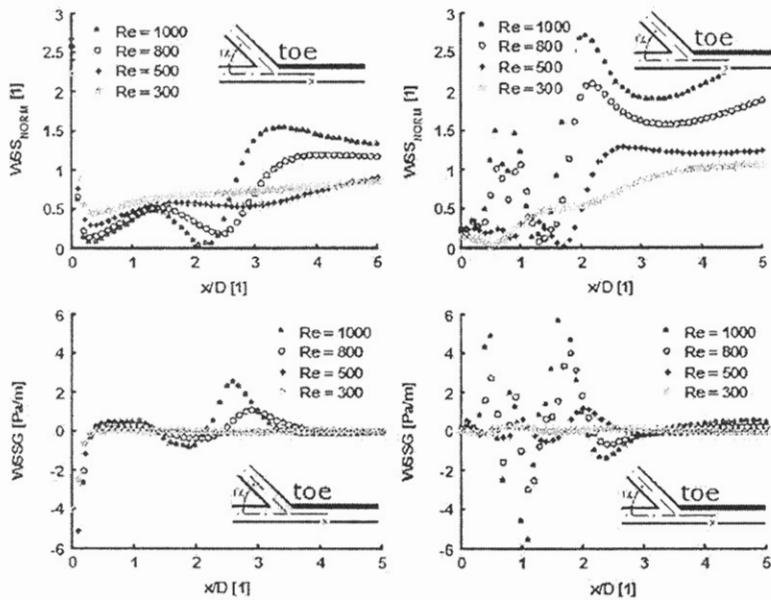


Fig. 5. Color map of fluctuation of flow velocity in the 25° (left) and the 60° (right) anastomosis models obtained from PIV.

several values of Reynolds number even though pulsatile flow cannot be represented by the Reynolds number alone. We used normalized WSS values to compare the models with each other, which was the objective. Due to the simplification of the model, it would be misleading to recalculate the values back to the instance. The model has a simplified geometry, neglecting the flexibility of a vessel wall and other factors like disproportion between the diameter and compliance of the graft and the host artery.

## CONCLUSION

The first part of this study involved an analysis of AG findings of 43 successfully thrombolized proximal femoropopliteal bypasses that became occluded within 6 months from the reconstruction. Two groups with markedly different incidences of

pathological changes in the vessel wall near the toe of the distal end-to-side anastomosis were identified. In the group with more acute angles ( $\leq 30^\circ$ ,  $n = 9$ ) changes in the toe occurred in 11% compared to 97% ( $p = 0.036$ ) in the group with more obtuse angles ( $> 30^\circ$ ,  $n = 34$ ).

In the second part of the study, two models (physical [PIV] and numerical [CFD]) of a distal 25°, 45°, and 60° end-to-side anastomosis were created. Evaluation of both models according to flow patterns, stagnation points, WSS, WSSG, and velocity fluctuation near the vessel wall revealed a lower incidence of pathological changes in the anastomoses with more acute angles. These findings closely correspond with the changes found on AG.

This study supports the recommendation that angles below 45° (preferably  $\leq 30^\circ$ ) are convenient for an end-to-side anastomosis and brings further

**Table I.** Tabular data grouped according to the angle of distal anastomosis as viewed on AG

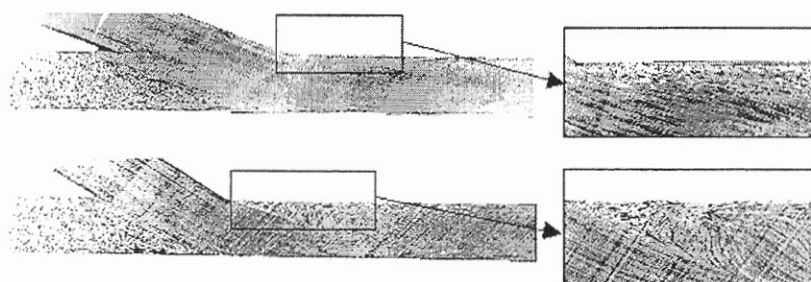
Anastomosis angle	Group size	Obliteration in POS	Intimal changes found in the following locations		
			Toe*	Heel	Floor
≤30°	9	8 (89%)	1 (11%)	9 (100%)	7 (78%)
>30°	34	29 (85%)	33 (97%)	33 (97%)	33 (97%)

Percentage value is relative to the respective group size (\* $p < 0.05$ ). POS, proximal outlet segment.

**Table II.** Tabular data grouped according to the degree of graft obliteration (complete or incomplete) as viewed on AG

Obliteration in POS	Group size	Anastomosis angle >30°	Intimal changes found in the following locations		
			Toe	Heel	Floor
Complete	37	29 (78%)	30 (81%)	37 (100%)	34 (92%)
Incomplete	6	5 (83%)	4 (67%)	5 (83%)	6 (100%)

Percentage value is relative to the respective group size.

**Fig. 3.** Distribution of the anastomosis angle: a histogram.

part of the study that supplies rare clinical evidence of the effect of anastomosis angle on the development of IH in the distal end-to-side anastomosis of a proximal femoropopliteal bypass in humans.

In the experimental part of the study, 25°, 45°, and 60° anastomosis models were used to visualize flow patterns by PIV (experimental model) and CFD (numerical model). In both models, the three locations (toe, heel, floor) in the anastomosis, previously identified on AG, were found to be similar to the locations that showed pathological hemodynamic parameters associated with IH—the presence of a stagnation point and WSSG.

Both models were visualized as shown in Figures 3-6, which provide a self-explanatory insight into the flow type. Immediately, it becomes clear that more acute anastomoses show laminar flow almost throughout the anastomosis, whereas more obtuse angles yield increasingly turbulent flow, especially in the aforementioned locations previously identified on AG with already described pathways leading ultimately to IH.

The influence of WSS on the vessel wall depends to a considerable extent on the time factor and the area affected by WSS or WSSG. More importantly, WSS is related to the anastomosis angle, which can be optimized. Based on the results of this study and further literature data, we strongly believe that introducing the recommended angle of less than 45° (preferably ≤30°) of the distal femoropopliteal end-to-side anastomosis into everyday practice will prolong its life span.<sup>40</sup>

WSS can be experimentally assessed either indirectly by evaluating the flow velocity profile or directly using a special probe (constant temperature anemometry). In our experiment, we chose PIV, an indirect, noninvasive method, for the reason that it does not modify the flow by inserting a probe, like the direct methods do. The CFD model deliberately omits the fact that blood is a non-Newtonian fluid with complicated rheological and mechanical properties that are extremely complex and difficult to simulate. Moreover, we attempted to model nonstationary flow by stationary flow, and we had to choose

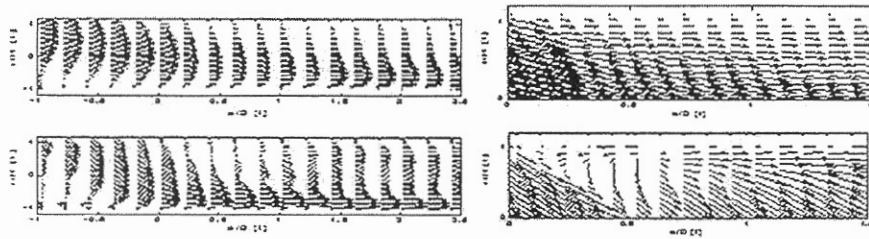


Fig. 6. Distribution of WSS and WSSG in the 25° (left) and the 45° (right) anastomosis models obtained from CFD for various flow rates ( $Re = 300, 500, 800, 1,000$ ). All charts represent WSS or WSSG values as measured along a half-line beginning in the toe of the model, as indicated in the scheme. Nondimensional values on the x axis ( $x/D$ ) represent the distance from the toe of the anastomosis ( $x$ ) relative to the diameter of the tube ( $D$ ).

evidence with an emphasis on the flow characteristics in an anastomosis obtained from experimental and computational models and, furthermore, correlated with human clinical data.

This research was supported by grant GA ĆR 101/05/0675 ("Theoretical and Experimental Optimization of Vascular Reconstructions with Regard to Hemodynamics").

#### REFERENCES

1. Callow AD, Welch CS. Arterial anastomosis in experimental arterial injury. *Surg Gynecol Obstet* 1950;90:77-85.
2. Netrebska H, Schürler M, Matecha J, et al. The stenosis shape influence on the flow pattern in distal end-to-side anastomosis. The 17th International Symposium on Transport Phenomena, Toyama, Japan, 2006.
3. Bryan AJ, Angelini GD. The biology of saphenous vein graft occlusion: etiology and strategies for prevention. *Curr Opin Cardiol* 1994;9:641-649.
4. Cheshire NJ, Wolfe JH. Infrainguinal graft surveillance: a biased overview. *Semin Vasc Surg* 1993;6:143-149.
5. Kleinstreuer C, Hyun S, Buchanan JR, et al. Hemodynamic parameters and early intimal thickening in branching blood vessels. *Crit Rev Biomed Eng* 2001;29:1-64.
6. Callow AD, Balas E, Aboulafia ED. Functional similarity of bypass arterial collateral vessel: studied on delayed occlusion in alternative arterial channels. *Ann Surg* 1962;156:24-29.
7. Grus T, Lindner J, Vik K, et al. Particle image velocimetry measurement in the model of vascular anastomosis. *Prague Med Rep* 2007;108:75-86.
8. Tuma J, Matecha J, Adamec J. Numerical study of the flow behind the end-to-side anastomosis. Seoul, Korea: World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, 2006. pp 2698-2701.
9. Pousset Y, Lermusiaux P, Berton G, et al. Numerical model study of flow dynamics through an end-to-side anastomosis: choice of anastomosis angle and prosthesis diameter. *Ann Vasc Surg* 2006;20:773-779.
10. Adamec J, Matecha J, Netrebska H, et al. Flow pattern and shear stress distribution in distal end-to-side anastomosis. *Acta Bioeng Biomech* 2006;8:3-12.
11. LoGerfo FW, Quist WC, Nowak MD, et al. Downstream anastomotic hyperplasia. A mechanism of failure in dacron arterial grafts. *Ann Surg* 1983;197:479-483.
12. Davies PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995;75:519-560.
13. Haruguchi H, Teraoka S. Intimal hyperplasia and hemodynamic factors in arterial bypass and arteriovenous grafts: a review. *J Artif Organs* 2003;6:227-235.
14. Bassiouny HS, White S, Glagov S, et al. Anastomotic intimal hyperplasia: mechanical injury or flow induced. *J Vasc Surg* 1992;15:708-716.
15. Berguer R, Higgins RF, Reddy DJ. Intimal hyperplasia: an experimental study. *Arch Surg* 1980;115:332-335.
16. Keynton RS, Evancho MM, Sims RL, et al. Intimal hyperplasia and wall shear in arterial bypass graft distal anastomoses: an in vivo model study. *J Biomech Eng* 2001;123:464-473.
17. Passerini AG, Milsted A, Rittgers SE. Shear stress magnitude and directionality modulate growth factor gene expression in preconditioned vascular endothelial cells. *J Vasc Surg* 2003;37:182-190.
18. Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *J A M A* 1999;282:2035-2042.
19. Jackson ZS, Ishibashi H, Gottlieb AJ, et al. Effects of anastomotic angle on vascular tissue responses at end-to-side arterial grafts. *J Vasc Surg* 2001;34:300-307.
20. Lee D, Su JM, Liang HY. A numerical simulation of steady flow fields in a bypass tube. *J Biomech* 2001;34:1407-1416.
21. Chua LP, Yu SCM, Tam WP. PIV measurements of proximal models with different anastomotic angles. *Int Commun Heat Mass Transfer* 2000;27. doi:10.1016/S0735-1933(00)00134-2.
22. Ojha M, Cobbold RS, Johnston KW. Influence of angle on wall shear stress distribution for an end-to-side anastomosis. *J Vasc Surg* 1994;19:1067-1073.
23. Khunatorn Y, Mahalingam S, DeGroff CG, et al. Influence of connection geometry and SVC-IVC flow rate ratio on flow structures within the total cavopulmonary connection: a numerical study. *J Biomech Eng* 2002;124:364-377.
24. Walsh MT, Kavanagh EG, O'Brien T, et al. On the existence of an optimum end-to-side junctional geometry in peripheral bypass surgery—a computer generated study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003;26:649-656.
25. Papaharilaou Y, Doorly DJ, Sherwin SJ. The influence of out-of-plane geometry on pulsatile flow within a distal end-to-side anastomosis. *J Biomech* 2002;35:1225-1239.
26. Ethier CR, Steinman DA, Zhang X, et al. Flow waveform effects on end-to-side anastomotic flow patterns. *J Biomech* 1998;31:609-617.
27. Siouffi M, Deplano V, Pélissier R. Experimental analysis of unsteady flows through a stenosis. *J Biomech* 1998;31:11-19.
28. Hughes PE, How TV. Flow structures at the proximal side-to-end anastomosis: influence of geometry and flow division. *J Biomech Eng* 1995;117:224-236.

29. Greenwald SE, Berry CL. Improving vascular grafts: the importance of mechanical and haemodynamic properties. *J Pathol* 2000;190:292-299.
30. Longest PW, Kleinstreuer C, Archie JP. Particle hemodynamics analysis of Miller cuff arterial anastomosis. *J Vasc Surg* 2003;38:1353-1362.
31. Binns RL, Ku DN, Stewart MT, et al. Optimal graft diameter: effect of wall shear stress on vascular healing. *J Vasc Surg* 1989;10:326-337.
32. Kohler TR, Kirkman TR, Kraiss LW, et al. Increased blood flow inhibits neointimal hyperplasia in endothelialized vascular grafts. *Circ Res* 1991;69:1557-1565.
33. Imparato AM, Bracco A, Kim GE, et al. Intimal and neointimal fibrous proliferation causing failure of arterial reconstructions. *Surgery* 1972;72:1007-1017.
34. Fry DL. Arterial intimal-medial permeability and coevolving structural responses to defined shear-stress exposures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H2341-H2355.
35. Faulkner SL, Fisher RD, Conkle DM, et al. Effect of blood flow rate on subendothelial proliferation in venous autografts used as arterial substitutes. *Circulation* 1975;52(2 Suppl.):1163-1172.
36. Giordana S, Sherwin SJ, Peiró J, et al. Local and global geometric influence on steady flow in distal anastomoses of peripheral bypass grafts 2005. *J Biomech Eng* 2005;127:1087-1098.
37. Knapp Y, Bertrand E, Mouret BF. 2D-PIV measurements of the pulsative flow in a left heart simulator. Proceedings of Pacific Symposium on Flow Visualization and Image Processing (PSFVIP-4), Chamonix, France, June 3-5, 2003.
38. Fan Y, Xu Z, Jiang W, et al. An S-type bypass can improve the hemodynamics in the bypassed arteries and suppress intimal hyperplasia along the host artery floor. *J Biomech* 2008;41:2498-2505.
39. Wijesinghe LD, Mahmood T, Scott DJ. Axial flow fields in cuffed end-to-side anastomoses: effect of angle and disease progression. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1999;18:240-244.
40. Rutherford RB. *Vascular Surgery*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.

## APPENDIX

Mean flow velocity in  $x$  and  $y$  axes ( $\mu_u$ ,  $\mu_v$ ) and their respective standard deviations ( $\sigma_u$ ,  $\sigma_v$ ) calculated from PIV measurement:

$$\mu_u = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N u_i,$$

$$\mu_v = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N v_i \quad \sigma_u = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (u_i - \mu_u)^2},$$

$$\sigma_v = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (v_i - \mu_v)^2}.$$

Amplitude of velocity fluctuation at a point can be expressed as

$$\bar{\sigma} = \sqrt{\sigma_u^2 + \sigma_v^2}.$$