



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

**ÚSTAV MECHANIKY TĚLES, MECHATRONIKY
A BIOMECHANIKY**

INSTITUTE OF SOLID MECHANICS, MECHATRONICS AND BIOMECHANICS

**ANALÝZY STRUKTURY KOLAGENNÍCH VLÁKEN VE
STĚNĚ TEPNY POMOCÍ MODERNÍCH METOD
SVĚTELNÉ MIKROSKOPIE**

ANALYSES OF STRUCTURE OF COLLAGEN FIBRES IN ARTERIAL WALL USING MODERN
METHODS OF LIGHT MICROSCOPY

ZKRÁCENÁ VERZE PHD THESIS

OBOR

Inženýrská mechanika

AUTOR PRÁCE

Ing. Michaela Turčanová

ŠKOLITEL

prof. Ing. Jiří Burša, Ph.D.

BRNO 2023

Klíčová slova

Struktura měkkých tkání, orientace a rozptyl kolagenních vláken, vlnitost, světelná polarizační mikroskopie, konfokální mikroskopie, mechanické vlastnosti

Keywords

Soft tissue structure, collagen fibre direction and dispersion, waviness, polarized light microscopy, confocal microscopy, mechanical properties

Místo uložení práce

Vysoké učení technické v Brně

Fakulta strojního inženýrství

Ústav mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky

Technická 2896/2

616 69 Brno

© Michaela Turčanová, 2023

ISBN 80-214-

ISSN 1213-4198

Obsah

ÚVOD	5
1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	6
2 CÍLE PRÁCE	8
3 ALGORITMUS	9
4 EXPERIMENTY	11
4.1 HODNOCENÍ SMĚRŮ PŘI RADIÁLNÍM STLAČENÍ	11
4.2 HODNOCENÍ SMĚRŮ PŘI DVOUOSÉM TAHU . . .	13
5 PARAMETRY	16
5.1 PLM	16
5.2 CLSM	18
6 VLNITOST	20
6.1 GLOBÁLNÍ SMĚRY	20
7 ZÁVĚR	24
LITERATURA	26
ŽIVOTOPIS	29
ABSTRAKT	30

ÚVOD

Kolagen je nejčastěji zastoupený protein v lidském těle. Vyskytuje se např. v cévách, chrupavkách, šlachách, rohovkách, srdeční svalovině (myokardu) nebo srdečních chlopních. Kolagenní vlákna chrání stěnu cévy při vysokých tlacích nebo při velkých deformacích a za těchto podmínek jsou hlavními nositeli zatížení. Bez zatížení jsou vlákna zvlněná a je obtížné rozlišit mezi jejich vlnitostí a rozptylem. [1, 2]

Výpočtové modelování zdravých i patologických stavů tepen může pomoci při vyhodnocování rizika ruptury aortálního aneurysmatu nebo správného načasování operativního zákroku. V nedávno publikované práci [2] je ukázána důležitost stanovení strukturních parametrů kolagenních vláken v tepnách (počet rodin vláken, jejich hlavní směry, rozptyl kolem těchto směrů a vlnitost) a jejich nalezení na základě analýzy mikrohistologických snímků. Pro zjištění těchto parametrů se používají snímky ze světelné nebo fluorescenční mikroskopie a jejich manuální nebo automatické vyhodnocení.

V první části práce je popis stěny tepny a rešerše metod pro detekci orientace vláken, jejich rozptylu a vlnitosti. Druhá část práce popisuje nově vytvořený automatický algoritmus pro detekci orientace a rozptylu z mikrosnímků cév pod polarizovaným světlem a shrnutí hyperelastických konstitutivních modelů. Algoritmus byl verifikován, validován a použit pro vyhodnocení několika experimentů pro zjištění vlivu různé velikosti biaxiální deformace na orientaci a rozptyl vláken. Ty jsou popsány ve třetí části práce spolu s již vyhodnocenými strukturními parametry pro prasečí a lidskou aortu. Lidské aorty byly vyhodnocovány i pod laserovým skenovacím konfokálním mikroskopem pro vyhodnocení vlnitosti kolagenních vláken a jejich globálních směrů, jelikož většina metod včetně polarizované mikroskopie nám je schopna dát pouze informace o lokálních směrech vláken. Tyto nové poznatky o strukturních parametrech cévní stěny budou moci být použity jako vstupy do konstitutivních modelů, které pomohou zlepšit biomechanické simulace.

1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Tepny jsou cévy vedoucí okysličenou krev od srdce do jednotlivých orgánů mající zpravidla trojvrstevnou strukturu. [3].

Tunica intima (TI) je vnitřní vrstva cév vystlána mnohostrannými buňkami endotelu, které zajišťují kontrolovaný transport látek přes cévní stěnu a hladký povrch pro proudění krve. Tunica media (TM) je prostřední a zpravidla nejtlustší vrstva stěny tepen. Sestává z hladkých svalových buněk, elastinových a kolagenních fibril, dobře tak odolává obvodovému zatížení od krevního tlaku a je považována za hlavní nosnou vrstvu. Tunica adventitia (TA) je vnější vrstva cév a je tvořena z fibroblastů, fibrocytů a tlustých svazků kolagenu. Kolagenní vlákna jsou zvlněná a s rostoucím zatížením se narovávají, zpevňují celou stěnu cévy a zabraňují tak nadměrné deformaci nebo vzniku ruptury. [4]

Příspěvkem této práce bude analýza struktury kolagenních vláken ve stěně tepny pomocí světelné mikroskopie. Z prostudovaných studií je evidentní, že každá vrstva cévy má trochu jiné vlastnosti (je nehomogenní) a jsou anizotropní, tzn. žádoucí použití strukturního konstitutivního modelu materiálu.

Většina autorů se shoduje na obvodovém rozložení kolagenních vláken v TM [5–11]. U TA jsou výsledky už rozdílnější. Pro mozkové cévy je určeno obvodové rozložení s mnoha směrovou sítí vláken na jejím povrchu [5, 8, 12], pro břišní aortu byly určeny dvě rodiny vláken blíže k axiálnímu směru [9, 13, 14], nebo jedna diagonální rodina vláken [11, 14], pro krční tepny jedna dominantní rodina v obvodovém směru [10, 15], nebo čtyři rodiny vláken [16]. Zde se ale může jednat i o dvě zvlněné rodiny vláken, jelikož měření probíhalo bez zatížení. O TI se objevují také různorodé informace. Převažuje názor na dvě rodiny vláken uspořádaných blízko obvodovému směru [13, 17], studie [10] na prasečích krčních tepnách uvádí jednu obvodovou skupinu vláken.

U většiny prací se jedná o vyhodnocené lokální směry vláken, protože to vychází z podstaty při vyhodnocování snímků z polarizační

(PLM) nebo fluorescenční mikroskopie, a žádná z prací nediskutuje vliv zvlnění vláken na jejich globální směr, který se oproti lokálním směrům může významně lišit. Dalším problémem je nesprávné použití bimodální distribuce, jelikož ji používají hlavní strukturně motivované konstitutivní modely, aniž by bylo provedeno srovnání s unimodální distribucí, která by mohla poskytnout srovnatelnou kvalitu přizpůsobení [10, 15, 18]. Dále nehomogenita tkáně v jednotlivých vrstvách je často mylně vykládána a prezentována jako bimodální distribuce [17, 19]. Dále je v této době oblíbené použití manuální metody pomocí PLM. Na její nedostatky upozorňuje až Schriebl a kol. [13], přitom ji mnoho autorů dál používá. Shrnutí nevýhod manuální metody:

- časová náročnost,
- různá intenzita vláken může způsobit špatné vyhodnocení (např. podhodnocení rozptylu vláken nebo určení více dominantních směrů, než ve tkáni ve skutečnosti je),
- velká plocha vzorku a velký počet naměřených bodů může vést k únavě operátora a tedy k nesprávnému zaznamenání úhlu, naopak malý počet analyzovaných bodů může vést k nesprávnému vyhodnocení hlavních směrů vláken.

Existuje několik přístupů, jak zobrazit kolagenní vlákna v měkkých tkáních, ale každý má určitá omezení. Například metoda *Small Angle Light Scattering* (SALS) [10], je přesná, ale velmi časově náročná. Metody založené na fluorescenční mikroskopii, jako je konfokální laserová skenovací mikroskopie (CLSM) [15, 16] nebo multifotonová mikroskopie [20], jsou přesné a rychlé, ale vyžadují drahé mikroskopické vybavení a většinou složité barvení vzorku. Nesymetrická krystalická trojšroubovicová struktura kolagenu umožňuje emitovat světlo druhé harmonické generace (SHG) používané v multifotonové nebo konfokální mikroskopii. Tanaka a kol. použili polarizační mikroskopii se SHG k zobrazení orientace kolagenu v lidské pokožce obličeje *in vivo* [21]. Tato metoda se ukázala jako zvláště vhodná pro pozorování a analýzu orientace kolagenu v relativně jednoduchých tkáních, např. v kůži nebo šlachách, ale není příliš vhodná pro složitější tkáně (cévní stěny).

Z představených studií jde vidět, že fluorescenční mikroskopie je vhodná metoda pro získání vlnitosti vláken. Studie získaly číselné záznamy o vlnitosti ve formě parametru vlnitosti (přímosti) nebo amplitudy zvlnění, podle dostupných informací se ale nikdo nezabýval, jak ji lze odlišit od rozptylu samotných svazků vláken nebo zahrnout do strukturního modelu materiálu [11, 20, 22], kromě přístupu Rezakhanihové a kol. [16], kde vyhodnotili zvlášť lokální a globální směry vláken a jejich přímost.

2 CÍLE PRÁCE

1. Vyvinout automatizovaný algoritmus pro detekci směrů kolagenních vláken pomocí polarizované mikroskopie a posoudit jeho využitelnost pro určení strukturních parametrů vláken.
2. Srovnat další dostupné metody pro určování směrů kolagenních vláken a vybrat z nich nejvhodnější pro další řešení.
3. Zvládnout odlišení vlnitosti a směrového rozptylu kolagenních vláken na vybrané tkáni.
4. Pomocí výše uvedených metod určit strukturní konstitutivní parametry pro vybrané tkáně.

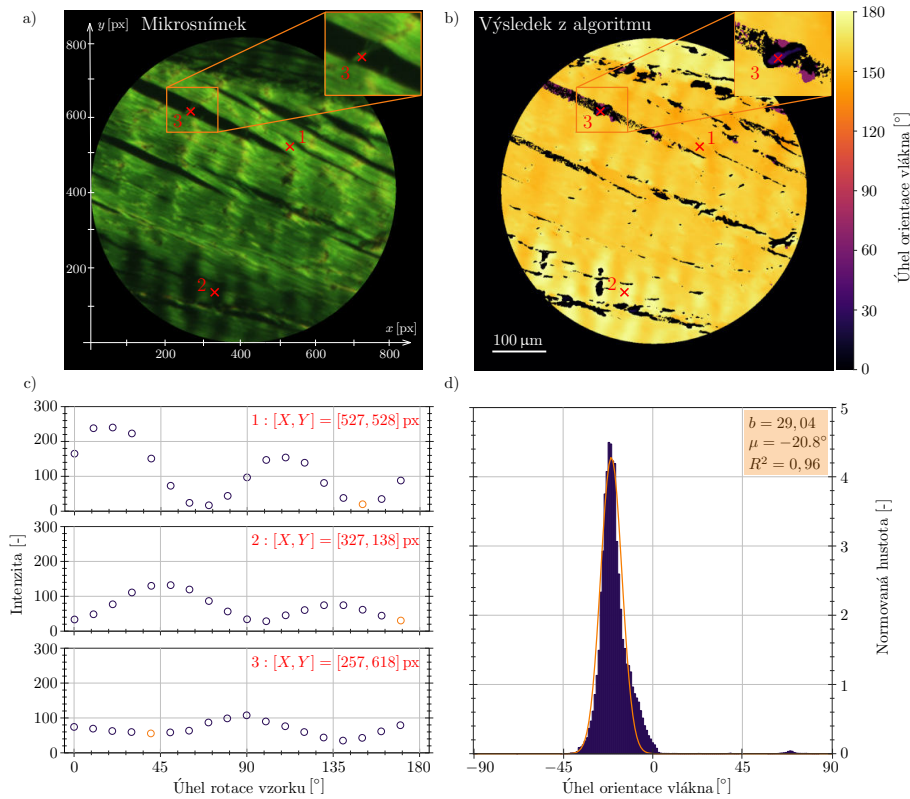
3 ALGORITMUS

Původní algoritmus pro detekci orientace a rozptylu kolagenních vláken byl navržen, verifikován, validován a publikován Novákem a jeho kolektivem v práci [23]. Jeho princip byl založen na sledování změny intenzity světla jednotlivých pixelů třech otočených mikrosnímků pod polarizovaným světlem. Závislost intenzity světla na rotaci vzorku se chová podle funkce kosinus při kolmých filtrech a je periodická po 90° . Algoritmus tedy nebyl schopen vyhodnotit dva navzájem kolmé směry. Studie Nováka a kol. [23] byla zároveň první, kde automatický algoritmus vycházel pouze ze snímků pod zkříženými (později vychýlenými) polarizátory a nepotřeboval tak ke korektnímu vyhodnocení hlavních směrů kolagenních vláken a jejich rozptylu žádné přídatné zařízení jako jsou čtvrtvlnové destičky nebo univerzální kompenzátory [24–29].

Navržené řešení je pomocí snímků s vychýlenými polarizátory oproti jejich původnímu kolmému nastavení. Vychýlení polarizátorů způsobuje změnu v periodicitě průběhu intenzity světla ve sledovaném pixelu vlákna z 90° na 180° .

Vyhodnocovaná oblast na tkáni je nejprve snímkována po 30° (celkem 6 snímků) s analyzátozem kolmým k polarizátoru; tato pozice polarizátorů odpovídá úhlu analyzátoru $\delta = 0^\circ$. Algoritmus tyto snímky orotuje zpět a sesadí na první snímek (pomocí fázové korelace obrazů) a vyhodnotí intenzitu světla v každém pixelu. Orientace vlákna se rovná úhlu vyhasnutí vlákna (minimu intenzity), ty jsou ale na kosinové funkci dvě. Druhá sada 6 snímků s vychýlenými polarizátory ($\delta \neq 0^\circ$) pomáhá v rozhodnutí, které ze dvou minim v rozsahu 180° je to správné. Minimum nalevo od vzrostlého maxima je ono hledané minimum, viz obr. 3.1. Detailní popis algoritmu, jeho validace i verifikace byly publikovány v časopise *BioMed Research International* v roce 2021 [30].

Druhá sada snímků měřených vychýlenými polarizátory slouží pouze jako pomůcka, která umožňuje volit mezi dvěma vzájemně kolmými orientacemi vláken určenými v prvním kroku. Nakonec, abychom získa-



Obrázek 3.1: Verifikace algoritmu na třech různých místech ve vybrané oblasti vzorku prasečí Achillovy šlachy. a) Mikrosnímek při $\delta = 0^\circ$. b) Mikrosnímek vyhodnocený navrhovaným algoritmem. c) Závislost intenzity světla ve vybraných třech pixelech na úhlu natočení vzorku s vychýlenými polarizátory. Minimum nalevo hlavního maxima (oranžový kroužek) označuje úhel vlákna. d) Histogram získaný pro všechny pixely s interpolací pomocí von Misesovy distribuční funkce. Vodorovný směr odpovídá 0° .

li strukturální parametry potřebné pro konstitutivní modely, je výsledný histogram (obrázek d) proložen von Misesovou distribuční funkcí [4]:

$$\varrho(\varphi) = \frac{e^{(b \cos(2(\varphi - \mu)))}}{\pi I_0(b)}, \quad (3.1)$$

kde b je parametr koncentrace, μ je střední úhel distribuce, φ je úhel vlákna ve vyšetřovaném pixelu a $I_0(b)$ je Besselova funkce.

4 EXPERIMENTY

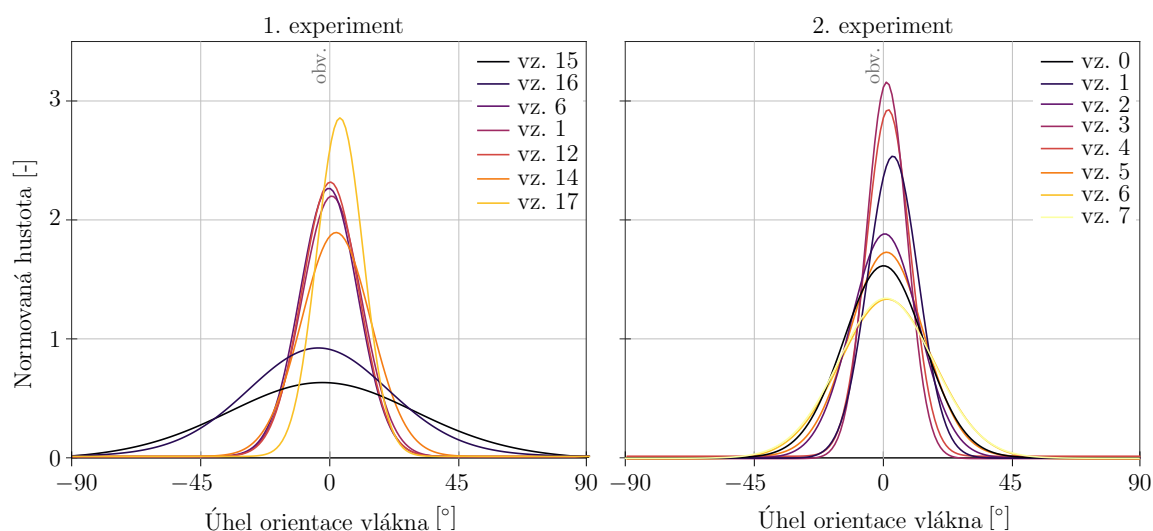
PLM i většina uvedených metod poskytuje informace spíše o lokálních směrech vláken (v každém pixelu, popř. v malé oblasti ROI), než o globálních směrech potřebných pro konstitutivní modely. Některé nedávné studie naznačují, že vztah mezi lokálními a globálními směry by mohl být vyřešen analýzou rozložení směrů vláken pod zatížením, čímž by se eliminovaly účinky vlnitosti [1, 9, 10, 13, 15, 20, 31, 32]. Proto bylo provedeno hodnocení změn v distribuci orientace kolagenních vláken ve stěně prasečí aorty při radiálním stlačení a dvouosém tahu a porovnány různé aproximace získaných histogramů. K vyhodnocování byl použit univerzální trinokulární polarizační mikroskop s rotačním stolem Padim Drex a 5MPx mikrokamerou Bresser Optik, GmbH.

Histologické řezy byly připraveny ve Fakultní nemocnici u sv. Anny v Brně (FNUSA) podle následujícího postupu. Z aort byly vyříznuty čtverce o velikosti 18×18 mm, které byly po deformaci fixovány v 10% formaldehydu při pokojové teplotě po dobu nejméně 24 hodin. Poté byly vzorky podrobeny dalším nutným procesům a to namočením do alkoholu, které způsobí odvodnění vzorku, následně ponořením do xylenu, který vzorek prosytí, a díky kterému se lépe do něj dostane parafín. Po zalití parafínem vždy následuje proces v autotechnikonu (odvodňovací tkáňový automat) a dekalifikace, pokud jsou ve tkáni vápenaté složky, které by bránily nařezání vzorku. Dále byly vzorky z aort nařezány ve všech třech rovinách, pokud to bylo možné, na tenké plátky o tloušťce $5 - 7 \mu\text{m}$. V poslední fázi byly plátky zbaveny přebytečného vosku, ponořeny do xylenu, poté do alkoholu, následně do destilované vody a nakonec obarveny barvivem PSR (0,1%).

4.1 HODNOCENÍ SMĚRŮ PŘI RADIÁLNÍM STLAČENÍ

U 9 vzorků prasečí aorty byla změřena tloušťka v pěti bodech, poté byly vzorky vloženy do přípravku. U každého vzorku byla nastaven počáteční referenční stav, kdy šroubovací část s hlavicí se dotýkala

horního skla, ale vzorek ještě nestlačovala. Vzorky byly následně stlačeny s různou mírou deformace a po fixaci jim byla změřena jejich tloušťka v pěti bodech. Jelikož byly vzorky umístěny mezi dvěma sklíčky, formaldehyd nezafixoval tkáň dostatečně a vzorky se po vyjmutí zkroutily. Řezy z obvodově-axiální roviny nebylo možné provést. Tento experiment byl proveden pro dvě sady vzorků. Na každém vzorku bylo náhodně vybráno 10 oblastí, které byly nasnímkovány pod polarizačním mikroskopem při zkřížených i vychýlených polarizátorech (10x objektiv, velikost snímku: 1280×960 px, velikost vyhodnocené oblasti na jednom řezu: 2×2 mm). Dále je ukázáno srovnání experimentů na distribučních von Misesových funkcích 4.1 a v grafu 4.2. Parametr koncentrace b a hlavní směr vláken μ byl získán z von Misesovy distribuční funkce zavedené v rovnici 3.1.

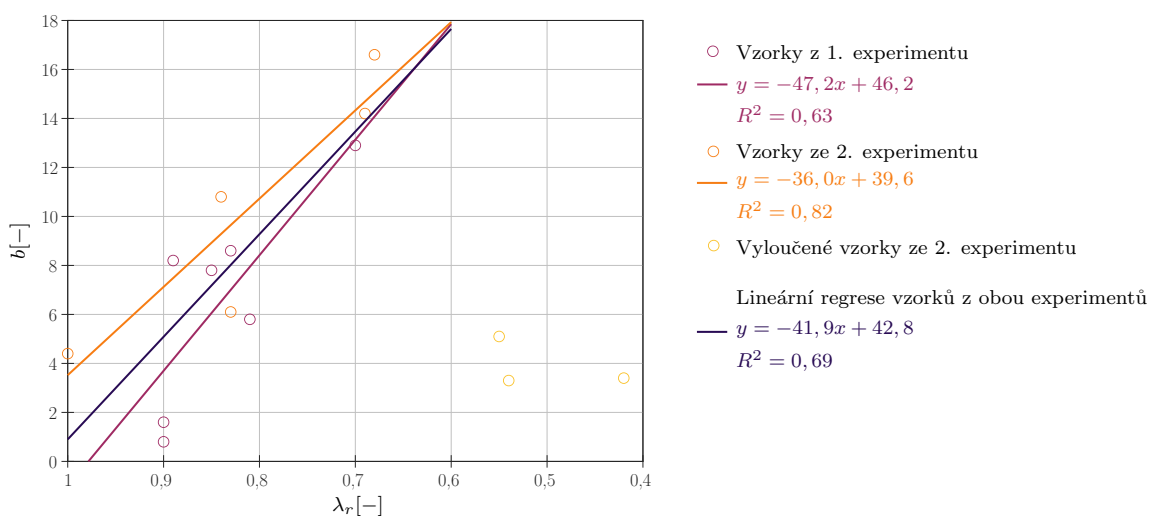


Obrázek 4.1: Srovnání trendů rozptylů a orientací vláken u vzorků z prvního a druhého experimentu. Obvodový směr zde značí 0° .

Z tabulky 4.1 i distribučních funkcí 4.1 je zřejmé, že se hlavní směr vláken nemění a jeho střední hodnota z obou experimentů je $0,48^\circ \pm 1,9$, koncentrace vláken se zvyšuje s deformací a má unimodální charakter, viz graf 4.2.

Tabulka 4.1: Srovnání namáhaných vzorků podle poměrného protažení λ_r v radiálním směru u prvního a druhého experimentu.

1.	15	16	6	1	12	14	17	
$\lambda_r[-]$	0,9	0,9	0,89	0,85	0,83	0,81	0,7	
$b[-]$	0,8	1,6	8,2	7,8	8,6	5,8	12,9	
$\mu[^\circ]$	-1,7	-4,6	-0,51	0,3	-0,15	1,7	2,9	
R^2	0,73	0,89	0,91	0,90	0,94	0,97	0,97	
2.	0	1	2	3	4	5	6	7
$\lambda_r[-]$	1,0	0,84	0,83	0,68	0,69	0,55	0,54	0,42
$b[-]$	4,4	10,8	6,1	16,6	14,2	5,1	3,3	3,4
$\mu[^\circ]$	0,4	3,3	0,5	1,2	1,7	1,1	1,3	-0,3
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,97	0,99



Obrázek 4.2: Závislost poměrného protažení λ_r v radiálním směru vzorku a parametru koncentrace b obou experimentů s jejich lineární regresí metodou nejmenších čtverců.

4.2 HODNOCENÍ SMĚRŮ PŘI DVOUOSÉM TAHU

Speciální přípravek na dvojosé tahové zatížení byl navržen tak, aby překonal limitaci nedostatečné fixace stlačených vzorků, a aby mohl být umístěn v digestoři po celou dobu fixace vzorků.

Na každém histologickém řezu bylo nasnímkováno a vyhodnoceno 9 oblastí ve středu vzorku. Výsledné histogramy byly aproximovány unimodální nebo bimodální von Misesovou distribuční funkcí (viz rovnice 3.1 a 4.1), kde b (b_1, b_2) je parametr koncentrace, μ (μ_1, μ_2) je lokální směr vláken:

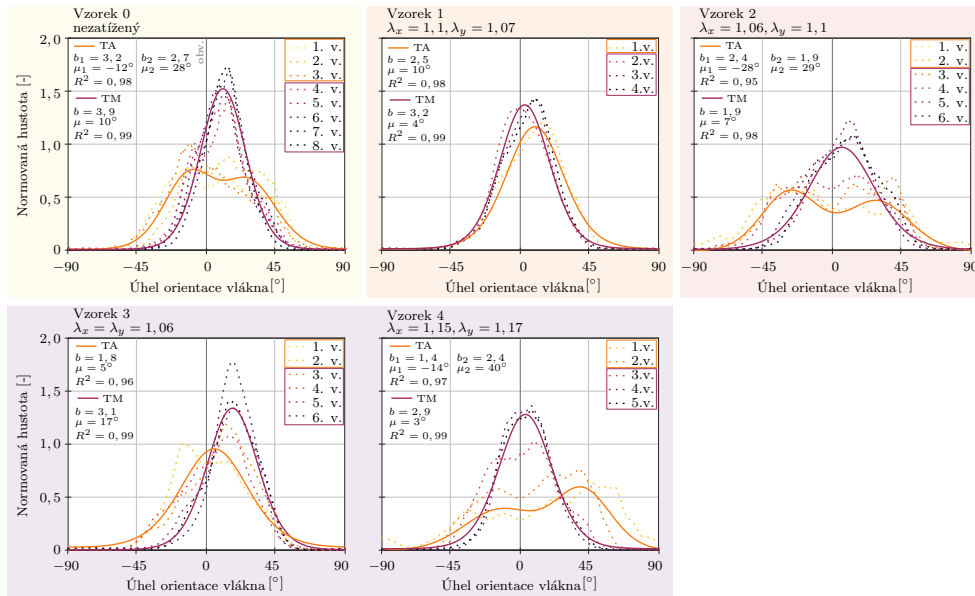
$$\rho_{bi}(\varphi) = \exp \frac{(b_1 \cos(2 \cdot (\varphi - \mu_1)))}{2\pi I_0(b_1)} + \exp \frac{(b_2 \cos(2 \cdot (\varphi - \mu_2)))}{2\pi I_0(b_2)}. \quad (4.1)$$

Více jak polovina vrstev u každého vzorku byla považována za vnitřní část aorty TM+TI (dále značeno pouze jako TM) a zbytek za vnější TA. Unimodální nebo bimodální rozdělení bylo určeno vyšším koeficientem determinace R^2 . Pokud u obě distribuce dávaly $R^2 > 0,9$ a R^2 u unimodální nebylo nižší oproti bimodální o více než 0,05, byla upřednostněna unimodální distribuce.

Vzorky ze tří prasečích aort byly deformovány s různou mírou bi-axiální deformace. Na obrázku 4.3 je vyhodnocený jeden nezatížený vzorek (žluté pozadí), jeden vzorek s větším zatížením v ose x (oranžové pozadí) a ose y (červené pozadí) a dva vzorky, u kterých bylo cílem rovnoměrné zatížení do obou směrů (fialové pozadí), z první prasečí aorty (1AO).

Pro nízký počet vyhodnocených nezatížených vzorků z aort 1AO, 2AO a 3AO, byly histologicky zpracovány a vyhodnoceny ještě vzorky z aort 4AO a 5AO v pouze nezatíženém stavu. Zatížené vzorky prasečích aort byly seřazeny podle zvoleného zatížení a rozděleny do tří skupin (obvodově dominantní, axiálně dominantní a ekvibi-axiální). Výsledné strukturní parametry z nezatížených i zatížených vzorků z obvodově-axiální roviny pro TA a TM jsou v disertační práci.

Experimenty ukázaly dominantně obvodovou orientaci kolagenních vláken i v nezatíženém stavu, potvrzenou pro unimodální i bimodální distribuci. Střední úhel ω_{pr} nevykazoval žádné změny a zůstal blízko nule (obvodovému směru) při jakémkoli zatížení. Koncentrace se zvyšovala (snižovala) s dominantně obvodovým (axiálním) zatížením. Ačkoli je tento efekt vysoce očekáván, pro rozptýlená spirálová vlákna není



Obrázek 4.3: Surové histogramy (tečkovaně) hlavních směrů kolagenních vláken v pěti vzorcích 1AO namáhaných na speciálním přípravku. Plné čáry představují bimodální nebo unimodální von Misesovu distribuční funkci pro TA (oranžová) a TM (fialová). Obvodový směr značí 0°.

důvod pro jejich reorientaci při ekvibiaxiálním zatížení, zatímco zvlněná vlákna se musí prodlužovat při ekvibiaxiálním natahování podobně jako u jednoosého. Úhel φ_{pr} mezi oběma rodinami vláken se neměnil s příčným zatížením a klesal podobně s ekvibiaxiálním a podélným jednoosým zatížením. Tento efekt opět nemohl nastat u dvou rozptýlených rodin vláken, kdy ekvibiaxiální deformace neindukuje žádnou rotaci vlákna, ale podporuje hypotézu o jedné rodině vlnitých vláken, která se při ekvibiaxiálním a jednoosém zatížení podobně narovnávají.

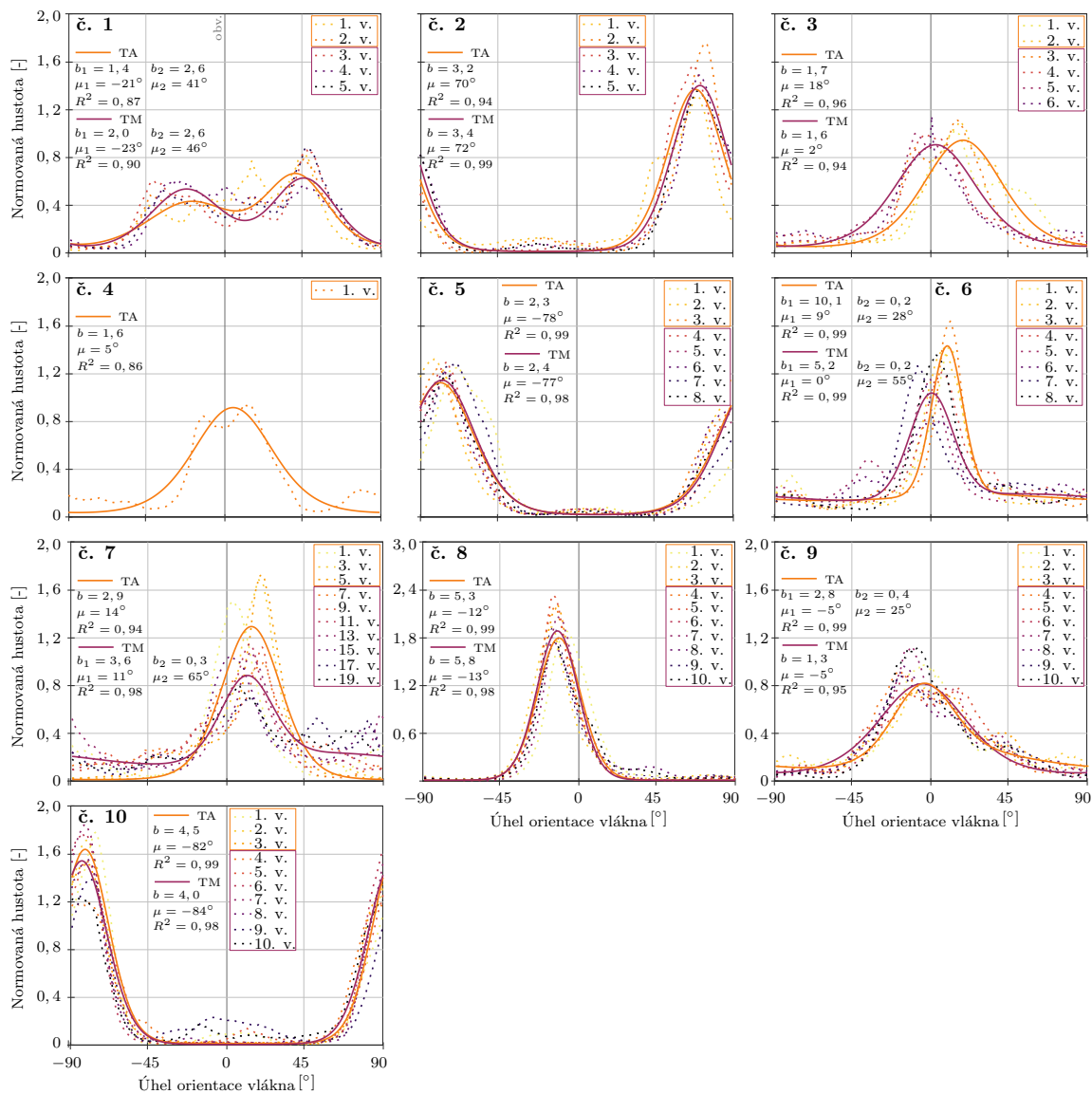
5 PARAMETRY

Pro analýzu *in vitro* vzorků z 10 lidských břišních aort z kadaverů (průměrný dosažený věk 84 ± 8 let, 6 žen, 4 muži) byl použit jednak automatický algoritmus pro snímky z PLM a jednak software ImageJ pro snímky z laserového skenovacího konfokálního mikroskopu (CLSM) Leica TCS SP8X, který je k dispozici na Ústavu biomedicínského inženýrství FEKT VUT. Vzorky pro tyto dvě metody byly odebrány vždy v těsné blízkosti vedle sebe v Anatomickém ústavu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně, opatřeny markery pro zachování jejich orientace a zafixovány.

5.1 PLM

Pro polarizační mikroskopii byly vzorky nachystány, nasnímkovány a vyhodnoceny stejným způsobem, jako byly připraveny prasečí aorty v předchozí kapitole (5x objektiv, velikost vyhodnocené oblasti na jednom řezu: 4×4 mm, tloušťka řezu: $5 - 7 \mu\text{m}$). Výsledné histogramy s distribučními funkcemi a celkovými daty jsou v grafu 5.1 a v tabulce v disertační práci.

Histogramy ukazují v 7 případech z 10 (1, 3, 4, 6, 7, 8 a 9) na unimodální nebo bimodální distribuci blízko obvodového směru přes všechny dostupné řezy. Ve třech případech (2, 5 a 10) ukazují unimodální distribuci v blízkosti axiálního směru vláken. To může být způsobeno lokálním uspořádáním kolagenu v důsledku možné aterosklerózy vzhledem k vysokému stáří dárců. Vrstvy zařazené do TM ve všech dostupných případech kopírovaly trend vyhodnocený pro TA. Pro porovnání unimodální a bimodální von Misesovou distribuční funkcí byla použita stejná pravidla jako u prasečích aort v předchozí kapitole. Metoda PLM umožňuje vyhodnotit pouze lokální směry kolagenních vláken a neumožňuje vyhodnotit vlnitost, ta bude vyhodnocena za pomoci snímků z konfokálního mikroskopu v další podkapitole.



Obrázek 5.1: Surové histogramy (tečkované) s aproximací von Misesovou distribuční funkcí (plně) pro TA a TM lidských aort vyhodnocené pomocí PLM.

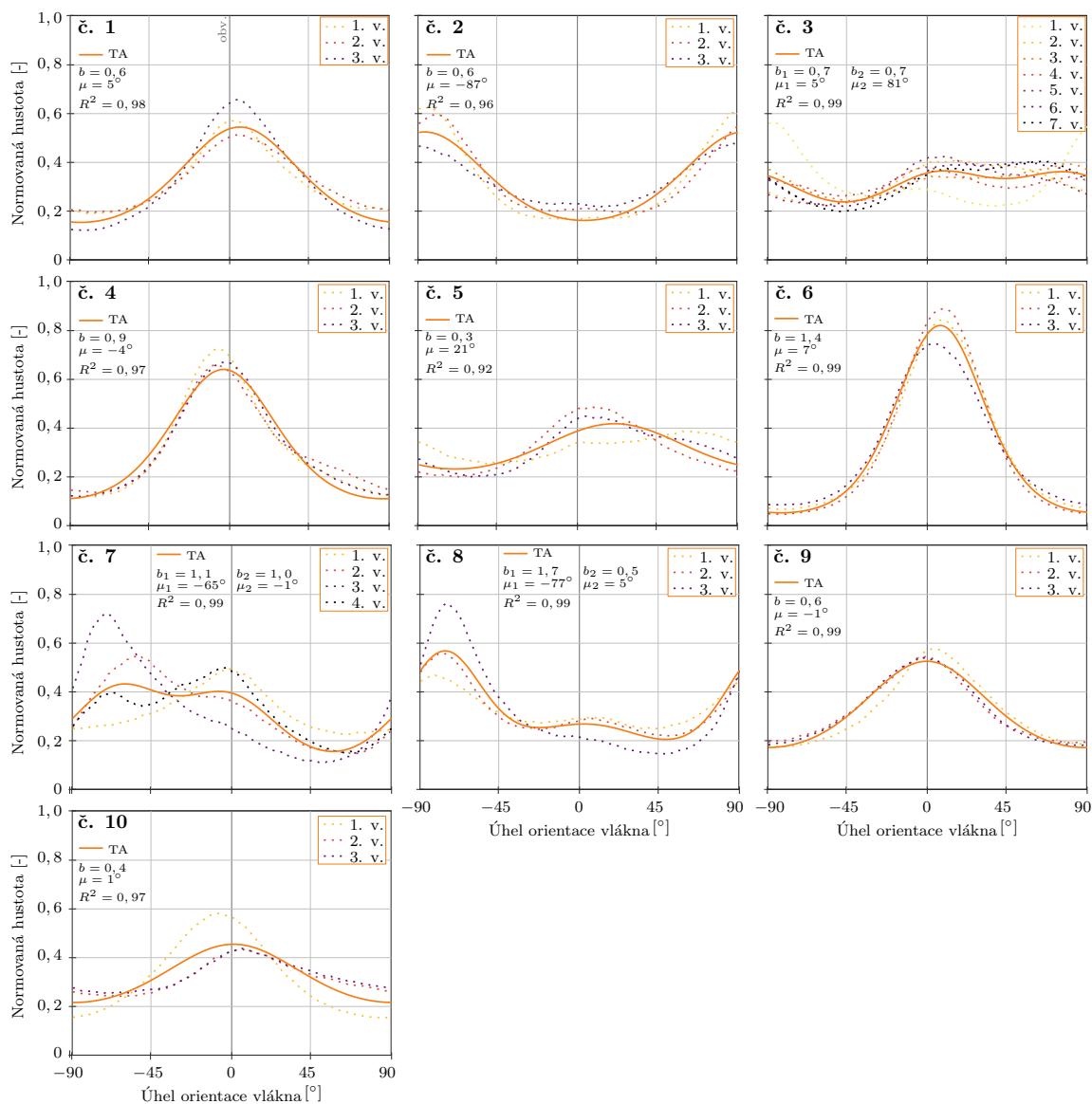
5.2 CLSM

Vzorky pro pozorování pod konfokálním mikroskopem byly fixovány Zamboniho fixačním roztokem a nařezány mikrotomem na 25 a 50 μm tlusté řezy v obvodově-axiální rovině. K provedení analýzy obrazu pomocí metody strukturního tenzoru byl použit program ImageJ, plugin OrientationJ a NeuronJ [33], který byl použit k vyhodnocení směrů vláken a jejich vlnitosti i ve studiích [11, 16, 22]. Program generuje pouze histogram lokálních orientací vláken, stejně jako u PLM.

Výsledné histogramy s distribučními funkcemi a celkovými daty pro TA jsou v grafu 5.2. U prvních třech vzorků se podařilo získat větší počet řezů po tloušťce stěny aorty, tak druhá polovina řezů byla vyhodnocena jako TM. Výsledné tabulky se strukturními parametry jsou v disertační práci.

Ve většině studií se objevují poznatky o dvou [13, 17, 34], třech [13] nebo dokonce čtyřech rodinách [13, 16, 20] kolagenních vláken v tepnách napříč jejich tloušťkou, která nejsou podložena srovnáním s unimodálním rozdělením [14, 20], nebo uvažována jako jedna rodina zvlněných vláken. Naše výsledky podporují hypotézu o jedné rodině vláken blízko obvodového směru v TA i TM, což odpovídá i výsledkům ve studiích [5–7, 10, 12, 15] a v našich předchozích experimentech na prasečích tepnách představených v kapitole 4.

U 3/10 vzorků byl pozorován rozpor mezi výsledky u jednotlivých metod. Jednalo se o vzorky od dárců č. 5, 8 a 10, kde rozdíl v hlavním směru byl 98° , 61° a 83° . Vysvětlením zde může být lokálně narušená struktura tkáně vlivem onemocnění, nebo chyba laboranta při odebrání tkáně a jeho následnému označení orientace vzorku. Dále zde může hrát vliv velikost snímkové plochy vzorky u obou metod. U PLM vyhodnocená oblast měří cca $4 \times 4 \text{ mm}$, u CLSM cca $1,7 \times 1,7 \text{ mm}$, kvůli zvolenému většímu zvětšení vzorku. Proto bylo provedeno druhé snímkování a vyhodnocení dalších oblastí pod CLSM. Výsledky u dvou ukázaly nevýznamný rozdíl mezi oběma měřeními, u jednoho došlo k rozdílu a přiblížení se výsledkům z PLM, takže to lze vysvětlit nehomogenitou tkáně.



Obrázek 5.2: Surové histogramy (tečkovaně) s aproximací von Misesovou distribuční funkcí (plně) pro vnější vrstvy TA lidských aort vyhodnocených pomocí CLSM.

6 VLNITOST

Vlnitost kolagenních vláken $T \in \langle 1; \infty \rangle$ byla vyhodnocena z CLSM snímků podle postupu popsaného ve studii [11] pomocí rovnice:

$$T = \frac{L_f}{L_0}, \quad (6.1)$$

kde L_f je označuje délku vlákna a L_0 vzdálenost mezi jeho koncovými body. Pokud $T = 1$ jedná se o přímá vlákna a čím je T větší, tím jsou vlákna nebo svazek více zvlněná.

Druhou možností jak definovat vlnitost je její převrácená hodnota, neboli přímost vláken $S \in \langle 0; 1 \rangle$:

$$S = \frac{1}{T}. \quad (6.2)$$

Na každém snímku (oblasti na vzorku) bylo poloautomaticky vytrasováno 10 vláken, na každém řezu jich tedy bylo vyhodnoceno 90 (pro TA celkem 900, pro TM 270).

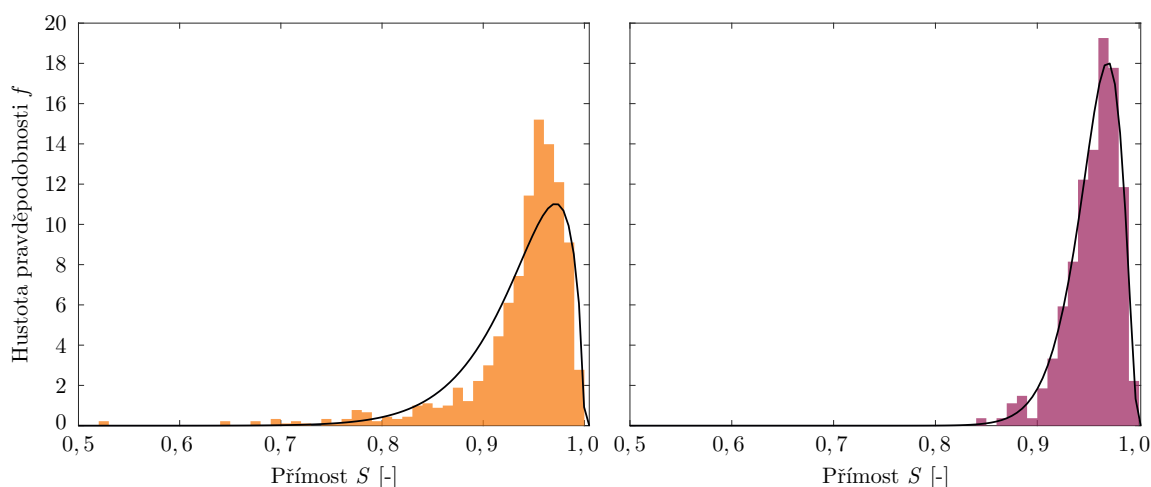
Rozdělení Beta parametru přímosti S pro všechny vzorky TA a TM jsou uvedeny na obrázku 6.1 a v tabulce 6.1. Beta rozdělení je pravděpodobnostní funkce pro proměnnou omezenou rozsahem v intervalu $\langle 0; 1 \rangle$ a její hustota pravděpodobnosti je:

$$f(x) = \frac{1}{B(\alpha, \beta)} x^{\alpha-1} (1-x)^{\beta-1}, \quad (6.3)$$

kde B je Beta funkce, nebo také normalizační konstanta zajišťující, že celková pravděpodobnost je 1, $\alpha > 0$ je parametr tvaru, $\beta > 0$ rozsahu. Definice obou použitých rozdělení jsou použita z *MathWorks Help Center*.

6.1 GLOBÁLNÍ SMĚRY

Z koncových bodů vytrasovaných vláken byl určen vektor a poté globální směry pro TA aproximované unimodální von Misesovou distribuční



Obrázek 6.1: Distribuce parametru přímosti S pro kolagenní vlákna u TA (vlevo) a TM (vpravo) v nezatíženém stavu z celého souboru vyhodnocených vzorků spolu s Beta rozdělením.

Tabulka 6.1: Parametry rozdělení Beta na přímosti kolagenních vláken v nezatíženém stavu z celého souboru vyhodnocených vzorků.

	TA	TM
Log-pravděpodobnostní hodnota	1651,2	639,6
Střední hodnota	0,94	0,96
Rozptyl	0,002	0,0006
α	24,76	63,6
β	1,69	2,99

funkcí. Průměrný globální směr pro TA vyšel $51,3 \pm 39^\circ$ (vyloučen vzorek od dárcy č. 6, který vykazuje izotropní rozdělení s velmi nízkým R^2 von Misesovy distribuční funkce). Vzhledem k velkému rozptylu nám průměrný směr téměř nic neříká a je potřeba do budoucna vyhodnotit větší počet vzorků. Průměrný parametr koncentrace b pro TA vyšel $2,6 \pm 1,3$.

V tabulce 6.2 je srovnání parametrů unimodálního von Misesova rozdělení pro TA a TM pro lokální (bez izotropní složky) a globální směry s průměrnou vlnitostí T a přímostí S pro každý vzorek. Vlnitost byla u všech vzorků nízká kromě dárců č. 7, 9 a 10.

Tabulka 6.2: Srovnání parametrů unimodálního von Misesova rozdělení pro TA a TM pro lokální a globální směry vyhodnocené pomocí CLSM. Lokální směry byly vyhodnoceny automaticky pomocí softwaru ImageJ a globální poloautomaticky pomocí vytrasovaných vláken, ze kterých byla určena přímota S .

	Dárce č.	CLSM lokální směry			CLSM globální směry			S [-]
		b [-]	μ [°]	R^2	b [-]	μ [°]	R^2	
TA	1	1,5	5	0,99	2,3	37	0,88	0,96
	2	1,7	-90	0,97	4,5	77	0,78	0,96
	3	0,5	42	0,57	2,7	80	0,72	0,94
	4	1,6	-5	0,98	1,4	-41	0,49	0,96
	5	1,0	18	0,89	1,2	65	0,61	0,94
	6	1,8	7	0,99	0,4	-5	0,13	0,95
	7	0,7	-37	0,73	1,7	75	0,73	0,91
	8	2,0	-75	0,94	3,7	82	0,73	0,94
	9	1,5	0	0,99	1,5	52	0,52	0,85
	10	1,4	0	0,99	4,3	35	0,87	0,92
	<i>Průměr</i>	1,4	-13,5		2,4	45,7		0,93
	$\pm SD$	$\pm 0,5$	$\pm 41,4$		$\pm 1,4$	$\pm 40,9$		$\pm 0,03$
TM	1	1,2	11	0,87	5,9	65	0,82	0,96
	2	1,1	10	0,87	2,6	70	0,70	0,95
	3	1,0	43	0,91	4,0	-72	0,94	0,95
		<i>Průměr</i>	1,1	21,3		4,2	21,0	
	$\pm SD$	$\pm 0,1$	$\pm 18,8$		$\pm 1,7$	$\pm 80,6$		$\pm 0,01$

Na rozdíl od lokálních směrů jsme nikde nedostali obvodovou orientaci, globální a lokální směry jsou tedy ve vzájemném rozporu, který prozatím neumíme vysvětlit.

Střední hodnota parametru přímosti S vyšla pro TA 0,94 a pro TM 0,96. Ve studii [11] střední hodnota parametru přímosti S vyšla pro TA 0,752 a pro TM 0,979. V jejich studii měli vzorky ze zdravých lidských břišních aort bez aterosklerotických změn se stářím dárců 59 ± 7 let (6 žen a 6 mužů).

Nejnovější studie [14] hodnotící změny parametrů v důsledku biaxiálního zatížení ($\lambda_{x,y} = 1,2$) TA v lidských břišních aortách vyhodnotila

střední hodnotu S bez zatížení jako 0,91 a se zatížením 0,96, což podporuje naše výsledky přímosti vláken v TA.

Ve studii [16] vyšla střední hodnota S 0,718 pro soubor vzorků TA králíčích společných karotid, kde se jednalo o zdravé tepny. Ve stejném roce byla publikována studie [15], která ale zkoumala změnu vlnitosti, orientace a rozptylu kolagenních vláken při zatížení. Hustotu pravděpodobnosti nemají proloženou žádným rozdělením, ale můžeme z obrázku 5 odhadnout, že i bez zatížení se střední hodnota S pohybovala kolem 0,9 a při zatížení se přibližovala 1 a tedy plně narovnaným vláknům.

Práce [22] se také zabývá vlnitostí kolagenních vláken v králíčích karotidách a pro 6 vzorků jim vyšel parametr přímosti $0,77 \pm 0,02$, což odpovídá výsledkům studie [16].

Přínosnější je ale pro nás analýza globálních směrů kolagenních vláken, jelikož do strukturních konstitutivních modelů materiálu se jako vstupy používají právě globální směry vláken a ne lokální. Většina studií a metod uvádí právě pouze lokální směry vláken, které se ale nemusí shodovat s globálními, tak jako tomu je u naší analýzy, kde je rozpor opravdu zřetelný.

7 ZÁVĚR

Za poslední roky vývoje a výzkumu v oblasti biomechaniky kardio-vaskulárního systému se upřednostňují anizotropní, strukturní konstitutivní modely pro popis mechanického chování a se zohledněním mikrostruktury cévní tkáně. Tyto modely popisují cévní stěnu přesněji, než modely izotropní nebo anizotropní fenomenologické, které se navzdory tomu stále používají, protože nám chybí jednoznačný popis její struktury kvantifikovaný do podoby parametrů modelu. Navíc každá céva lišící se průměrem a tloušťkou stěny se může lišit i v mikrostruktuře a uspořádání vláken.

Vstupy do strukturních konstitutivních modelů jsou globální směr vláken, rozptyl kolem tohoto směru a vlnitost. Pro jejich detekci existuje řada různých přístupů a metod. Jednou z nejčastěji používaných je polarizovaná mikroskopie vzhledem k její jednoduchosti a přesnosti. V této práci je prezentován, verifikován a validován automatický algoritmus pro vyhodnocování strukturních parametrů měkkých tkání, který je založen na dvou sadách šesti rotovaných mikrosnímků získaných jak s kolmými, tak s vychýlenými polarizátory. Výchylka mezi polarizátory překonává omezení 90° periodicity intenzity polarizovaného světla a přesně a rychle vyhodnocuje orientaci a rozptyl vláken v rovině v celém rozsahu 180° bez nutnosti dalšího přídavného vybavení [30].

Vlnitost vláken ztěžuje automatickou analýzu směrů, ale je velmi důležitá pro jejich správnou funkci. Z dosavadních výsledků ze snímků z polarizačního mikroskopu a automatizovaného algoritmu jsme schopni získat pouze lokální směry vláken. I tato informace je pro získání všech parametrů důležitá, bohužel o vlnitosti nám neposkytne potřebné informace. Tenké histologické řezy nám znemožňují trasovat vlákno ve 3D prostoru a v obvodově-axiální rovině tak vidíme pouze části sinusově zvlněných svazků vláken.

Globální směry vláken můžeme získat např. z analýzy vzorků pod zatížením, kdy eliminujeme vlnitost a dojde k jejich napřímění. Analýzou namáhaných vzorků prasečích břišních aort pomocí PLM a automatického algoritmu byla zjištěna existence jedné rodiny sinusově zvl-

něných vláken v dominantně obvodovém směru, než dvě spirálovité [35, 36]. Vzorky lidských břišních aort nebylo možné před fixací deformovat, jelikož vzorky byly hned histologicky připravovány pro polarizovanou a laserovou skenovací konfokální mikroskopii, ale za pomoci softwaru ImageJ a pluginu NeuronJ bylo možné vytrasovat na každém snímku 10 vláken a pomocí jejich koncových souřadnic a celkové délky vlákna byla vyhodnocena vlnitost a globální směr. Na výsledcích lze pozorovat rozpor, jelikož lokální směry ukázaly dominantní obvodovou orientaci, globální ukázaly diagonální nebo axiální směr.

V rámci disertační práce byl dále kladen důraz na správné vyhodnocování unimodální nebo bimodální distribuční von Misesovy funkce, jelikož v mnoha studiích je tohle opomíjeno a dochází tak k tomu, že bimodální distribuce nejsou srovnány s unimodálním rozdělením, která mohou poskytnout srovnatelnou aproximaci, nebo jedna rodina zvlněných vláken se v histogramu s jednoznačnou bimodální distribucí může zaměnit za dvě rodiny vláken s různými globálními směry.

U analýzy vzorků z lidských aort si je autorka vědoma, že jejich vyšší počet by vedl k rigoróznějším závěrům, avšak vyhodnocených 10 vzorků bylo sbíráno dva roky. Spolu s prvními experimenty na prasečích aortách a dokončením automatického algoritmu s jeho validací a verifikací by čekání na více vzorků z lidských aort přesahovalo časový rámec doktorského studia.

V rámci sběru vzorků z lidských aort byly zároveň sbírány i vzorky z pravých a levých krčních tepen, které jsou připraveny pro vyhodnocování pod PLM i CLSM, a které jsou klíčové pro další směřování oblasti mikrostruktury tkání a jejich vlivu na mechanické vlastnosti v naší výzkumné skupině na ÚMTMB. Autorka věří, že její závěry a poznatky z analýzy prasečích a lidských břišních aort pomůžou v dalších analýzách uspořádání kolagenních vláken nejen v lidských krčních tepnách.

LITERATURA

- [1] GASSER, T Christian, Sara GALLINETTI, Xiao XING, Caroline FORSELL, Jesper SWEDEN-BORG a Joy ROY. Spatial orientation of collagen fibers in the abdominal aortic aneurysm's wall and its relation to wall mechanics. *Acta biomaterialia*. 2012roč. 8, č. 8, s. 3091–3103.
- [2] HOLZAPFEL, Gerhard A, Ray W OGDEN a Selda SHERIFOVA. On fibre dispersion modelling of soft biological tissues: a review. *Proceedings of the Royal Society A*. 2019roč. 475, č. 2224, s. 20180736.
- [3] DYLEVSKÝ, Ivan. *Somatologie. Olomouc: Epava, 2000*. ISBN 80-86297-05-5, 2000.
- [4] GASSER, T Christian, Ray W OGDEN a Gerhard A HOLZAPFEL. Hyperelastic modelling of arterial layers with distributed collagen fibre orientations. *Journal of the royal society interface*. 2006roč. 3, č. 6, s. 15–35.
- [5] FINLAY, Helen M, Lesley MCCULLOUGH a Peter B CANHAM. Three-dimensional collagen organization of human brain arteries at different transmural pressures. *Journal of vascular research*. 1995roč. 32, č. 5, s. 301–312.
- [6] CANHAM, PETER B, HELEN M FINLAY, JAN G DIXON, DEREK R BOUGHNER a ANDREW CHEN. Measurements from light and polarised light microscopy of human coronary arteries fixed at distending pressure. *Cardiovascular research*. 1989roč. 23, č. 11, s. 973–982.
- [7] CANHAM, Peter B, Helen M FINLAY, Jan G DIXON a Sarah E FERGUSON. Layered collagen fabric of cerebral aneurysms quantitatively assessed by the universal stage and polarized light microscopy. *The Anatomical Record*. 1991roč. 231, č. 4, s. 579–592.
- [8] CANHAM, PB, HM FINLAY a SY TONG. Stereological analysis of the layered collagen of human intracranial aneurysms. *Journal of microscopy*. 1996roč. 183, č. 2, s. 170–180.
- [9] SCHRIEFL, Andreas J, Heimo WOLINSKI, Peter REGITNIG, Sepp D KOHLWEIN a Gerhard A HOLZAPFEL. An automated approach for three-dimensional quantification of fibrillar structures in optically cleared soft biological tissues. *Journal of The Royal Society Interface*. 2013roč. 10, č. 80.
- [10] GAUL, RT et al. Collagen fibre characterisation in arterial tissue under load using SALS. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2017roč. 75, s. 359–368.
- [11] NIESTRAWKA, Justyna A, Anna PUKALUK, Anju R BABU a Gerhard A HOLZAPFEL. Differences in Collagen Fiber Diameter and Waviness between Healthy and Aneurysmal Abdominal Aortas. *Microscopy and Microanalysis*. 2022s. 1–15.
- [12] SMITH, JF Harold, Peter B CANHAM a John STARKEY. Orientation of collagen in the tunica adventitia of the human cerebral artery measured with polarized light and the universal stage. *Journal of ultrastructure research*. 1981roč. 77, č. 2, s. 133–145.
- [13] SCHRIEFL, Andreas J, Georg ZEINDLINGER, David M PIERCE, Peter REGITNIG a Gerhard A HOLZAPFEL. Determination of the layer-specific distributed collagen fibre orientations in human thoracic and abdominal aortas and common iliac arteries. *Journal of the Royal Society Interface*. 2011roč. 9, s. 1275–1286.

- [14] PUKALUK, Anna, Heimo WOLINSKI, Christian VIERTLER, Peter REGITNIG, Gerhard A HOLZAPFEL a Gerhard SOMMER. Changes in the microstructure of the human aortic adventitia under biaxial loading investigated by multi-photon microscopy. *Acta Biomaterialia*. 2023.
- [15] SCHRAUWEN, JTC, A VILANOVA, R REZAKHANIHA, N STERGIOPULOS, FN VAN DE VOSSE a PHM BOVENDEERD. A method for the quantification of the pressure dependent 3D collagen configuration in the arterial adventitia. *Journal of structural biology*. 2012roč. 180, č. 2, s. 335–342.
- [16] REZAKHANIHA, Rana, Aristotelis AGIANNIOTIS, Jelle Tymen Christiaan SCHRAUWEN, Alessandra GRIFFA, Daniel SAGE, CVC vd BOUTEN, FN VAN DE VOSSE, Michaël UNSER a Nikolaos STERGIOPULOS. Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*. 2012roč. 11, č. 3-4, s. 461–473.
- [17] SCHRIEFL, Andreas J, Andreas J REINISCH, Sethuraman SANKARAN, David M PIERCE a Gerhard A HOLZAPFEL. Quantitative assessment of collagen fibre orientations from two-dimensional images of soft biological tissues. *Journal of The Royal Society Interface*. 2012roč. 9, č. 76, s. 3081–3093.
- [18] FISCHER, J. a J. BURSA. Comparison of Various Distributions Used for Collagen Fibre Orientations in Arterial Layers. *Engineering Mechanics 2019*. 2019č. May, s. 113–116. Dostupné z: doi:10.21495/71-0-113.
- [19] JETT, Samuel V., Luke T. HUDSON, Ryan BAUMWART, Bradley N. BOHNSTEDT, Arshid MIR, Harold M. BURKHART, Gerhard A. HOLZAPFEL, Yi WU a Chung Hao LEE. Integration of polarized spatial frequency domain imaging (pSFDI) with a biaxial mechanical testing system for quantification of load-dependent collagen architecture in soft collagenous tissues. *Acta Biomaterialia*. 2020roč. 102, s. 149–168. ISSN 18787568. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2019.11.028.
- [20] WAN, William, J Brandon DIXON a Rudolph L GLEASON JR. Constitutive modeling of mouse carotid arteries using experimentally measured microstructural parameters. *Biophysical journal*. 2012roč. 102, č. 12, s. 2916–2925.
- [21] TANAKA, Yuji, Eiji HASE, Shuichiro FUKUSHIMA, Yuki OGURA, Toyonobu YAMASHITA, Tetsuji HIRAO, Tsutomu ARAKI a Takeshi YASUI. Motion-artifact-robust, polarization-resolved second-harmonic-generation microscopy based on rapid polarization switching with electro-optic Pockells cell and its application to in vivo visualization of collagen fiber orientation in human facial skin. *Biomedical optics express*. 2014roč. 5, č. 4, s. 1099–1113.
- [22] AYYALASOMAYAJULA, Venkat, Baptiste PIERRAT a Pierre BADEL. A computational model for understanding the micro-mechanics of collagen fiber network in the tunica adventitia. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*. 2019roč. 18, č. 5, s. 1507–1528.
- [23] NOVAK, Kamil, Stanislav POLZER, Michal TICHY a Jiri BURSA. Automatic evaluation of collagen fiber directions from polarized light microscopy images. *Microscopy and Microanalysis*. 2015roč. 21, č. 4, s. 863–875.
- [24] OLDENBOURG, R a G MEI. New polarized light microscope with precision universal compensator. *Journal of microscopy*. 1995roč. 180, č. 2, s. 140–147.

- [25] SHRIBAK, Michael a Rudolf OLDENBOURG. Techniques for fast and sensitive measurements of two-dimensional birefringence distributions. *Applied Optics*. 2003roč. 42, č. 16, s. 3009–3017.
- [26] AXER, Markus, David GRÄSSEL, Melanie KLEINER, Jürgen DAMMERS, Timo DICKSCHEID, Julia RECKFORT, Tim HÜTZ, Björn EIBEN, Uwe PIETRZYK, Karl ZILLES et al. High-resolution fiber tract reconstruction in the human brain by means of three-dimensional polarized light imaging. *Frontiers in neuroinformatics*. 2011roč. 5, s. 34.
- [27] OLDENBOURG, Rudolf. Polarized light microscopy: principles and practice. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2013roč. 2013, č. 11, s. pdb–top078600.
- [28] SCHMITZ, Daniel, Thomas LIPPERT, Katrin AMUNTS a Markus AXER. Quantification of fiber orientation uncertainty in polarized light imaging of the human brain. In: *Medical Imaging 2020: Physics of Medical Imaging*. 2020s. 1131239.
- [29] TANI, Tomomi, Maki KOIKE-TANI, Mai Thi TRAN, Michael SHRIBAK a Snezana LEVIC. Postnatal structural development of mammalian Basilar Membrane provides anatomical basis for the maturation of tonotopic maps and frequency tuning. *Scientific reports*. 2021roč. 11, č. 1, s. 1–12.
- [30] TURČANOVÁ, Michaela, Martin HRTOŇ, Petr DVOŘÁK, Kamil NOVÁK, Markéta HERMANOVÁ, Zdeněk BEDNAŘÍK, Stanislav POLZER a Jiří BURŠA. Full-range optical imaging of planar collagen fiber orientation using polarized light microscopy. *BioMed research international*. 2021roč. 2021.
- [31] KRASNY, Witold, Claire MORIN, Hélène MAGOARIEC a Stéphane AVRIL. A comprehensive study of layer-specific morphological changes in the microstructure of carotid arteries under uniaxial load. *Acta biomaterialia*. 2017roč. 57, s. 342–351.
- [32] SUGITA, Shukei a Takeo MATSUMOTO. Multiphoton microscopy observations of 3D elastin and collagen fiber microstructure changes during pressurization in aortic media. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*. 2017roč. 16, č. 3, s. 763–773.
- [33] MEIJERING, Erik, M JACOB, J-CF SARRIA, PI STEINER, H HIRLING a M UNSER. Design and validation of a tool for neurite tracing and analysis in fluorescence microscopy images. *Cytometry Part A: the journal of the International Society for Analytical Cytology*. 2004roč. 58, č. 2, s. 167–176.
- [34] BAEK, Seungik, Rudolph L. GLEASON, K.R. RAJAGOPAL a J.D. HUMPHREY. Theory of small on large: potential utility in computations of fluid–solid interactions in arteries. *Computer methods in applied mechanics and engineering*. 2007roč. 196, č. 31-32, s. 3070–3078.
- [35] FISCHER, Jiří, Michaela TURČANOVÁ, Vojtěch MAN, Markéta HERMANOVÁ, Zdeněk BEDNAŘÍK a Jiří BURŠA. Importance of experimental evaluation of structural parameters for constitutive modelling of aorta. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2023roč. 138, s. 105615.
- [36] TURČANOVÁ, Michaela, Jiří FISCHER, Markéta HERMANOVÁ, Zdeněk BEDNAŘÍK, Pavel SKÁCEL a Jiří BURŠA. Biaxial stretch can overcome mismatch between global and local orientations of wavy collagen fibres. *Under Review in Journal of Biomechanics*. 2023.

ŽIVOTOPIS

Osobní údaje

Jméno Ing. Michaela Turčanová
Datum narození 25. května 1994
Adresa Plk. Lea Anderleho 813/2, 682 01 Vyškov
E-mail turcanova@fme.vutbr.cz

Vzdělání

09/2018-dosud Inženýrská mechanika (DS)
FSI VUT v Brně, ÚMTMB
09/2016-09/2018 Inženýrská mechanika a biomechanika (NMS)
FSI VUT v Brně, ÚMTMB
09/2013-09/2016 Matematické inženýrství (BS)
FSI VUT v Brně, ÚM

Zaměstnání

03/2023-dosud Mateřská dovolená
07/2018-03/2023 Zaměstnanec
FSI VUT v Brně, ÚMTMB
10/2019-03/2023 Marketingová manažerka
FSI VUT v Brně, Děkanát

Jazykové schopnosti

Angličtina (úroveň B1-B2), španělština a němčina (základní)

Počítačové dovednosti

MATLAB, ImageJ, L^AT_EXANSYS, Maple, Microsoft Office, Adobe Illustrator, Adobe Photoshop, Adobe InDesign

ABSTRAKT

Disertační práce se zabývá analýzou uspořádání kolagenních vláken v tepnách a jejich správným vyhodnocením a použitím ve strukturně motivovaných konstitutivních modelech materiálu. První část práce je zaměřená na rešerši mechanických vlastností tepen a na přehled dostupných metod pro detekci vlnitosti, orientace a rozptylu vláken. Druhá část práce popisuje automatický algoritmus, který dokáže vyhodnotit lokální směry vláken a jejich rozptyl ze snímků z polarizačního mikroskopu. V další části práce jsou prezentovány dva experimenty na prasečích tepnách za účelem zjištění vlivu různé velikosti biaxiální deformace na orientaci a rozptyl vláken. Poslední část práce uvádí vyhodnocené strukturní parametry pro prasečí a lidské aorty, které byly analyzovány nejen pod polarizovaným světlem, ale i pod laserovým skenovacím konfokálním mikroskopem, díky kterému byla získána vlnitost vláken a jejich globální směr.

The doctoral thesis deals with the analysis of the arrangement of collagen fibres in arteries and their correct evaluation and use in structurally motivated constitutive models of the material. The first part of the work is focused on the literature search of mechanical properties of arteries and on an overview of available methods for the detection of waviness, orientation and dispersion of fibres. The second part describes an automatic algorithm that can evaluate the local directions of fibres and their scattering from images from a polarizing microscope. In the next part of the thesis, two experiments on porcine arteries are presented in order to determine the influence of different magnitudes of biaxial deformation on fiber orientation and dispersion. The last part of the work presents the evaluated structural parameters for porcine and human aortas, which were analyzed not only under polarized light, but also under a laser scanning confocal microscope, thanks to which the waviness of the fibers and their global direction were obtained.