



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

VYUŽITÍ EXPERIMENTŮ PRO ZLEPŠENÍ ÚROVNĚ KONSTITUTIVNÍCH MODELŮ TKÁNÍ AORTÁLNÍCH VÝDUTÍ

EXPLOITATION OF EXPERIMENTS FOR IMPROVEMENT OF LEVEL CONSTITUTIVE MODELS OF AORTIC ANEURYSM TISSUES

DIZERTAČNÍ PRÁCE

DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ing. Vojtěch Man

ŠKOLITEL

SUPERVISOR

prof. Ing. Jiří Burša, Ph.D.

BRNO 2018

Já, Ing. Vojtěch MAN, prohlašuji, že jsem dizertační práci, 'Využití experimentů pro zlepšení úrovně konstitutivních modelů tkání aortálních výdutí' vypracoval samostatně s použitím odborné literatury a zdrojů, které jsou zde všechny citovány. V dizertační práci jsem dále použil informace a texty z prací, kterých jsem autor nebo spoluautor.

Podpis:

Abstrakt

Předkládaná práce se věnuje problematice aneurysmat břišní aorty (AAA) s přihlédnutím k možnosti využití mechanických zkoušek tkání aortálních výdutí ke zlepšení úrovně jejich konstitutivních modelů.

Úvodní část se zabývá úvodem do problematiky, popisem struktury stěny zdravé aorty, jejím hlavními komponentám a degenerativním změnám, které vedou až ke vzniku AAA. Na tento úvod navazuje stručný exkurz do konstitutivního modelování, který se úzce zaměřuje na popis modelů používaných pro popis mechanického chování měkkých tkání. Teoretická část je poté doplněna užším výběrem konstitutivních modelů používaných pro modelování stěny aorty a intraluminálního trombu, společně s publikovanými výsledky, které jsou v závěru této části zhodnoceny a diskutovány.

Stěžejní část práce je věnována zkouškám mechanických vlastností arteriálních tkání. Nejprve je představena metodika testování společně s popisem úprav, kterými prošlo vybavení laboratoře, společně s testovacím zařízením. Dále je pozornost zaměřena na výsledky mechanických zkoušek intraluminálního trombu, kde jsou prezentovány výsledky jak z jednoosých tahových zkoušek, tak i z ekvibi-axiálního testování a je zde vyšetřován vliv vzdálenosti ILT od krevního řečiště na mechanické vlastnosti trombu.

Další oblast, které je věnována pozornost, je vyšetření vlivu elastázy na změnu mechanických vlastností prasečí aorty. V tomto případě jsou vzorky prasečích aort experimentálně testovány pouze pomocí dvouosých zkoušek a je zde analyzována doba působení elastázy na změnu mechanických vlastností tak, aby výsledná tkáň měla podobnou deformačně-napěťovou odezvu jako tkáň aneurysmatická. Na závěr jsou shrnuty dosažené výsledky experimentálního měření, limitace a také navrženy další možné směry výzkumu.

Abstract

This paper deals with the problem of abdominal aortic aneurysms (AAA), taking into account the possibility of using mechanical tests of aortic tissues for improvement of level of their constitutive models.

First part of thesis deals with the introduction into the problem, description of the structure of the wall of the healthy aorta, its main components and the degenerative changes which lead to formation of AAA. This is followed by a brief excursion into constitutive modeling, which focuses closely on the description of the models used to describe the mechanical behavior of soft tissues. The theoretical part is then supplemented by a narrower selection of constitutive models used for modeling aortic wall and intraluminal thrombus, together with published results, which are reviewed and discussed at the end of this section.

The main part of this thesis is devoted to tests of mechanical properties of arterial tissues. First, the methodology is presented together with the description of the customizations of the laboratory equipments together with the test rig. In addition, attention is focused on the results of mechanical tests of intraluminal thrombus, where the results of both uniaxial tensile tests and equibiaxial testing are presented. Also the influence of distance ILT from the lumen on the mechanical properties of the thrombus is examined.

Another area of interest is the investigation of the effect of elastase on the change of mechanical properties of pig aorta. In this case, porcine aortas are experimentally tested only by biaxial testing, and the time of elastase action to alter the mechanical properties is analyzed so that the resulting tissue has a similar stress-strain response as aneurysmal tissue. Finally, the results of experimental measurements, limitations and other possible ways of research are summarized.

Poděkování

Na tomto místě bych velmi rád poděkoval svému školiteli prof. Ing. Jiřímu Buršovi, Ph.D. za vedení mé disertační práce a také významnou podporu během mého studia. Moje poděkování patří též mým kolegům Ing. Stanislavu Polzerovi, Ph.D. - školiteli specialistovi za cenné náměty a kritické připomínky v průběhu mé práce, Ing. Pavlovi Skácelovi, Ph.D. za pomoc a ochotu při řešení praktických aspektů experimentálního měření, Ing. Kamilu Novákovi, MUDr. Staffovi a jeho spolupracovníkům za příležitost získat materiál pro testování. V neposlední řadě patří velký dík mým rodičům bez jejichž podpory, trpělivosti a tolerance bych se při psaní této práce neobešel.

Obsah

| | |
|--|-----------|
| Abstrakt | ii |
| Poděkování | v |
| Obsah | vi |
| Seznam obrázků | ix |
| Seznam tabulek | x |
| 1 Úvod | 1 |
| 1.1 Stanovené cíle práce | 2 |
| 2 Struktura tkáně stěny aorty | 3 |
| 2.1 Stavba zdravé stěny aorty | 3 |
| 2.1.1 Intima | 4 |
| 2.1.2 Media | 5 |
| 2.1.3 Adventitia | 5 |
| 2.2 Hlavní komponenty stěny aorty | 6 |
| 2.2.1 Hladké svalové buňky | 6 |
| 2.2.2 Elastin | 6 |
| 2.2.3 Kolagen | 7 |
| 2.3 Degenerativní změny ve stěně AAA | 8 |
| 2.4 Struktura a patogeneze intraluminálního trombu | 8 |
| 3 Konstitutivní modelování | 13 |
| 3.1 Obecné předpoklady | 13 |
| 3.2 Přehled modelů | 14 |
| 3.2.1 Fenomenologické modely | 14 |
| 3.2.1.1 Polynomické modely | 14 |
| Model Neo-Hooke | 14 |
| Model Mooney–Rivlin | 14 |
| Model Yeoh | 14 |
| 3.2.1.2 Modely založené na hlavních protaženích | 15 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| | Ogden model | 15 |
| 3.2.1.3 | Exponenciální modely | 15 |
| | Veronda–Westmann model | 15 |
| | Model Fung | 15 |
| | Model Choi–Vito | 16 |
| 3.2.2 | Strukturní modely | 16 |
| | Model Holzapfel, Gasser, Ogden (HGO) | 17 |
| | Model Holzapfel, Sommer, Gasser (Holzapfel, 2005) | 17 |
| | Model Gasser, Ogden, Holzapfel (GOH) | 18 |
| | Martufi–Gasser | 18 |
| 3.3 | Využití konstitutivních modelů pro modelování stěny AAA | 19 |
| 3.3.1 | Zhodnocení modelů používaných pro stěnu AAA | 24 |
| 3.4 | Mechanické vlastnosti intraluminálního trombu a jeho konstitutivní modely | 26 |
| 3.4.1 | Intraluminální trombus – zhodnocení | 34 |
| 4 | Publikační činnost | 37 |
| 4.1 | Komentáře k publikovaným pracím | 37 |
| | Importance of material model in wall stress prediction in abdominal aortic aneurysms | 37 |
| | Structure-based constitutive model can accurately predict planar biaxial properties of aortic wall tissue | 38 |
| | Analysis of accuracy of biaxial tests based on their computational simulations | 38 |
| | Influence of mesh density on calculated extreme stresses in aortic aneurysms | 39 |
| | Predictive capabilities of various constitutive models for arterial tissue | 39 |
| | Impact of isotropic constitutive descriptions on the predicted peak wall stress in abdominal aortic aneurysms | 40 |
| 5 | Zkoušky mechanických vlastností arteriálních tkání | 41 |
| 5.1 | Metodika testování | 41 |
| 5.1.1 | Popis zařízení | 41 |
| 5.1.2 | Úpravy experimentálního zařízení a rozšíření stávajícího vybavení | 43 |
| 5.1.3 | Příprava vzorků | 45 |
| 5.1.4 | Metodika testování cévních tkání | 47 |
| 5.1.5 | Specifika testování tkání AAA | 48 |
| 5.2 | Vyhodnocení měření | 50 |
| 6 | Výsledky experimentů | 53 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 6.1 | Mechanické zkoušky ILT | 53 |
| 6.1.1 | Získání a příprava vzorků | 53 |
| 6.1.2 | Mechanické zkoušky | 54 |
| 6.1.3 | Vyhodnocení měření ILT | 55 |
| 6.1.4 | Výsledky tahových zkoušek | 56 |
| 6.1.5 | Interpretace a zhodnocení výsledků, limitace | 60 |
| 6.2 | Vliv elastázy na změnu mechanických vlastností prasečí aorty | 62 |
| 6.2.1 | Motivace | 62 |
| 6.2.2 | Příprava vzorků | 63 |
| 6.2.3 | Ošetření elastázou | 63 |
| 6.2.4 | Dvouosá tahová zkouška | 64 |
| 6.2.5 | Vliv elastázy – výsledky | 65 |
| | 6.2.5.1 Změna rozměrů v průběhu enzymatického působení | 65 |
| | 6.2.5.2 Deformačně-napěťové křivky a moduly pružnosti | 65 |
| 6.2.6 | Diskuze k výsledkům a limitace | 66 |
| 7 | Shrnutí a budoucí práce | 69 |
| 7.1 | Budoucí práce | 69 |
| 7.2 | Závěr | 69 |
| | Literatura | 71 |

Seznam obrázků

| | | |
|-----|--|----|
| 2.1 | Schéma stavby zdravé aorty. | 4 |
| 2.2 | Přehled vlivů na vznik AAA. | 9 |
| 2.3 | Histologické řezy ze vzorků trombu. | 10 |
| 2.4 | Mikrostruktura ILT. | 11 |
| 2.5 | Struktura odebraných ILT. | 11 |
| 3.1 | Jednoosé deformačně-napětové odezvy pro ILT. | 28 |
| 5.1 | Experimentální zařízení Camea. | 42 |
| 5.2 | Vysekávací nože pro vzorky na jednoosou tahovou zkoušku. | 43 |
| 5.3 | Svorky a vyhřívací lázeň. | 44 |
| 5.4 | Detail experimentálního zařízení. | 45 |
| 5.5 | Typické vzorky pro biaxiální tahovou zkoušku. | 46 |
| 5.6 | Deformačně-napětové odezvy pro prasečí aortu a stěnu AAA. | 49 |
| 5.7 | Ukázka paternů na tkáni. | 50 |
| 5.8 | Ilustrativní průběh zatěžovacích protokolů. | 51 |
| 6.1 | Jednoosé pevnosti ILT. | 56 |
| 6.2 | Změna tloušťky vzorků v důsledku působení elastázy. | 65 |
| 6.3 | Deformačně-napětové závislosti pro prasečí aortu v důsledku působení elastázy. | 67 |
| 6.4 | Změny inkrementálních modulů při působení elastázy. | 68 |

Seznam tabulek

| | | |
|------|---|----|
| 2.1 | Procentuální zastoupení základních stavebních složek pro aortu. | 9 |
| 3.1 | Materiálové parametry pro VG–model. | 20 |
| 3.2 | Materiálové parametry pro Demiray model. | 21 |
| 3.3 | Materiálové parametry pro stěnu dle Tong et al. (2011). | 21 |
| 3.4 | Materiálové a strukturní parametry pro kyčelní tepnu. | 22 |
| 3.5 | Parametry pro model Martufi–Gasser. | 23 |
| 3.6 | Mechanické vlastnosti vrstev ILT dle Wang et al. (2001). | 26 |
| 3.7 | Průměrné hodnoty materiálových parametrů pro ILT dle Wang et al. (2001). | 27 |
| 3.8 | Maximální inkrementální tuhosti dle Vande Geest et al. (2006a). | 29 |
| 3.9 | Moduly pružnosti pro ILT dle Ashton et al. (2009). | 30 |
| 3.10 | Střední hodnoty inkrementálních tuhostí pro ILT dle Tong et al. (2011). | 30 |
| 3.11 | Střední hodnoty materiálových parametrů pro jednotlivé vrstvy ILT dle Tong et al. (2011). | 31 |
| 3.12 | Střední hodnoty maximálních protažení a inkrementálních tuhostí pro ILT dle Tong et al. (2013). | 32 |
| 3.13 | Cauchyho napětí a maximální inkrementální tuhosti pro ILT dle O’Leary et al. (2014) | 33 |
| 3.14 | Shrnutí publikovaných hodnot mechanických vlastností ILT. | 36 |
| 5.1 | Nastavení posuvů pro biaxiální tahové zkoušky. | 48 |
| 6.1 | Přehled základních údajů o pacientech. | 54 |
| 6.2 | Maximální pevnosti ILT s s uvažováním anatomické orientace. | 57 |
| 6.3 | Maximální pevnosti ILT bez rozlišení anatomické orientace. | 58 |
| 6.4 | Materiálové parametry ILT pro model Yeoh s rozlišením vzdálenosti od lumenu. | 58 |
| 6.5 | Počáteční a koncové inkrementální moduly ILT v závislosti na vzdálenosti od lumenu. | 59 |
| 6.6 | Materiálové parametry ILT pro model Ogden s rozlišením vzdálenosti od lumenu. | 59 |
| 6.7 | Materiálové parametry ILT bez rozlišení vzdálenosti od lumenu. | 60 |
| 6.8 | Průměrné hodnoty délek hran vzorků v závislosti na době působení elastázy. | 66 |

Kapitola 1

Úvod

Jako aneurysma břišní aorty (AAA) se označuje lokální rozšíření jejího normálního průsvitu o více než 50%. Jeho růst trvá řadu let a jeho průběh je většinou asymptomatický, dokud nedojde k jeho náhlému protržení a krvácení. Rizikovou skupinu tvoří převážně starší lidé nad 65 let ([Kent et al., 2010](#)). Ačkoliv patogeneze stále není jednoznačně vysvětlena, existuje mnoho studií popisujících biologické a patofyziologické pochody, klinické projevy, stejně jako mechanické vlastnosti AAA. V posledních letech je patrný značný vývoj v oblasti biomechanického modelování ([Wilson et al., 2013](#)), což má za následek vzrůstající zájem o podrobnější výzkum jevů, které se objevují společně s AAA a mohou ovlivnit celkovou pevnost aneurysmatu. Mezi ně lze řadit intraluminální trombus (ILT) a kalcifikace. Zejména úloha ILT v průběhu růstu AAA, přenosu tlaku a ovlivnění rizika ruptury AAA je stále diskutabilní. Věřím, že klíčem ke zlepšení dosavadních biomechanických modelů je lepší porozumění rozdílným deformačním odezvám měkkých tkání na zatížení a jejich lepší konstitutivní popis, čehož lze docílit důkladnějším experimentálním vyšetřováním jejich deformačně–napěťových závislostí.

1.1 Stanovené cíle práce

- i. Vypracovat přehled literatury týkající se mechanických vlastností lidské aorty s přihlédnutím k AAA, jejich souvislost s histologií a možnosti modelování pomocí konstitutivních modelů.
- ii. Provést rešeršní studii publikovaných měření mechanických vlastností intraluminálního trombu.
- iii. Pomocí jednoosé a dvouosé tahové zkoušky provést analýzu mechanických vlastností intraluminálního trombu v závislosti na jeho stáří (vzdálenosti od lumenu).
- iv. Vyšetřit vliv elastázy na mechanickou odezvu stěny prasečí aorty při dvouosé tahové zkoušce.

Kapitola 2

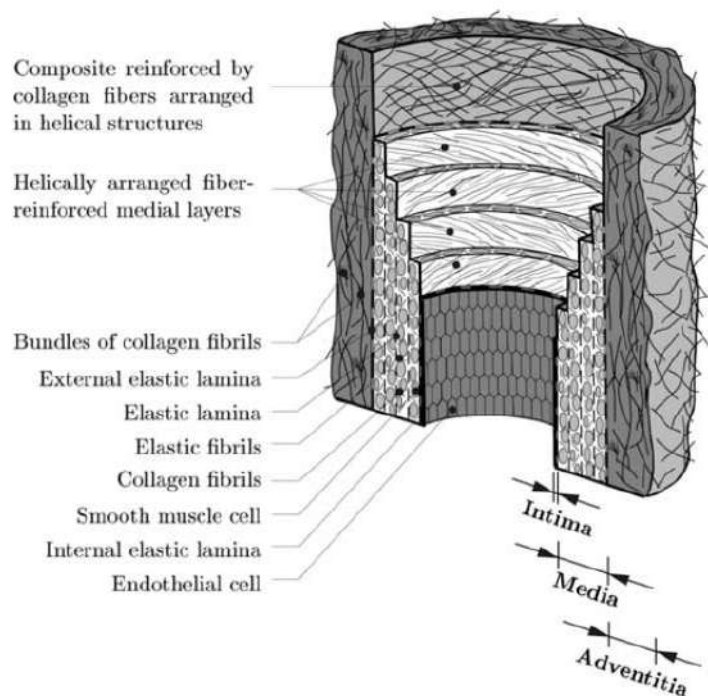
Struktura tkáně stěny aorty

V této kapitole bude věnována pozornost histologii a mechanickému chování arteriální, především aortální stěny, jejich vzájemným souvislostem a degenerativním změnám souvisejícím se vznikem AAA.

Pochopení a znalost základní morfologické struktury aortální stěny společně se znalostí hlavních komponent, které se podílejí na deformačním procesu, jsou zásadní pro efektivní popis mechanického chování pomocí konstitutivních modelů. Pro jasnější představu o stavbě stěny tepny je zde uveden stručný makroskopický (§2.1) a mikroskopický (§2.2) popis zdravé tepny doplněný patologickými změnami tepny v důsledku AAA.

2.1 Stavba zdravé stěny aorty

Obecně můžeme tepny rozdělit do tří skupin: elastické, svalové a arterioly. Elastické arterie jsou umístěny proximálně (blíže srdci) a mají poměrně velký průměr, arterie svalového typu se vyskytují více distálně v periferních oblastech a arterioly tvoří spolu s kapilárami nejjemnější cévní síť. Všechny tepny mají v zásadě podobnou stavbu, ovšem svoji pozornost ohledně mikroskopické struktury budeme věnovat především prvnímu typu – elastickým arteriím. Tepny jsou tvořeny ze tří odlišných vrstev *intima* (*tunica intima*), *media* (*tunica media*) a *adventitia* (*tunica externa*). Na obr. 2.1 je znázorněn schématický model zdravé tepny.



OBR. 2.1: Schéma stavby zdravé aorty. Převzato z (Holzapfel et al., 2000).

2.1.1 Intima

Intima je nejvnitřnější arteriální vrstvou. Typicky je složena z jedné vrstvy endotelových buněk, spočívající na tenké *lamina basalis*, a ze subendotelové vrstvy s proměnlivou tloušťkou (která závisí na vzdálenosti aorty od srdce, věku a zdravotním stavu) (Clark & Glagov, 1985, Gasser et al., 2006). Vlákna obsažená v subendotelové vrstvě jsou orientována v axiálním směru (přenášejí smykové napětí od krevního toku), zatímco s přibývajícím vzdáleností od lumenu – krevního řečiště – se mění jejich uspořádání dominantně do směru obvodového (pro přenesení zatížení v důsledku roztahování a smršťování tepny) (Timmins et al., 2010). Hlavní komponentou, která se nachází v intimě, je kolagen I. a III. druhu, společně s elastinem, který vytváří prostorovou síť elastických vláken (Fratzl, 2008). Hlavní funkcí endotelové vrstvy je utvoření hladké výstelky, která odděluje vysoce trombogenní komponenty obsažené ve stěně (kolagen I a III) od krevního řečiště. Zároveň také umožňuje výměnu látek mezi krví a stěnou, přičemž funguje také jako selektivní bariéra (Fung, 1993). S přibývajícím věkem a různými patologickými změnami (např. *arteriosklerosa*) dochází ke změnám jejich geometrických a mechanických vlastností, především nárůstu její tuhosti a zvětšení tloušťky až o 27% (Fratzl, 2008).

2.1.2 Media

Prostřední, nejvíce objemná část artérie je tvořena medií, která se skládá ze třídimensionální sítě svazků kolagenních vláken, hladkých svalových buněk a elastinu. Všechny tyto části jsou uspořádány do tenkých vrstev a převážně orientovány v obvodovém směru (O'Connell *et al.*, 2008). Největší část fyziologického tlaku je u zdravého jedince přenášena právě medií. Toto zatížení je přenášeno převážně elastinem a hladkými svalovými buňkami, které umožňují remodelaci v závislosti na dlouhodobých změnách krevního tlaku. Dle studie O'Connella *et al.* (O'Connell *et al.*, 2008) zaujímá přibližně jenom 6–7% kolagenních svazků shodnou orientaci s fyziologickým zatížením. Zbylá část je rozprostřená nezávisle na převládajícím směru zatížení. Rozprostření kolagenních vláken ve stěně aorty jsme se věnovali v práci (Polzer *et al.*, 2015), kde je na histologických snímcích patrná dominantní orientace kolagenních vláken v obvodovém směru. Kolagenní vlákna jsou však v porovnání s adventicií mnohem méně zvlněná (viz Polzer *et al.* (2015) obr. 1). Tyto výsledky podporují myšlenku, že kolagenní vlákna rozprostřená v medii se spolupodílejí na přenášení fyziologického zatížení (nizkých deformací) v mnohem větší míře než bylo publikováno dříve (O'Connell *et al.*, 2008).

2.1.3 Adventitia

Nejvzdálenější vrstvou tepny od lumenu (krevního řečiště) je adventitia, která převážně sestává z fibroblastů, fibrocytů¹ a kolagenních vláken převážně I. druhu, uspořádaných do tlustých a velmi zvlněných svazků (Chow *et al.*, 2014, Polzer *et al.*, 2015). To podporuje teorii, že adventicie (díky relativně vysokému podílu fibrocytů a také uspořádání kolagenních vláken) je primárně uzpůsobena jako ochrana tepny před přetížením v podélném i obvodovém směru. U velkých tepen je navíc adventitia protkána jemnou sítí tepének a žilek *vasa vasorum*, která ji prokrvuje, protože vzdálenost od lumenu už je příliš velká pro látkovou výměnu založenou na difuzi. K výše uvedenému je potřeba dodat, že pomocí adventicie je aorta fixována k okolním tkáním.

¹Vazivové buňky, které mimo jiného produkují tropokolagen – předstupeň pro tvorbu kolagenu, ale také molekuly elastinu.

2.2 Hlavní komponenty stěny aorty

2.2.1 Hladké svalové buňky

Hladké svalové buňky (smooth muscle cells - SMC) se převážně vyskytují v médiu a jejich hlavním úkolem je jednak tvorba a organizace extracelulární matrice (ECM) a také regulace průsvitu u menších tepen. Tato matrice je tvořena proteiny elastinu a kolagenu, které podstatně určují mechanické vlastnosti cévní stěny² (Chow et al., 2014, Wagenseil & Mecham, 2009). Hladké svalové buňky tedy reagují na aktuální stav deformace a napjatosti ve stěně aorty a pomocí zvýšené nebo snížené produkce elastinu a kolagenu udržují fyziologický stav úrovně zatížení buněk ve stěně aorty (Wagenseil & Mecham, 2009). Právě těmito dvěma složkám budou věnovány následující dva odstavce. Mimo již uvedeného, tedy přenosu fyziologického zatížení a remodelace tkáně v závislosti na zatížení (Tremblay et al., 2010), se hladké svalové buňky podílejí významně na viskoelastickém chování stěny aorty, tedy na nárůstu tuhosti tepny se zvyšováním rychlosti zatěžování.

2.2.2 Elastin

Elastin je jedním z hlavních proteinů ECM a je hlavní příčinou převážně elastického chování stěny tepny. Domnívám se, že je na tomto místě vhodné uvést rozdíl mezi elastinem jako základní stavební jednotkou a elastinovými vlákny. Samotný elastin má amorfní podobu, zatímco elastinová vlákna už jsou prostorově uspořádána a jsou složena jak z elastinu, tak z mikrofibril (Wagenseil & Mecham, 2009). Vědom si tohoto rozdílu budu v dalším textu pro jednoduchost používat termín elastin i pro elastinová vlákna, pokud nebude uvedeno jinak.

Elastin se jeví jako poměrně neobvyklý protein, jelikož si ho tělo, na rozdíl od jiných proteinů (např. kolagenu), neumí v dospělosti již znovu vytvářet (Shapiro et al., 1991). Tudíž zásoba elastinu syntetizovaná v průběhu vývoje musí pokrýt celou životnost organismu – u člověka se tato doba udává v rozmezí 60 ÷ 80 let (Gosline et al., 2002). Ze své podstaty je elastin velmi poddajný a vydrží velký počet zátěžných cyklů bez viditelného porušení, zejména pro nižší hodnoty napětí (Gosline et al., 2002). Z toho lze usuzovat, že právě elastin přenáší počáteční nízká zatížení aorty a primárně se podílí na přenosu velkých opakujících se deformací – srdečního tepu.

Elastinová vlákna jsou orientována v adventicii a intimě v axiálním směru, zatímco v mediální vrstvě jsou orientována směrem obvodovým. Nicméně se zdá,

²Kolagen a elastin tvoří přibližně 50% hmotnosti tepny zbavené vody (O'Connell et al., 2008).

že celkový poměr orientace vláken do jednotlivých směrů je stejný (Gundiah et al., 2007). Právě díky tomuto prostorovému uspořádání ve stěně aorty přenáší elastin napětí v obvodovém i podélném směru a vytváří také axiální předpětí tepny (Dobrin, 1984, Dobrin et al., 1990). Z mechanického pohledu vykazuje elastin izotropní chování, které může být popsáno neo-Hookeovskou rovnicí energie napjatosti Ψ (SEDF – Strain Energy Density Function), která pro nestlačitelný materiál nabývá následujícího tvaru (Gundiah et al., 2007):

$$\Psi = c_{10}(I_1 - 3), \quad (2.1)$$

kde I_1 představuje první invariant pravého Cauchy-Greenova deformačního tenzoru a parametr c_{10} [Pa] definuje tuhost materiálu (polovina počátečního modulu pružnosti ve smyku). Hodnoty c_{10} získané pomocí různých metod separace elastinu jsou v rozmezí 77–163 kPa (Gundiah et al., 2007).

2.2.3 Kolagen

Druhým důležitým proteinem ECM je kolagen, který má mnoho různých podob. V lidském těle bylo doposud rozlišeno přes 25 typů kolagenních proteinů. Z mechanického pohledu jsou významné ty proteiny, které jsou schopny se seskupovat ve fibrily. Mezi ně patří kolageny I. a III. druhu, které jsou právě obsaženy v cévní stěně a jsou zodpovědné za její deformační zpevnování. Prostorově vytvářejí tyto kolagenní proteiny trojšroubovice skládající se z polypeptických řetězců, které se navzájem spojují a utvářejí kolagenní vlákna. Velikost řetězců, způsob jejich propojení, stejně jako množství proteoglykemických vazeb zásadně ovlivňuje mechanické vlastnosti kolagenních vláken. Zejména pevnost kolagenního vlákna je závislá na enzymatických vazbách proteinu lysyl oxidasy (LOX) mezi jednotlivými polypeptickými řetězci a fibrilami (Carlisle et al., 2010, Wagenseil & Mecham, 2009). Oproti elastinu vykazuje kolagen velmi malé přetvoření (přibližně do 10 % (Fratzl, 2008)) a vysokou pevnost v tahu udávanou v řádech GPa. Právě tato vysoká pevnost vede na myšlenku, že nízké hodnoty zatížení jsou přenášeny elastinovými vlákny, zatímco vyšší hodnoty a případné přetížení je absorbováno kolagenními vlákny.

Orientace kolagenních vláken je ve zdravé aortě převážně v obvodovém směru (Fratzl, 2008). Experimentální data uvedená v práci Polzer *et al.* (Polzer et al., 2015) naznačují, že se ve stěně postupně mění směrový rozptyl kolagenních vláken s narůstající vzdáleností od lumenu. Původně velmi anizotropní rozptyl v luminálních vrstvách přechází postupně do téměř izotropního rozptylu kolagenních vláken v adventicii.

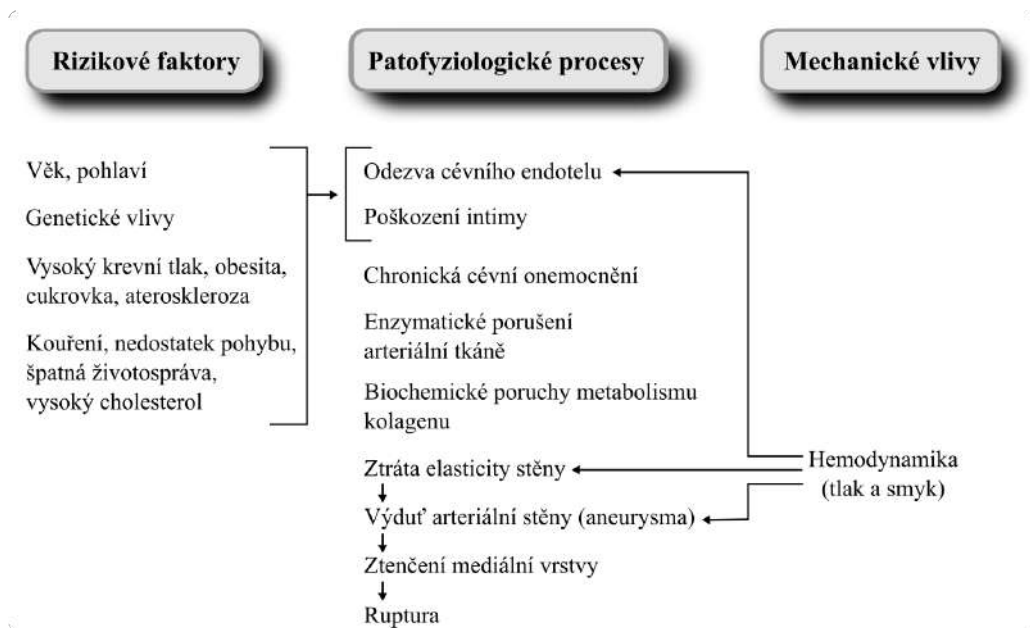
Z experimentálních studií pojednávajících o orientaci kolagenních vláken v axiální stěně bych zde uvedl práci (Canham et al., 1989), kde stanovili jednu skupinu kolagenních vláken, dvě skupiny vláken publikovali (Canham et al., 1992, Finlay et al., 1995), zatímco (Rezakhaniha et al., 2012) identifikovali tyto skupiny čtyři. Nicméně pro jednoznačné rozhodnutí je zapotřebí dalšího výzkumu, i když čtyři skupiny vláken se zahrnutím jejich rozptylu už se velmi blíží jejich izotropnímu směrovému rozdělení.

2.3 Degenerativní změny ve stěně AAA

Počátek a růst AAA bývá spojován se změnami pojivové tkáně uvnitř medie a adventicie, zejména s proteolytickým rozpadem elastinu, úbytkem hladkých svalových buněk a remodelací mezibuněčné struktury v důsledku genetických dispozic nebo mechanických a biochemických procesů (Alexander, 2004, Sakalihan et al., 2005). Porovnání procentuálního zastoupení jednotlivých složek normální aorty a tkáně AAA je uvedeno v tab. 2.1. Jedním z hlavních biochemických faktorů podílejících se na rozpadu mezibuněčné sítě je zvýšená aktivita *metalloproteináz* (MMPs). Tyto specifické enzymy (MMP-2 a MMP-9) jsou ve stěně tepny produkovány hladkými svalovými buňkami, uvnitř trombu je syntetizují leukocyty (Kazi et al., 2005, Swedenborg & Eriksson, 2006). V důsledku působení MMPs dochází v tkáni k úbytku elastinu, který je kompenzován zvýšenou produkcí kolagenních vláken I. a III. typu. Tím tepna značně mění svoje elastické vlastnosti, dochází k jejímu postupnému rozšiřování a snižování axiálního předepnutí. Úbytek jednotlivých složek společně s porušením struktury pojivové tkáně způsobuje také zmenšení tloušťky stěny (převážně medie) (Alexander, 2004). V důsledku rozšíření aorty a snahy těla zachovat laminární proudění v profilu krevního toku (tzv. lumen) se u většiny AAA vytváří také intraluminální trombus (Hans et al., 2005), jemuž je věnována pozornost v §2.4. Na obr. 2.2 jsou shrnuty podstatné faktory, které se podílejí na vzniku a růstu AAA.

2.4 Struktura a patogeneze intraluminálního trombu

U zdravého člověka není intraluminální trombus (ILT) v aortě přítomen, avšak vzniká v důsledku degenerativních změn a objevuje se u většiny aortálních výdutí (Hans et al., 2005). Otázka jeho vlivu na rizikovost aneurysmatu (tedy možnost

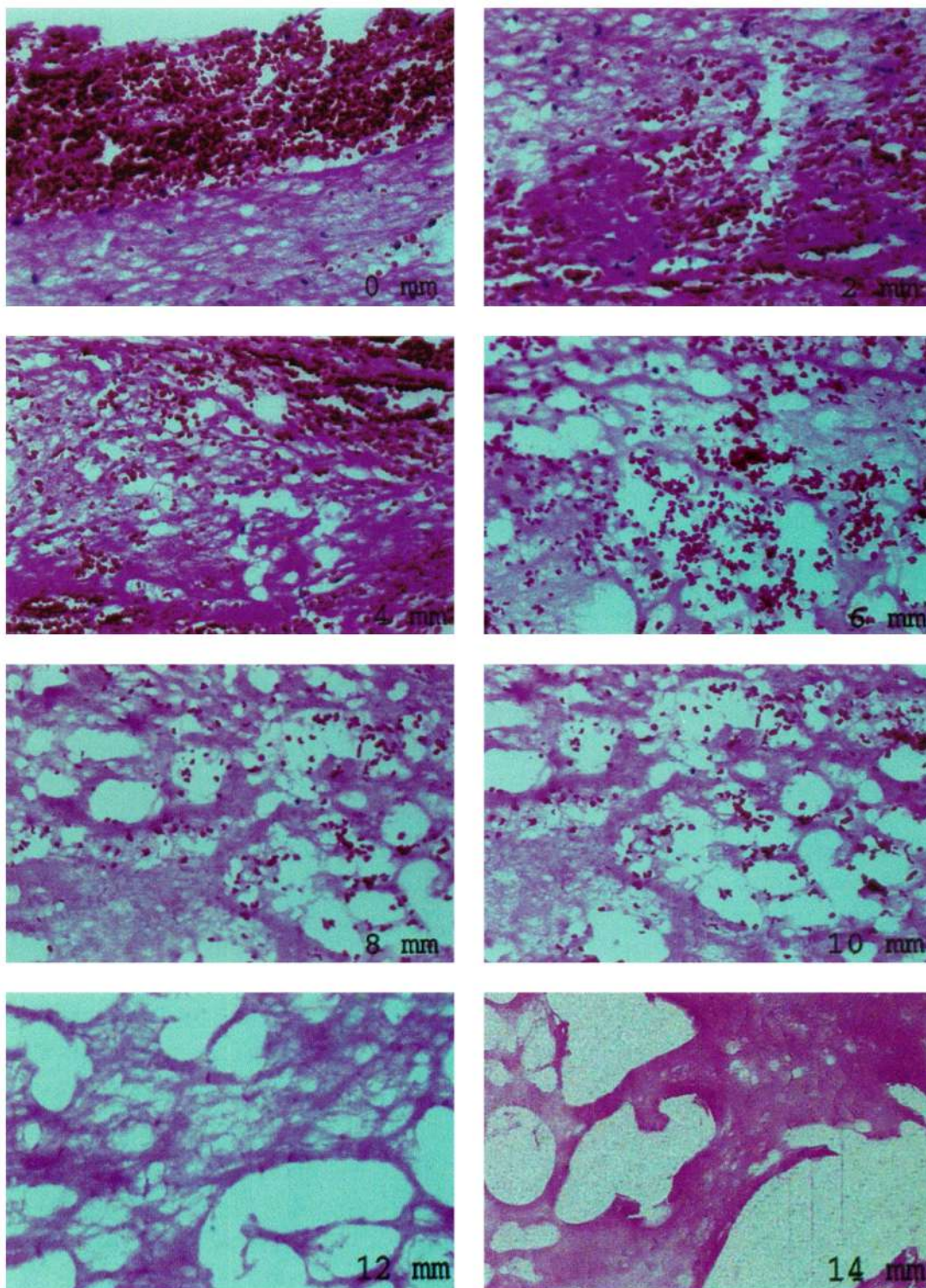


OBR. 2.2: Zjednodušený přehled vzájemného působení různých vlivů na vznik a vývoj arteriálního aneurysmatu. Převzato z [Lasheras \(2007\)](#).

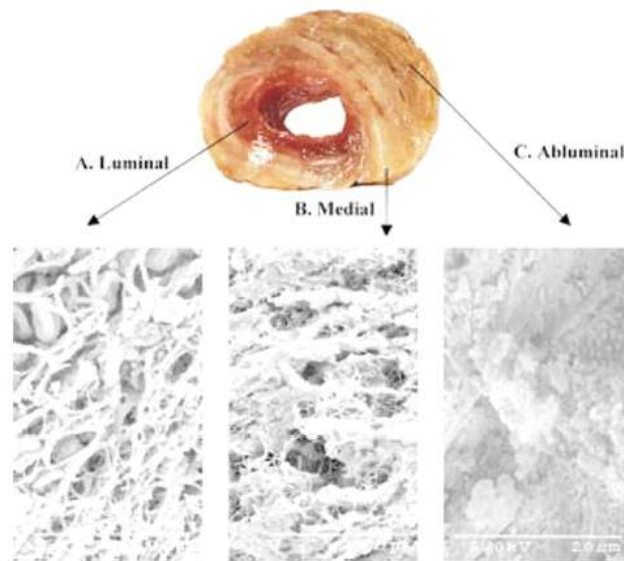
jeho ruptury) není stále ještě jednoznačně zodpovězena. Z posledních studií se jeví, že ILT podléhá stále remodelaci, zejména fibrinové struktury a také degradaci, jež je u staršího trombu nejvíce zřetelná v blízkosti stěny ([Adolph et al., 1997](#), [Ashton et al., 2009](#), [Wang et al., 2001](#)). Tyto degenerativní změny jsou také zřejmé ze snímků pořízených elektronovou mikroskopií ([Adolph et al., 1997](#), [Gasser et al., 2010b](#), [Wang et al., 2001](#)), na kterých je patrný rozpad fibrinové struktury společně s významnější tvorbou kavit s narůstající vzdáleností od lumenu (obr. 2.3 a obr. 2.4).

| | | Zdravá aorta (%) | Aneurysma (%) |
|---------|---------|------------------|---------------|
| Elastin | Průměr | 22,7 | 2,4 |
| | Maximum | 32,5 | 6,7 |
| | Minimum | 16,1 | 0,2 |
| SMCs | Průměr | 22,6 | 2,2 |
| | Maximum | 33,6 | 6,4 |
| | Minimum | 15,5 | 0,4 |
| Kolagen | Průměr | 54,8 | 95,5 |
| | Maximum | 63 | 98 |
| | Minimum | 48 | 91,4 |

TABULKA 2.1: Přehled procentuálního zastoupení základních stavebních složek pro zdravou aortu a aneurysmatickou tkáň. Převzato z [Bessa et al. \(2012\)](#).

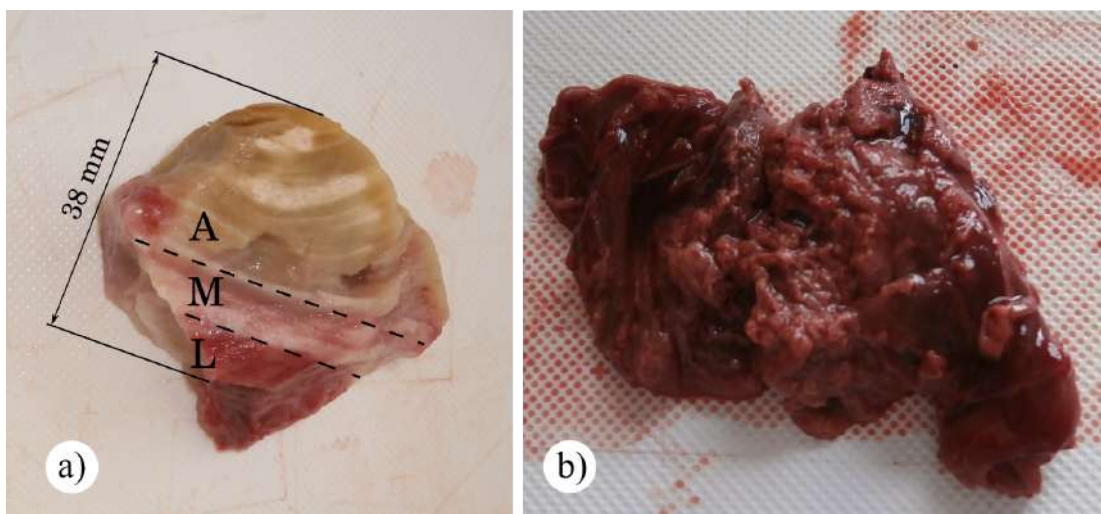


OBR. 2.3: Histologické řezy ze vzorků trombu. Dutinky procházejí napříč tloušťkou a jejich podíl narůstá s přibývajícím vzdáleností od lumenu (uvedena v pravém dolním rohu každého obrázku). Původní zvětšení, 100×. Převzato z [Adolph et al. \(1997\)](#).



OBR. 2.4: Mikrostruktura jednotlivých vrstev ILT. Převzato z (Wang et al., 2001).

Z makroskopického pohledu většina autorů rozlišuje u ILT tři základní vrstvy, které lze většinou od sebe rozpoznat pouhým okem (viz obr. 2.5 a), a to luminální (L – nejbliže řečišti), mediální (M – střední) a abluminální vrstvu (A – nejbliže aortální stěně). Luminální vrstva bývá povětšinou jasně červená díky přítomnosti červených krvinek, mediální vrstva má světlejší barvu a nejhlubší abluminální vrstva může být světle hnědá až téměř černá. V průběhu formování ILT není



OBR. 2.5: Vzoroky ILT: a) se zřetelnou laminární strukturou a znázorněnými hranicemi mezi jednotlivými vrstvami; b) nekompaktní – “rosolovitá” struktura utvořeného trombu

však nutné, aby se plně vyvinuly všechny fáze. Toho si lze povšimnout zejména u trombů s malou tloušťkou (~ 5 mm), kde převládá „čerstvá“ luminální vrstva.

Struktura utvářeného trombu se pacient od pacienta liší. Ve většině případů můžeme nalézt poměrně zřetelnou laminární strukturu (obr. 2.5 a). Někdy je však vytvořený trombus nekompaktní a svou konzistencí připomíná spíše rosol (obr. 2.5 b). Tento typ trombu je nemožné testovat pomocí mechanických zkoušek.

Stanovení přesné hranice mezi jednotlivými regiony je velmi závislé na posouzení operátorem a podle mého názoru bez histologické analýzy naprosto nemožné. Nicméně se domnívám se, že určení přesného rozhraní jednotlivých vrstev není podstatné, jelikož může vést k nepřesné interpretaci, že mechanické vlastnosti vrstev ILT se skokově mění. Podíváme-li se totiž na strukturu trombu, neshledáme pro takovouto domněnku žádné opodstatnění, protože jednotlivé vrstvy mezi sebou postupně přecházejí. Na základě prostudované literatury a vlastního pozorování se mi zdá důležité připomenout na tomto místě jednu samozřejmou skutečnost. Každý člověk je jedinečný a tudíž i utvořený trombus je jiný a tloušťky jednotlivých vrstev se od sebe liší. Proto může být obtížné rozhodnout, zda porovnávat mezi sebou vzorky ze stejné vrstvy, anebo je vzájemně přiřazovat spíše podle srovnatelné vzdálenosti od lumenu.

Z tohoto důvodu se zdá vhodnější vztahovat mechanické vlastnosti trombu k vzdálenosti od lumenu. Z čehož vyplývá, že mechanické chování by mělo být popsáno spojitě a měnit se společně s narůstající tloušťkou trombu, respektive vzdáleností od lumenu (Gasser et al., 2008, Polzer et al., 2013b). Nicméně pro nedostatek vhodnější terminologie, ale i s ohledem na jinde publikované výsledky, bude v dalším textu nadále používáno již zavedené členění trombu (luminální, mediální, abluminální vrstva).

Zaměříme-li se nyní na mikroskopickou úroveň, tak zjistíme, že heterogenita ILT je způsobena rozdílným zastoupením strukturních komponent. Mezi ně patří hlavně fibrinová vlákna, krevní destičky, červené a bílé krvinky, lipidy, buňky a jejich zbytky (Adolph et al., 1997, Karšaj & Humphrey, 2009, Ryan et al., 1999, Sagan et al., 2012, Tong, 2013). Nejvíce buněčných aktivit probíhá v luminální vrstvě, formuje se zde fibrin a začínají zde také srážecí procesy. Její jasně červená barva je právě způsobena převažujícím podílem krevních buněk. Mediální vrstva je již tvořena převážně fibrinovou strukturou, která přechází ve vrstvu abluminální. Jelikož s přibývajícím stářím trombu a vzdáleností od lumenu dochází k výraznému úbytku buněk a následně neschopnosti nové syntézy, obsahuje abluminální vrstva převážně degradovanou fibrinovou síť a zbytkové proteiny. Nicméně podíl zmíněných stavebních komponent se ve stejné vzdálenosti od lumenu může pacient od pacienta velmi lišit v důsledku rozdílné proteolytické aktivity (Tong et al., 2011, Wilson et al., 2013).

Kapitola 3

Konstitutivní modelování

Pro výpočtové modelování jsou klíčové tři submodely, zahrnující základní vstupní informace: geometrie, použité zatížení–okrajové podmínky a mechanické vlastnosti materiálu. Tato kapitola je věnována poslední z nich, tedy přehledu konstitutivních modelů používaných pro popis arteriální tkáně a ILT.

3.1 Obecné předpoklady

Základní myšlenkou konstitutivních modelů je snaha o matematický popis mechanických vlastností materiálu. Hovoříme tedy o vyjádření vztahů mezi stavovými proměnnými materiálu (tenzorem deformace a tenzorem napětí). Ze všech hyperelastických modelů navržených v průběhu posledních desetiletí se omezíme na ty, které jsou používané pro popis mechanického chování měkkých tkání. Všechny uvedené modely budou nadále uvažovány jako nestlačitelné (z důvodu velkého obsahu vody uvnitř tkáně) a také u nich nebude bráno v potaz viskoelastické chování stejně tak jako možný růst a remodelace tkáně. Popisují tedy pseudoelastické chování měkkých tkání. Tyto modely můžeme rozdělit na dva typy: fenomenologické a strukturní. Dále si pro oba dva typy stanovíme určité předpoklady, které nám usnadní matematický zápis.

3.2 Přehled modelů

3.2.1 Fenomenologické modely

Modely založené na tomto přístupu se nesnaží postihnout pomocí matematického popisu strukturu tkáně, ale její celkovou odezvu. Jejich omezením je fakt, že konstanty většinou nemají jasný fyzikální význam, tudíž z jejich velikosti nelze usuzovat na vlastnosti tepny a modely často nemají dobré prediktivní vlastnosti v oblasti (rozsahu složek přetvoření), kde nebyly fitovány na experimentální data.

3.2.1.1 Polynomické modely

Model Neo-Hooke Tento nejjednodušší hyperelastický polynomický model je velmi často využíván pro popis mechanických vlastností elastinu (§2.2.2) a extracelulární matrice u strukturních modelů¹ (§3.2.2); matematický zápis byl uveden v rov. 2.1. Je zde potřeba zmínit, že jeho predikční schopnosti jsou platné hlavně pro oblast nekonečně malých deformací.

Model Mooney–Rivlin Hyperelastický izotropní model materiálu původně navržený pro gumové materiály, bez uvažování objemové změny (Mooney, 1940):

$$\Psi = \sum_{i,j=0}^N c_{ij} (I_1 - 3)^i (I_2 - 3)^j, \quad (3.1)$$

kde I_2 je druhý invariant pravého Cauchy–Greenova deformačního tenzoru a kombinace konstant c_{ij} [Pa] určuje tuhost materiálu a její závislost na velikosti deformace (zpevnění). Obvykle se používá pro $N \leq 3$.

Model Yeoh Yeoh je hyperelastický izotropní model původně navržený pro deformačně-napěťové stavy gumy s obsahem plniv a v obecné podobě může být zapsán následovně² (Yeoh, 1990):

$$\Psi = \sum_{i=1}^N c_{i0} (I_1 - 3)^i. \quad (3.2)$$

¹Ačkoliv bývá řazen k fenomenologickým modelům, lze ho odvodit z entropického chování polymerů, přičemž smykový modul je možno stanovit z Boltzmannovy konstanty. Tudíž na jisté elementární úrovni zohledňuje strukturu materiálu.

²Jedná se o upravenou podobu modelu Mooney–Rivlin (rov. 3.1) pro $j=0$, tedy je vynechán invariant I_2 .

Model Yeoh je obecně vůči modelu Mooney–Rivlin robustnější v predikci jiných deformačně napěťových stavů (pokud je zaručena kladná hodnota jeho konstant) a konstanty c_{i0} [Pa] mají jasnější vztah k tuhosti materiálu a její progresivitě s rostoucí deformací.

3.2.1.2 Modely založené na hlavních protaženích

Ogden model Hyperelastický izotropní model materiálu, který byl původně navržený Ogdenem pro gumové materiály (Ogden, 1972) v podobě SEDF:

$$\Psi = \sum_{r=1}^3 \frac{\mu_r}{\alpha_r} (\lambda_1^{\alpha_r} + \lambda_2^{\alpha_r} + \lambda_3^{\alpha_r} - 3). \quad (3.3)$$

Zde $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ jsou hlavní poměrná protažení, parametr μ_r [Pa] určuje tuhost materiálu a α_r [-] je bezrozměrný materiálový parametr.

3.2.1.3 Exponenciální modely

Veronda–Westmann model Původně byl tento exponenciální model navržen v obecnější podobě pro vyjádření deformačně-napěťové závislosti pro kůži (Veronda & Westmann, 1970). Jeho přepsáním do speciálního tvaru obdržel Demiray izotropní hyperelastický model materiálu, který dokáže velmi dobře postihnout zpevňující charakter měkké tkáně (Demiray, 1981) a je vyjádřený SEDF:

$$\Psi = \frac{a}{b} \left(e^{\frac{b}{2}(I_1-3)} - 1 \right), \quad (3.4)$$

kde a [Pa] je materiálový parametr určující tuhost materiálu a b [-] definuje progresi deformačně-napěťové křivky. Delfino (Delfino et al., 1997) ho ještě rozšířil o člen popisující objemovou stlačitelnost, takže bývá často označován jménem některého z nich.

Model Fung Pro popsání arteriální stěny byl Fungem *et al.* (Fung et al., 1979) navržen plně fenomenologický hyperelastický anizotropní model formulovaný pomocí tenzoru přetvoření v hlavních materiálových osách (R – radiální, Θ – obvodový, Z – axiální směr arteriální stěny), z nichž je SEDF vyjádřená vztahem:

$$\Psi = \frac{c}{2} (e^Q - 1), \quad (3.5)$$

kde c [Pa] je materiálový parametr vztahující se k tuhosti a exponent Q je pro obecnou formu modelu zapsán následovně:

$$Q = b_1 E_{\Theta\Theta}^2 + b_2 E_{ZZ}^2 + b_3 E_{RR}^2 + 2b_4 E_{\Theta\Theta} E_{ZZ} + 2b_5 E_{ZZ} E_{RR} + 2b_6 E_{RR} E_{\Theta\Theta}. \quad (3.6)$$

Zde b_i [-] jsou další materiálové parametry, zatímco E_{ii} jsou hlavní komponenty Green-Lagrangeova tenzoru přetvoření spojené s cylindrickým souřadnicovým systémem arteriální stěny (R , Θ , Z) v referenční pozici.

Model Choi–Vito Zcela fenomenologický hyperelastický anizotropní model materiálu původně navržený pro psí perikard v práci Choi–Vito (Choi & Vito, 1990). Ačkoliv v zápisu SEDF není uvedeno přetvoření ve třetím směru, jde o tři dimenzionální model, jelikož přetvoření ve třetím (radiálním) směru je nepřímo určeno prostřednictvím $E_{\Theta\Theta}$ a E_{LL} v důsledku předpokladu nestlačitelnosti. Nicméně z nutnosti dopočítání třetí složky přetvoření z předchozích dvou směrů vyplývá, že i tuhost v radiálním směru je funkcí zbývajících dvou. Tudíž model v této podobě nemůže postihnout obecnou prostorovou ortotropii. Uváděné souřadnice Θ , L představují obvodový respektive podélný směr ortotropického materiálu (Sacks & Chuong, 1998) a SEDF je určena vztahem:

$$\Psi_E = b_0 \left(e^{\frac{1}{2}b_1 E_{\Theta\Theta}^2} + e^{\frac{1}{2}b_2 E_{LL}^2} + e^{b_3 E_{\Theta\Theta} E_{LL}} - 3 \right), \quad (3.7)$$

kde E_{ii} jsou hlavní komponenty Green–Lagrangeova tenzoru přetvoření vztažené k hlavním ortotropickým osám materiálu (Θ , L); b_0 [Pa], b_1, b_2, b_3 [-] jsou pak materiálové parametry.

3.2.2 Strukturní modely

Základní myšlenkou tohoto přístupu je vytvoření takového modelu materiálu, který bude zohledňovat histologickou strukturu aortální stěny (zejména orientaci vláken). Nejpropracovanější je v tomto směru asi model Lanir (1983), který však pro svou složitost nebývá příliš často využíván ani citován. Jednodušší modely uváděné tomto odstavci patří k tzv. modelům založeným na struktuře, tedy zohledňují strukturu materiálu aspoň do určité míry. Jsou zde uvedeny modely, které vycházejí z teorie mechaniky vláknových kompozitů (ve velkých deformacích) a jsou navrženy primárně pro stěnu tepny.

Model Holzapfel, Gasser, Ogden (HGO) Tento hyperealastický anizotropní model byl uveden v práci [Holzapfel et al. \(2000\)](#) pro popsání deformačně-napěťové závislosti jedné vrstvy arteriální stěny. SEDF je rozdělena na izotropickou a anizotropickou část:

$$\Psi(I_1, I_4, I_6) = \Psi_g(I_1) + \Psi_f(I_4, I_6), \quad (3.8)$$

přičemž izotropní složka (matrice) je popsána neo-Hookeovským modelem (rov. 2.1) a anizotropní část, představující dvě skupiny symetrických (a mechanicky ekvivalentních) kolagenních vláken, následující funkcí:

$$\bar{\Psi}_f(I_4, I_6) = \frac{k_1}{2k_2} \sum_{i=4,6} \left(e^{k_2(I_i-1)^2} - 1 \right), \quad (3.9)$$

kde I_4 a I_6 jsou (pseudo) invarianty pravého Cauchy–Greenova tenzoru přetvoření a představují (za předpokladu afinní deformace, tj. stejné pro matrici i vlákna) druhou mocninu poměrného protažení vláken v příslušném směru, parametry k_1 [Pa], k_2 [-] > 0 jsou spojeny s mechanickými vlastnostmi vláken. Tento model předpokládá, že se vlákna zapojují pouze při jejich protažení ($I_4 > 1$, $I_6 > 1$). To znamená, že pokud je I_4 (nebo I_6) menší nebo rovno jedné, je příspěvek odezvy dané skupiny vláken uvažován jako nulový (to reprezentuje nulovou tuhost vláken v tlaku). Pokud jsou obě skupiny vláken v tlaku, je zatížení přenášeno pouze matricí s čistě izotropní odezvou ([Holzapfel et al., 2000](#)). Tato situace však u tepen obvykle nenastává.

Model Holzapfel, Sommer, Gasser (Holzapfel, 2005) Hyperelastický anizotropní model představený [Holzapfel et al. \(2005\)](#) je popsán SEDF v podobě $\Psi(I_1, I_4) = \Psi_g(I_1) + \Psi_f(I_1, I_4)$,

$$\Psi_g(I_1) = \mu(I_1 - 3) \quad (3.10)$$

$$\Psi_f(I_1, I_4) = \frac{k_1}{2k_2} \sum_{i=1,2} \left(e^{k_2[(1-\rho)(I_1-3)^2 + \rho(I_{4,i}-1)^2]} - 1 \right). \quad (3.11)$$

Jedná se o rozšíření předcházejícího modelu (*HGO*)³, které spočívá ve snaze zahrnout i rozptýl směrů vláken, respektive dosáhnout také izotropní složky deformačního zpevnění, které u modelu neo-Hooke chybí ([Holzapfel et al., 2005](#)). SEDF pro matrici ($\Psi_g(I_1)$) odpovídá neo-Hookeovskému modelu (rov. 2.1). Fyzikální význam ostatních parametrů je stejný jako u předcházejícího modelu, $\rho \in \langle 0, 1 \rangle$ [-] představuje váhový faktor mezi úplnou izotropií a transversální izotropií příspěvku

³Oproti němu mění označení invariantů I_4 a I_6 na $I_{4,1}$, $I_{4,2}$ respektive.

každé skupiny vláken. Hodnota $\rho = 1$ koresponduje s jednosměrnou orientací všech vláken v rámci dané skupiny vláken (tj. bez rozptylu vláken) a vztah (rov. 3.11) následně přechází do modelu *HGO* (rov. 3.9) se dvěma osnovami vláken, zatímco pro spodní limit $\rho = 0$ platí izotropní distribuce vláken (Holzapfel & Ogden, 2010).

Model Gasser, Ogden, Holzapfel (GOH) Obdobně jako předchozí dva modely, byl anizotropický hyperelastický model materiálu navržen Gasserem *et al.* pro popis mechanických vlastností arteriálních vrstev, ve formálním zápisu (Gasser *et al.*, 2006):

$$\Psi(\mathbf{C}, \mathbf{B}_i) = \Psi_g(\mathbf{C}) + \sum_{i=1,2} \Psi_{f,i}(\mathbf{C}, \mathbf{H}_i(\mathbf{a}_{0i}, \kappa)). \quad (3.12)$$

Model navrhuje vlákna s axisymetrickým rozptylem (např. i do radiálního směru u cévních stěn), který je popsán distribuční funkcí charakterizovanou parametrem rozptylu κ . Nekolagenní matrice je uvažována jako nestlačitelná, izotropní a je popsána neo-Hookeovským modelem (rov. 2.1). Je vyztužena dvěma symetrickými (mechanicky stejnými) příčně izotropickými skupinami vláken. Navrhovaná SEDF pro i -tou skupinu vláken je ve tvaru (Gasser *et al.*, 2006):

$$\Psi_{f,i}(\mathbf{C}, \mathbf{H}_i) = \frac{k_1}{2k_2} \left(e^{k_2 E_i^2} - 1 \right), \quad i = 1, 2, \quad (3.13)$$

$$E_i = \mathbf{H}_i : \mathbf{C} - 1, \quad \mathbf{H}_i = \kappa \mathbf{I} + (1 - 3\kappa) (\mathbf{a}_{0i} \otimes \mathbf{a}_{0i}), \quad (3.14)$$

kde \mathbf{H}_i je zobecněný strukturální tensor a \mathbf{C} představuje pravý Cauchy–Greenův deformační tenzor. Dále je zavedena míra deformace v preferenčním (středním) směru skupiny vláken E_i . Parametry k_1 [Pa], k_2 [-] > 0 jsou určovány z mechanických zkoušek, zatímco parametry \mathbf{a}_{0i} a κ by mohly (a měly) být stanoveny z histologické analýzy. \mathbf{a}_{0i} jsou směrové vektory určující střední orientaci jednotlivých skupin vláken a $\kappa \in \langle 0, \frac{1}{3} \rangle$ bývá označován jako parametr disperze a charakterizuje rozptyl směrů kolagenních vláken. Dolní hranice $\kappa = 0$ pak odpovídá nulovému rozptylu – všechna vlákna dané skupiny jsou ve stejném směru a model se blíží modelu *HGO* (rov. 3.9), horní mez $\kappa = \frac{1}{3}$ stanovuje maximální rozptyl vláken odpovídající izotropní distribuci (Gasser *et al.*, 2006). Zavedení strukturního tenzoru namísto složitější integrace přes kouli však vnáší do modelu chybu, která roste s velikostí rozptylu (Skacel & Bursa, 2014).

Martufi–Gasser Konstitutivní model představený Martufim a Gasserem navazuje na původní Lanirův model s uvažováním vlnitosti vláken (Lanir, 1983). Celková SEDF může být opět zapsána formálním vztahem $\Psi(\mathbf{C}) = \Psi_g(\mathbf{C}) + \Psi_f(\mathbf{C}, \boldsymbol{\rho})$, kde pro nekolagenní matrici ($\Psi_g(\mathbf{C})$) je zvolena neo-Hookeovská SEDF (rov. 2.1).

V jejich úpravě uvažují anizotropní hyperelastickou strukturu arteriální stěny se dvěma skupinami vláken s axisymetrickým rozptylem tak jako předchozí model *GOH* (Gasser et al., 2006), na rozdíl od něj však křivka zpevnění vláken není popsána čistě fenomenologicky exponenciální funkcí, ale pomocí funkce hustoty pravděpodobnosti ρ , která určuje distribuci vlnitosti různých kolagenních vláken (Martufi & Gasser, 2011). Distribuční funkce vlnitosti může být obecná, ale nutnost numerické integrace jednotlivých příspěvků vláken ze všech prostorových směrů omezuje složitost reálně použitelných distribučních funkcí.

Výztužná kolagenní vlákna jsou tedy uvažována jako zvlněná a míra jejich zvlnění je popsána pravděpodobnostní funkcí s bilineární symetrickou trojúhelníkovou distribucí vlnitosti λ , která vede na následující deformačně-napěťovou závislost jednosměrně orientovaných vláken:

$$T(\lambda) = \begin{cases} 0, & 0 < \lambda \leq \lambda_{\min} \\ \frac{2k}{3a^2} (\lambda - \lambda_{\min})^3, & \lambda_{\min} < \lambda \leq b \\ k \left[\lambda - \frac{2(\lambda - \lambda_{\max})^3}{3a^2} - b \right], & b < \lambda \leq \lambda_{\max} \\ k(\lambda - b), & \lambda_{\max} < \lambda < \infty. \end{cases} \quad (3.15)$$

Zde $a = \lambda_{\max} - \lambda_{\min}$, $b = (\lambda_{\min} + \lambda_{\max})/2$, T [Pa] je první Piola–Kirchhoffovo napětí. Parametr k určuje tuhost kolagenních vláken, λ [-] představuje poměrné protažení vláken. $\lambda_{\min}, \lambda_{\max}$ [-] jsou protažení vláken související s mezními hodnotami jejich vlnitosti, přičemž pro malá protažení $\lambda < \lambda_{\min}$ je zapojena pouze elastická matrice. Pro narůstající hodnoty protažení dochází k postupnému napřimování a zapojování kolagenních vláken, kdy pro $\lambda > \lambda_{\max}$ už jsou napřimena a tudíž zapojena všechna kolagenní vlákna (Martufi & Gasser, 2011).

3.3 Využití konstitutivních modelů pro modelování stěny AAA

V této části jsou vybrány konstitutivní modely, které jsou používány pro popis deformačně-napěťové odezvy stěny AAA na základě jejich mechanických zkoušek.

Pravděpodobně nejvíce vžitým konstitutivním modelem používaným pro tkáň AAA je Yeoh druhého řádu (rov. 3.2), často označovaný jako RV–model (Raghavan–Vorp model). Jeho materiálové parametry ($c_{10} = 177$ kPa, $c_{20} = 1881$ kPa) byly stanoveny z jednoosých tahových zkoušek aneurysmatické tkáně v obvodovém a axiálním směru (Raghavan & Vorp, 2000, Raghavan et al., 1996). RV–model je hojně využívaný v řadě výpočtových simulací AAA (Doyle et al., 2009, Fillinger

TABULKA 3.1: Střední hodnoty materiálových konstant pro VG–model.

| Model | Materiálový parametr | | | |
|----------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | b_0 [kPa] | b_1 [–] | b_2 [–] | b_3 [–] |
| VG–model – AAA | 0,14 | 477 | 416,4 | 408,3 |
| VG–model – A | 0,32 | 141,1 | 143,3 | 127,9 |

Data jsou získaná z biaxiálních zkoušek zdravé (A) a aneurysmatické stěny (AAA) [Vande Geest et al. \(2006b\)](#).

[et al., 2003, 2002](#), [Maier et al., 2010](#), [Polzer et al., 2013c](#), [Reeps et al., 2010](#), [Speelman et al., 2010](#)), i když mírně nadhodnocuje napětí ve stěně (o ~ 30 kPa) ([Polzer et al., 2013c](#)). To může být zapříčiněno právě fitováním materiálových konstant z jednoosých zkoušek, ačkoliv je ve stěně AAA *in vivo* obecně prostorová napjatost, jejíž přiměřenou aproximací může být spíše napjatost dvouosá (radiální napětí je obvykle významně menší oproti ostatním složkám).

Poměrně odlišné výsledky přinesl článek [Vande Geest et al. \(2006b\)](#), kde publikovali výsledky biaxiálních tahových zkoušek na vzorcích obdržených ze zdravých (A) a aneurysmatických aort. Získaná data fitovali anizotropním modelem Choi–Vito (rov. 3.7) s průměrnými hodnotami konstant pro stěnu AAA uvedenými v tab. 3.1. Tento model je dále označován jako VG–model. Aneurysmatická tkáň vykazovala nižší počáteční tuhost (souvisící s konstantou b_0) a mnohem výraznější zpevnění (dané ostatními konstantami modelu) jak v porovnání se zdravou aortou (A), tak s daty, které publikoval [Raghavan et al.](#) (viz obr. 6 v práci [Raghavan & Vorp \(2000\)](#)). Práce našeho týmu ukázala, že VG–model, i když používá průměrované hodnoty koeficientů přes všechny vzorky, dává podobné hodnoty maximálních napětí ve stěně (peak wall stress – PWS) jako konstitutivní model (pětiparametrický Yeoh – rov. 3.2) odpovídající konkrétním pacientům (*patient specific* – PS) ([Polzer et al., 2013c](#)). Nicméně použití VG–modelu (bez zahrnutí zbytkové napjatosti) vede k nezanedbatelnému gradientu napětí po tloušťce stěny ([Polzer et al., 2013c](#)), což je v rozporu s předpokladem o rovnoměrném rozložení napětí po tloušťce stěny ([Fung, 1991](#)).

Přehled fenomenologických modelů používaných pro konstitutivní modelování stěny AAA uzavírá model navržený [Demirayem et al.](#) (rov. 3.4) použitý v pracích ([Polzer et al., 2013b](#), [Rodríguez et al., 2008](#)). Ačkoliv obě práce vycházejí ze stejných experimentálních dat publikovaných [Vande Geestem et al.](#) ([Vande Geest et al., 2006b](#)), jsou hodnoty konstant uvedených v (tab. 3.2) velmi rozdílné. To je patrně způsobeno odlišným způsobem fitování materiálových konstant. Zatímco v článku [Polzer et al. \(2013b\)](#) byl model materiálu prokládán daty z biaxiálních zkoušek ode všech pacientů současně, v publikaci [Rodríguez et al. \(2008\)](#) byla

použita data pouze vybraného reprezentativního pacienta.

TABULKA 3.2: Materiálové konstanty pro Demiray model stěny AAA.

| Autor | Materiálový parametr | |
|-------------------|----------------------|---------|
| | a [kPa] | b [-] |
| Rodriguez, et al. | 1,04 | 280,4 |
| Polzer, et al. | 17 | 88 |

U výše uvedených modelů nebyla zatím brána v potaz histologická stavba tepny. Její strukturu se snaží postihnout následující matematické modely. Model publikovaný Holzapfelem *et al.* (Holzapfel et al., 2000) v roce 2000 (rov. 3.8) – původně pro zdravou cévní stěnu, byl pro stěnu AAA upraven Tongem *et al.* (Tong et al., 2011) do následující podoby:

$$\Psi = \mu (I_1 - 3) + \frac{k_1}{2k_2} \left(e^{k_2[(1-\rho)(I_1-3)^2 + \rho(I_4-1)^2]} - 1 \right). \quad (3.16)$$

To je vlastně shodný model jako Holzapfel, 2005 (rov. 3.10, rov. 3.11), pouze omezený na jednu skupinu vláken. Zde bych chtěl zmínit, že pouze jednu skupinu kolagenních vláken ve stěně zdravé prasečí aorty potvrdily i naše vlastní výsledky (Polzer et al., 2015). Hodnoty jednotlivých parametrů určené na základě experimentálního měření jsou uvedeny v tab. 3.3.

TABULKA 3.3: Střední hodnoty materiálových parametrů pro stěnu AAA podle Tong et al. (2011).

| Model Holzapfel, 2005 | Materiálový parametr | | | | | |
|-----------------------|----------------------|-------------|-----------|---------------|------------|-------|
| | μ [kPa] | k_1 [kPa] | k_2 [-] | φ [°] | ρ [-] | R^2 |
| | 7,1 | 61 | 114,7 | 31,9 | 0,32 | 0,95 |

Parametr φ definuje úhel směru vláken od obvodového směru, ρ podíl vláken rozložených v daném směru (anizotropně) (Tong et al., 2011).

Stejný přístup použil také Rodríguez et al. (2008), kde předpokládali dvě symetrické skupiny vláken se stejnými mechanickými vlastnostmi a matematickým zápisem SEDF v následujícím tvaru:

$$\Psi = \mu (I_1 - 3) + \frac{k_1}{2k_2} \left\{ e^{k_2[(1-\rho)(I_1-3)^2 + \rho(I_4-I_4^0)^2]} - 1 \right\} + \frac{k_3}{2k_4} \left\{ e^{k_4[(1-\rho)(I_1-3)^2 + \rho(I_6-I_6^0)^2]} - 1 \right\}. \quad (3.17)$$

V modifikované podobě použilo model *Holzapfel, 2005* také několik dalších autorů, kteří původní předpoklad o dvou skupinách kolagenních vláken rozšířili o další dvě skupiny ([Hu et al., 2007](#)), o dvě až osm dalších skupin ([Zeinali-Davarani et al., 2009](#)) nebo libovolný počet skupin kolagenních vláken [Baek et al. \(2007\)](#).

Takovéto přidávání skupin vláken je nicméně pouze umělým krokem, který má zajistit lepší numerickou stabilitu prokládaného modelu. Významným omezením při používání modelů *HGO, 2000* a *Holzapfel, 2005* je nedostatek histologicky zjištěných dat; ačkoliv jsou tyto modely označovány jako strukturní, materiálové i strukturní parametry byly určeny pouze z mechanických zkoušek, tedy bez histologické analýzy uspořádání kolagenních vláken po tloušťce stěny, čímž se vytrácí jejich strukturní podstata. Úhel vláken i váhový faktor transversální izotropie ρ se tím totiž stávají pouze dalšími volnými parametry umožňujícími dosáhnout lepší kvality fitu (shody s experimentem) za cenu ztráty jednoznačnosti fitu a tím hlavní přednosti strukturních modelů, tedy jejich lepší predikční schopnosti. Kromě toho numerická simulace jednoosé tahové zkoušky (v axiálním i obvodovém směru) ukázala, že při použití tohoto modelu s nulovým rozptylem směrů vláken ($\rho = 0$) při ní dochází k růstu tloušťky vzorku s protažením (§5.2.1 v [Gasser et al. \(2006\)](#), [Skacel & Bursa \(2015\)](#)).

V roce 2006 publikoval ([Gasser et al., 2006](#)) práci, ve které se zabýval zahrnutím rozptylu kolagenních vláken do strukturního modelu materiálu. Motivací této práce bylo právě zohlednění směrového rozptylu kolagenních vláken a vytvoření obecnějšího konstitutivního modelu materiálu pro hyperelastické vlákny vyztužené materiály.

Navrhovaná SEDF odpovídá rov. 3.12. Materiálové a strukturní parametry uvedené v tab. 3.4 byly získány z jednoosých tahových zkoušek ilické tepny v obvodovém, respektive axiálním, směru ([Gasser et al., 2006](#)). To znamená, že strukturní parametry γ (úhel definující střední směrový vektor skupiny vláken \mathbf{a}_{0i}) a κ opět nebyly určeny z histologických snímků a nemusí tudíž odpovídat skutečnému uspořádání kolagenních vláken ve stěně.

TABULKA 3.4: Materiálové a strukturní parametry pro kyčelní tepnu (a. iliaca).

| Model GOH | Materiálový parametr | | | | |
|-----------|----------------------|-------------|-----------|--------------|--------------|
| | c [kPa] | k_1 [kPa] | k_2 [-] | γ [°] | κ [-] |
| | 7,64 | 996,6 | 524,6 | 49,98 | 0,226 |

Parametr γ definuje úhel střední orientace jednotlivých skupin vláken, κ charakterizuje rozptyl směrů kolagenních vláken ([Gasser et al., 2006](#)).

Posledním zde uvedeným strukturně motivovaným modelem je *Martufi–Gasser model* (rov. 3.15). Ten uvažuje kolagenní vlákna navzájem provázaná proteoglykemickými můstky kolagenních fibril, která vyztužují jinak izotropní matici. Novátorským krokem je myšlenka, jak je zatížení přenášeno kolagenními vlákny. Protážení vlákna začíná nejdříve postupným zapojováním kolagenních fibril, které teprve po dosažení určité hodnoty protážení (λ_{st}) začnou přenášet zatížení (Martufi & Gasser, 2011). To znamená, že v důsledku vnějšího zatížení dochází k postupnému narovnávání a zapojování zvlněných kolagenních vláken do celkové mechanické odezvy tkáně. SEDF a první Piola–Kirchhoffovo napětí pro danou skupinu vláken se následně dá určit z integrace jejich příspěvků ze všech prostorových směrů – to jest jejich úhlovou integrací po jednotkové kouli (Lanir, 1983). Pro snížení výpočtové náročnosti modelů tohoto typu je namísto numericky mnohem náročnější úhlové integrace využíván zobecněný strukturní tenzor (Gasser et al., 2006)⁴, který ale dává výsledky s chybou rostoucí s mírou směrového rozptylu vláken (Skacel & Bursa, 2014).

V tab. 3.5 jsou uvedeny materiálové a strukturní parametry pro zdravou a aneurysmatickou stěnu, které publikovali ve své práci (Martufi & Gasser, 2011). Nicméně i v tomto případě nebyly strukturní parametry určeny z histologických snímků vzorku, na kterém byly provedeny mechanické zkoušky. Podkladem pro určení parametrů byla práce (Vande Geest et al., 2006b) odkud byly převzaty střední hodnoty konstant modelu Choi–Vito pro zdravou i aneurysmatickou tkáň. Na jejich základě byly vytvořeny odpovídající deformačně-napěťové závislosti, ze kterých byly fitovány parametry pro Martufi–Gasser model (Martufi & Gasser, 2011).

TABULKA 3.5: Materiálové a strukturní parametry pro model Martufi–Gasser.

| Model | Materiálový parametr | | | | |
|----------------------|----------------------|--------------|---------------|---------------------|---------------------|
| | c [MPa] | k [MPa/sr] | ρ [1/sr] | λ_{min} [-] | λ_{max} [-] |
| Martufi–Gasser – A | 0,012 | 40 | $1/4\pi$ | 1,034 | 1,276 |
| Martufi–Gasser – AAA | 0,021 | 63 | $1,35/4\pi$ | 1,045 | 1,117 |

A - zdravá aorta, AAA - aneurysmatická stěna, ρ je hustota pravděpodobnosti orientace vlákna, λ_{min} a λ_{max} limitní hodnoty napřímení zvlněných vláken, dle (Martufi & Gasser, 2011).

Ačkoliv byly konstanty určeny na základě dat jednoosých tahových zkoušek, bylo ukázáno, že navržený model má dobré prediktivní schopnosti i pro dvouosou napatost (viz obr. 5 v (Martufi & Gasser, 2011)). Navíc mají tyto konstanty oproti

⁴Pro detailnější srovnání obou přístupů viz Cortes et al. (2010).

fenomenologickým modelům jasný fyzikální význam. Samotný model *Martufi–Gasser*, doplněný o údaje z polarizované mikroskopie (PLM), byl úspěšně použit pro predikci deformačně-napěťové odezvy na prasečích aortách v článku ([Polzer et al., 2015](#)).

3.3.1 Zhodnocení modelů používaných pro stěnu AAA

Z §3.3 je vyplývá, že výpočtové modelování AAA trpí podstatným nedostatkem experimentálních dat (zejména z dvouosých zkoušek), na kterých by mohly být navrhované konstitutivní modely ověřeny z hlediska jejich predikční schopnosti, především, pokud jsou založeny pouze na jednoosých zkouškách. Specifickým a často opomíjeným problémem je také získávání průměrných odezvy z testované skupiny vzorků, které bych chtěl na tomto místě rozebrat.

Jedním z přístupů je průměrování parametrů konstitutivních modelů obdržených pro jednotlivé vzorky (pacienty). Tento postup může být poněkud diskutabilní nejen u fenomenologických modelů, kde chybí jasný fyzikální význam jednotlivých parametrů a tudíž tyto jsou vzájemně závislé, tzn., že stejnou deformačně-napěťovou křivku můžeme získat různou kombinací parametrů. Průměrné hodnoty jednotlivých konstant pak nemusejí znamenat průměrnou odezvu.

Další možností je vytvoření „průměrné“ deformačně-napěťové křivky z několika křivek z individuálních měření ([Tong et al., 2011](#), [Vande Geest et al., 2006b](#)). Tady je problémem rozhodnout, zda průměrovat napětí (při zvolených hodnotách přetvoření), nebo naopak přetvoření (při zvolených hodnotách napětí). Oba přístupy mohou dávat významně rozdílné průměrné křivky, především v případě silně nelineárních průběhů, což je typické pro tkáň AAA. Tento problém může být ještě umocněn nestejným rozsahem jednotlivých křivek.

Posledním zde uvedeným postupem je ten, který jsme použili v ([Polzer et al., 2015](#)), kde jsme konstitutivní model prokládali všemi obdrženými deformačně-napěťovými křivkami ($n = 90$) současně. Tím je zajištěna skutečná minimalizace odchylky vůči všem naměřeným datům. Rozdílný rozsah křivek je tím také zcela korektně zohledněn, protože žádné experimentální body nejsou vypuštěny a v těch rozsazích přetvoření a napětí, kam některé z křivek již nezasahují, je menší hustota experimentálních bodů a tím má tato část menší váhu při fitování průměrné odezvy. Nicméně je třeba podotknout, že tento postup může vést k méně progresivně zpevňujícím křivkám než odezvy pro jednotlivé pacienty. To je zapříčiněno tím, že vyhodnocující algoritmus zpracovává „pouze“ mrak bodů, za kterými již nevidí diskrétní reprezentaci křivek, u nichž by měl držet nějaký tvar.

Dalším podstatným faktorem, který by měl být v konstitutivním modelu zohledněn, je struktura stěny tepny, zejména uspořádání kolagenních vláken napříč

stěnou, s čímž souvisí použití strukturních modelů. Zde je potřeba podotknout, že míra anizotropie vzorku je individuálně silně proměnná a i v případě, že jednotlivé vzorky jsou silně anizotropní, jejich průměrná odezva se od izotropního materiálu liší podstatně méně. Proto jsou izotropní modely stále velmi hojně používány pro popis průměrné odezvy ve výpočtovém modelování AAA (Fillinger et al., 2002, Gasser et al., 2010a, Polzer et al., 2013c, Raghavan & Vorp, 2000, Venkatasubramaniam et al., 2004). Jejich nahrazení strukturními modely se jeví jako opodstatněné pouze v případě, pokud ke vzorkům tkáně, na kterých byly prováděny mechanické zkoušky, budeme mít k dispozici i údaje o její struktuře s využitím PLM (Novak et al., 2015, Polzer et al., 2013a). V opačném případě nenachází používání anizotropních modelů dostatečné zdůvodnění, jelikož jejich strukturní parametry nejsou podloženy histologickou analýzou a tím se ztrácí jejich fyzikální interpretace. Pak je možné jako nejlepší fit dostat nejen hodnoty odlišné od reality, ale dokonce i fyzikálně nesmyslné. Výše uvedené poznámky k maximální dosažitelné kvalitě modelu by se daly shrnout do následujících několika doporučení:

- a) Mít k dispozici větší soubor dat aneurysmatické tkáně z různých typů dvouosých tahových zkoušek.
- b) Ke každému takto otestovanému vzorku znát jeho strukturu z histologických řezů (PLM).
- c) Používat strukturní model (např. *Martufi–Gasser*) pro výpočtové modelování AAA má smysl jedině tehdy, pokud jsou splněny body a) a b).
- d) Hodnoty materiálových konstant by se měly stanovovat ze všech naměřených dat současně.

3.4 Mechanické vlastnosti intraluminálního trombu a jeho konstitutivní modely

Tato sekce shrnuje poznatky z posledních let ohledně mechanických zkoušek intraluminálního trombu a konstitutivních modelů používaných pro jeho modelování.

Jedna z prvních experimentálních studií zabývajících se mechanickými vlastnostmi intraluminálního trombu byla publikována v práci [Di Martino et al. \(1998\)](#). Od šesti pacientů pořídili soubor vzorků trombu ($n = 21$) pro jednoosou tahovou zkoušku. Všechny vzorky byly z obvodového směru a v průběhu testování pozorovali lineární odezvu mezi zátěžnou silou a posuvem, tedy odpovídající Hookeovu zákonu. Hodnota Youngova modulu pružnosti se pohybovala v rozmezí 50–200 kPa, přičemž jeho střední hodnota byla 131 kPa a průměrná (smluvní) pevnost dosažená při přetržení vzorku byla 85 kPa. Jak autoři sami uvádějí, omezením této studie je malý počet vzorků a nepřesné určení tloušťky vzorku, které může do značné míry ovlivnit výsledné hodnoty napětí.

Jiná práce, která se zabývala mechanickými vlastnostmi ILT, byla publikována o tři roky později [Wangem et al. \(Wang et al., 2001\)](#). Vzorky pro jednoosé tahové zkoušky ($n = 50$) byly pořízeny od 14 pacientů a rozděleny dle směru na obvodové a axiální a taktéž dle vrstvy, ze které byly pořízeny (mediální a luminální). V [tab. 3.6](#) jsou uvedeny pevnosti ve smyslu Cauchyho hodnoty dosažených napětí a maximálních inkrementálních tuhostí ($maxIT$)⁵ pro jednotlivé vrstvy i směry.

TABULKA 3.6: Průměrné hodnoty mechanických vlastností jednotlivých vrstev ILT v obvodovém a axiálním směru.

| Vrstva ILT | Směr | $maxIT$ [kPa] | Pevnost [kPa] |
|------------|----------|---------------|---------------|
| Luminální | Axiální | 540 ± 70 | 520 ± 70 |
| | Obvodový | 570 ± 70 | 540 ± 70 |
| Mediální | Axiální | 330 ± 70 | 300 ± 70 |
| | Obvodový | 270 ± 40 | 220 ± 40 |

$maxIT$ – maximální inkrementální tuhost. Převzato z [Wang et al. \(2001\)](#).

Z uvedených hodnot vyplývá, že luminální vrstva je tužší než vrstva mediální.

⁵Inkrementální tuhost byla definována jako sklon tečny k deformačně-napěťové křivce v souřadnicích poměrné protažení–Cauchyho napětí.

TABULKA 3.7: Hodnoty materiálových parametrů pro ILT: průměr ze všech jednotlivých vzorků; fit pro jednu skupinu dat obsahující odezvy ze všech vzorků v příslušných směrech.

| Vrstva ILT | Směr | c_1 [kPa] | | c_2 [kPa] | |
|------------|----------|------------------|---------|------------------|---------|
| | | Průměr \pm SEM | Skupina | Průměr \pm SEM | Skupina |
| Luminální | Axiální | 28,9 \pm 4 | 31,2 | 31 \pm 5 | 33,9 |
| | Obvodový | 31,9 \pm 5 | 36,2 | 29,3 \pm 4 | 35,5 |
| Mediální | Axiální | 20,6 \pm 3 | 27,7 | 17,7 \pm 3 | 21,1 |
| | Obvodový | 22,1 \pm 5 | 18 | 25,7 \pm 4 | 23,8 |

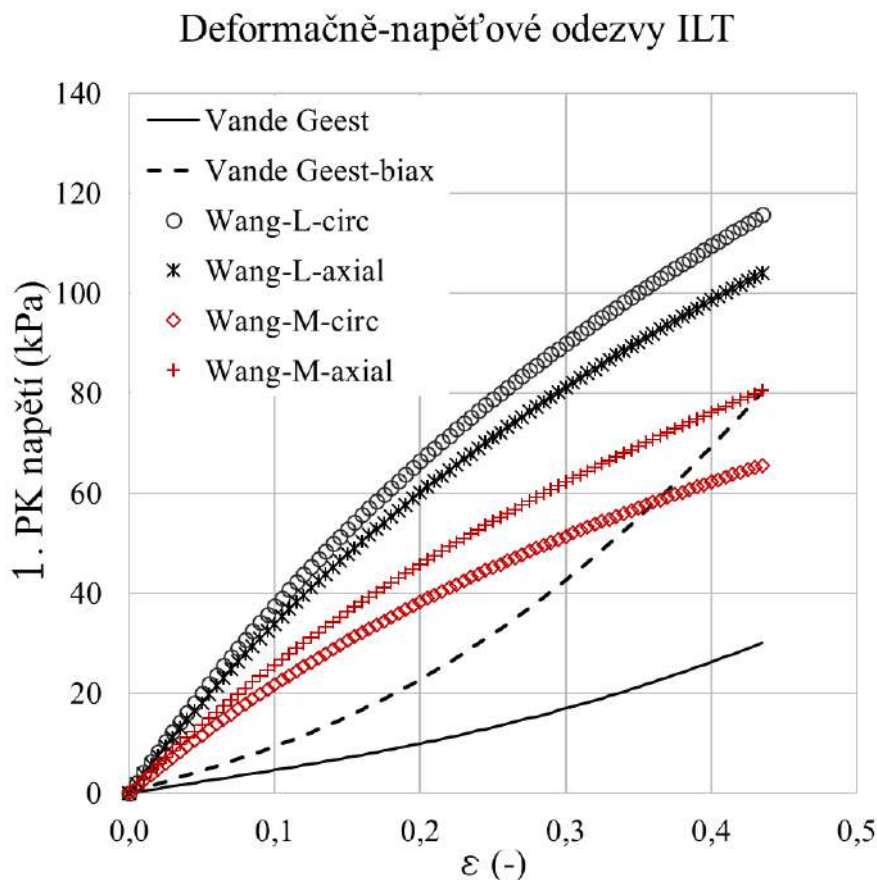
Převzato z Wang et al. (2001).

Statisticky významné rozdíly ovšem mezi jednotlivými směry u mediální ani luminální vrstvy nebyly prokázány, z čehož lze usuzovat na izotropické chování jednotlivých vrstev ILT. Na základě tohoto předpokladu byla v uvedené práci formulována SEDF pro ILT v podobě:

$$\Psi = c_1(I_2 - 3) + 2c_2(I_2 - 3)^2. \quad (3.18)$$

Jedná se o upravenou podobu Mooney–Rivlin modelu (rov. 3.1), kde je předpokládána závislost SEDF pouze na I_2 (druhém invariantu levého Cauchy–Greenova deformačního tenzoru), c_1 [Pa] a c_2 [Pa] jsou materiálové parametry, které popisují chování ILT. Parametry byly v této studii stanoveny dvěma způsoby. Za prvé byl každý vzorek fitován samostatně, za druhé byla data ze všech vzorků seskupena do skupin odpovídajících anatomickému směru a vrstvě. Pro každou takovouto skupinu byly stanoveny materiálové parametry, přičemž jejich hodnoty získané oběma přístupy jsou uvedeny v tab. 3.7. Statistické zpracování dat (Studentův t-test, Wilcoxonův test) neprokázalo významné rozdíly v parametrech c_1 a c_2 ani mezi obvodovým a axiálním směrem, ani mezi vrstvami, zatímco ANOVA test indikoval, že parametry jsou v odpovídajících směrech významně vyšší pro luminální vrstvu než pro vrstvu mediální. Pro lepší názornost byla na základě hodnot ze skupinového fitu (tab. 3.7) vytvořena jednoosá deformačně–napěťová odezva pro jednotlivé vrstvy a anatomické směry obr. 3.1.

Stejný model materiálu (rov. 3.18) ovšem s jinými materiálovými parametry použil Wang et al. ve výpočtové analýze, která se zabývá distribucí napětí ve stěně aorty. Novým krokem bylo využití reálného, tedy patient-specific, modelu geometrie (založeného na CT snímcích). Ačkoliv má tato práce několik omezení, podporuje hypotézu, že přítomnost intraluminálního trombu redukuje maximální napětí ve stěně aorty, což ovšem nemusí znamenat nižší riziko ruptury AAA (Wang et al., 2002).



OBR. 3.1: Jednoosé deformačně-napěťové odezvy (body) pro ILT zkonstruované na základě publikovaných materiálových parametrů pro každou skupinu dle tab. 3.7. Plnou čarou je vykreslena odezva pro jednoosou tahovou zkoušku a čárkovaná linie odpovídá ekvibiaxiální odezvě. Obě tyto křivky byly namodelované z parametrů uvedených v Vande Geest et al. (2006a).

Prozatím se autoři zaměřovali pouze na jednoosé tahové zkoušky ILT. To se změnilo v roce 2006, kdy Vande Geest *et al.* publikoval výsledky z mechanických zkoušek ILT (Vande Geest et al., 2006a). Každý z testovaných vzorků ($n = 9$) byl získán od jiného pacienta a pocházel z luminální vrstvy. Všechny vzorky byly testovány v pěti různých biaxiálních protokolech a kromě celkového protažení vzorku byla u nich také určována maximální tuhost v jednotlivých směrech⁶ a její statisticky zpracované hodnoty jsou uvedeny v tab. 3.8. (Z textu článku ovšem nejde jednoznačně rozlišit, zda se jedná o hodnoty 1. Piola–Kirchhoffova napětí nebo Cauchyho.) Naměřená data neukazují statisticky významné rozdíly v inkrementálních tuhostech mezi jednotlivými směry a jsou tedy v souladu s předchozím pozorováním (Wang et al., 2001), že ILT se chová izotropně. Na základě tohoto

⁶Ta byla obdobně jako inkrementální tuhost v práci Wang et al. (2001) stanovena z maximálního sklonu deformačně-napěťové křivky na konci ekvibiaxiálního protokolu v každém směru.

TABULKA 3.8: Maximální inkrementální tuhosti a průměrná maximální protažení při dvouosé napjatosti vzorků ILT z luminální vrstvy.

| | Obvodový směr | Axiální směr |
|------------------------------|---------------|--------------|
| Střední hodnota [kPa] | 201 | 231 |
| \pm SD | 16 | 29 |
| Průměrné maximální protažení | 1,18 | 1,13 |
| \pm SD | 0,02 | 0,02 |

Převzato z [Vande Geest et al. \(2006a\)](#).

předpokladu potom pro popsání mechanické odezvy ILT použili SEDF v podobě:

$$\Psi = c_1(I_1 - 3) + c_2(I_1 - 3)^2, \quad (3.19)$$

kteřá odpovídá modelu Yeoh druhého řádu (rov. 3.2) s materiálovými konstantami $c_1 = 7,98$ kPa, $c_2 = 8,71$ kPa. Pro porovnání s výše uvedenou prací ([Wang et al., 2001](#)) byl i pro tyto materiálové parametry spočítána deformačně–napěťová odezva jak pro jednoosý tah tak i pro ekvibiaxiální zkoušku. Tyto křivky jsou vykresleny plnou respektive čerchovanou čarou na obr. 3.1. Porovnáme-li inkrementální tuhosti v počáteční oblasti mezi datasety (Wang–luminální a Vande Geest) zjistíme, že počáteční tuhost je u Wanga přibližně $8\times$ větší, zatímco v koncové oblasti jsou tyto inkrementální tuhosti již řádově stejné. Příčina takového výrazného rozdílu v počátečních tuhostech může být vysvětlena rozdílným způsobem testování.

Další značně rozsáhlá experimentální studie zabývající se mechanickým chováním intraluminálního trombu v jednoosé napjatosti, byla provedena Gasserem *et al.* ([Gasser et al., 2008](#)). Testovali soubor vzorků, který pocházel z obvodového směru a ze všech vrstev trombu – luminální, mediální, respektive abluminální. Hlavním cílem bylo sice uskutečnění únavových zkoušek na vzorcích ILT z různé vzdálenosti od lumenu, ale s tím souviselo i určení maximální pevnosti, na kterou se nyní omezím. Pro její stanovení bylo požit celkem 24 vzorků, u kterých byla snímána maximální dosažená síla a protažení. Závislost mezi zaznamenanou silou a protažením trombu byla téměř lineární a se vzdáleností od lumenu byla současně pozorována klesající tendence v dosažené pevnosti. Ta, ve smyslu Cauchyho napětí, nabývala pro luminální, mediální a abluminální vrstvu následujících hodnot (\pm SD): 156 kPa (\pm 58), 92 kPa (\pm 38), 48 kPa (\pm 23) ([Gasser et al., 2008](#)). Pro popsání mechanické odezvy trombu byla poté navržena SEDF vycházející

z Ogdenova modelu (rov. 3.3) v podobě:

$$\Psi = c \sum_{i=1}^3 (\lambda_i^4 - 1). \quad (3.20)$$

Pro jednotlivé vrstvy byly určeny následující materiálové parametry (řazeno od luminální vrstvy): $c = 2,62$ kPa, $1,98$ kPa a $1,73$ kPa (Gasser et al., 2008).

V roce 2009 Ashton *et al.* provedli volnou tlakovou zkoušku při 5% stlačení na souboru vzorků ILT ($n = 47$; 14 abluminálních, 15 mediálních a 18 luminálních) (Ashton et al., 2009). Na jejím základě publikovali moduly pružnosti pro jednotlivé vrstvy uvedené v tab. 3.9. Hodnoty modulů jsou řádově nižší než moduly v tahu v práci (Di Martino et al., 1998), takže podle očekávání se chování ILT v tahu a tlaku zásadně liší, zřejmě vlivem jeho vláknité a porézní struktury. Je třeba si také povšimnout, že abluminální vrstva je výrazně tužší v porovnání se zbývajícími dvěmi. To vše je třeba mít na paměti při modelování 3D napjatosti ILT, kde rozlišení mezi tahem a tlakem nemusí být triviální.

TABULKA 3.9: Moduly pružnosti pro jednotlivé vrstvy ILT (Ashton et al., 2009).

| $E_{lum} \pm SE$ [kPa] | $E_{med} \pm SE$ [kPa] | $E_{abl} \pm SE$ [kPa] |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| $1,5 \pm 0,22$ | $2,5 \pm 0,54$ | $19,3 \pm 5,3$ |

Další obsáhlá studie věnující se dvouosým mechanickým zkouškám byla publikována Tongem *et al.* (Tong et al., 2011), kde se kromě ILT věnovali i testování aortální stěny. U několika vzorků ($n = 10$) z luminální vrstvy bylo zjištěno anizotropické chování pro λ_{max} , nicméně většina testovaných vzorků z mediální, abluminální i luminální vrstvy ($n = 57$) vykazovala izotropní chování. V tab. 3.10 jsou uvedeny dosažené hodnoty inkrementálních tuhostí a maximálních protažení při ekvibiaxiální zkoušce pro obvodový respektive axiální směr (ve smyslu Cauchyho napětí). Přes nepatrnou míru anizotropie použili pro popis mechanických

TABULKA 3.10: Střední hodnoty \pm SD inkrementálních tuhostí a protažení pro vzorky z jednotlivých vrstev ILT.

| Vrstva ILT | $\lambda_{\Theta,max}$ [-] | $\lambda_{A,max}$ [-] | $maxIT_{\Theta}$ [kPa] | $maxIT_A$ [kPa] |
|-------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------|
| Luminální (anizo) | $1,17 \pm 0,03$ | $1,09 \pm 0,02$ | 208 ± 55 | 291 ± 69 |
| Luminální (izo) | $1,15 \pm 0,05$ | $1,13 \pm 0,04$ | 189 ± 48 | 206 ± 71 |
| Mediální | $1,21 \pm 0,03$ | $1,20 \pm 0,04$ | 137 ± 36 | 145 ± 47 |
| Abluminální | $1,25 \pm 0,04$ | $1,27 \pm 0,05$ | 108 ± 31 | 102 ± 23 |

$maxIT$ – maximální inkrementální tuhost, Θ – obvodový směr, A – axiální směr.
Převzato z Tong et al. (2011).

vlastností ILT stejný anizotropický model jako pro stěnu AAA (rov. 3.16), pro který stanovili střední hodnoty materiálových konstant uvedených v tab. 3.11.

TABULKA 3.11: Střední hodnoty \pm SD materiálových parametrů pro jednotlivé vrstvy ILT Tong et al. (2011).

| Vrstva ILT | μ [kPa] | k_1 [kPa] | k_2 [-] | φ [°] | ρ [-] |
|-------------------|---------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Luminální (anizo) | $9,7 \pm 1,5$ | $15,9 \pm 4,3$ | $2,7 \pm 1,4$ | $84,1 \pm 10,7$ | $0,33 \pm 0,07$ |
| Luminální (izo) | $8,2 \pm 1,7$ | $12,3 \pm 3,7$ | $0,6 \pm 0,3$ | $89,3 \pm 2,3$ | $0,03 \pm 0,02$ |
| Mediální | $7,1 \pm 1,9$ | $6,0 \pm 2,2$ | $0,07 \pm 0,1$ | $86,7 \pm 7,5$ | $0,05 \pm 0,05$ |
| Abluminální | $5,1 \pm 1,1$ | $2,9 \pm 1,0$ | $0,03 \pm 0,01$ | $89,1 \pm 1,1$ | $0,05 \pm 0,01$ |

Pro většinu vzorků je parametr anizotropie (ρ) blízky nule. V souvislosti s tím se nabízí otázka, zda je smysluplné používat anizotropní model materiálu v případě, kdy se materiál jeví jako izotropní. Další otázka je spojena s věrohodností určení úhlu vláken z mechanických zkoušek; je poněkud zavádějící, že přestože podle tab. 3.10 je obvodový směr tužší než podélný pro abluminální vrstvu a pro ostatní vrstvy je tomu naopak, pro vlákna byl stanoven úhel ϕ (mezi vláknem a obvodovým směrem) přibližně 90° pro všechny vrstvy bez výjimky. Ačkoliv je uvažován jako fenomenologická proměnná, může být jeho hodnota značně diskutabilní.

Jak již bylo zmíněno, strukturní parametry by se měly stanovit z histologických řezů. Pokud tomu tak není, může být jejich vypovídající hodnota značně diskutabilní, protože se tím ztrácí jejich strukturní podstata.

Otázkou, zda existují rozdíly v biomechanických vlastnostech ILT mezi muži a ženami, se zabývali Tong et al. ve své následující studii (Tong et al., 2013). Na vzorcích z intraluminálního trombu ($n = 109$) uskutečnili ekvibiaxiální tahové zkoušky, přičemž maximální inkrementální tuhosti, stejně jako maximální hodnoty protažení pro obvodový a axiální směr pro jednotlivé vrstvy i pohlaví, jsou v tab. 3.12. Statisticky významné rozdíly mezi pohlavími byly zjištěny v maximálních protaženích u luminální a mediální vrstvy v obou směrech, nicméně u inkrementálních tuhostí pouze u luminální vrstvy a to v axiálním směru. Luminální a mediální vrstva se tedy u žen může jevit více poddajná než u mužů. U abluminální vrstvy už rozdíl mezi pohlavími nebyl významný. S poukazem na hodnoty uvedené v tab. 3.12 lze konstatovat, že s přibývajícím vzdáleností od lumenu má maximální protažení narůstající tendenci, zatímco maximální inkrementální tuhost klesá a to jak u žen, tak i u mužů.

Jednu z nejnovějších studií věnující se mechanickým vlastnostem ILT představil O'Leary et al. (O'Leary et al., 2014). Odebrané tromby rozdělili podle morfologie do tří kategorií – *typ 1*: silný několikavrstevný trombus; *typ 2*:

TABULKA 3.12: Střední hodnoty (\pm SD) maximálních protažení a inkrementálních tuhostí pro jednotlivé směry a vrstvy obdržené z ekvibiaxiálních zkoušek.

| Vrstva ILT | | Muži | Ženy |
|-------------|----------------------------|-----------------|-----------------|
| Luminální | $\lambda_{\Theta,max}$ [-] | $1,16 \pm 0,05$ | $1,20 \pm 0,03$ |
| | $\lambda_{A,max}$ [-] | $1,12 \pm 0,03$ | $1,15 \pm 0,02$ |
| | $maxIT_{\Theta}$ [kPa] | 196 ± 48 | 161 ± 31 |
| | $maxIT_A$ [kPa] | 290 ± 52 | 246 ± 39 |
| Mediální | $\lambda_{\Theta,max}$ [-] | $1,23 \pm 0,04$ | $1,27 \pm 0,03$ |
| | $\lambda_{A,max}$ [-] | $1,20 \pm 0,05$ | $1,25 \pm 0,03$ |
| | $maxIT_{\Theta}$ [kPa] | 143 ± 35 | 125 ± 29 |
| | $maxIT_A$ [kPa] | 158 ± 41 | 130 ± 32 |
| Abluminální | $\lambda_{\Theta,max}$ [-] | $1,28 \pm 0,04$ | $1,30 \pm 0,03$ |
| | $\lambda_{A,max}$ [-] | $1,30 \pm 0,05$ | $1,33 \pm 0,03$ |
| | $maxIT_{\Theta}$ [kPa] | 110 ± 33 | 101 ± 21 |
| | $maxIT_A$ [kPa] | 105 ± 25 | 93 ± 18 |

$maxIT$ – maximální inkrementální tuhost, Θ – obvodový směr, A – axiální směr.

Převzato z [Tong et al. \(2013\)](#).

podobný předchozímu, ale s výrazně tenčí nebo degradovanou mediální a abluminální vrstvou; *typ 3*: jednovrstvý homogenní nově utvořený trombus ([O’Leary et al., 2014](#)). Z provedených ekvibiaxiálních zkoušek a porovnáním hodnot Cauchyho napětí a maximálních inkrementálních tuhostí v axiálním a obvodovém směru při hodnotě protažení $\lambda = 1,14$ došli k závěru, že ILT nemá statisticky odlišné vlastnosti v obvodovém a axiálním směru – tedy vykazuje izotropní chování. Tyto závěry jsou v souladu s předchozím pozorováním luminální vrstvy u [Vande Geesta et al. \(2006a\)](#) a mediální a abluminální vrstvy u [Tonga et al. \(2011\)](#). Zároveň je však v rozporu se zjištěným anizotropním chováním luminální vrstvy publikované [Tongem et al. \(2011\)](#). Naměřené hodnoty Cauchyho napětí a maximálních inkrementálních tuhostí pro jednotlivé směry a typy ILT při ekvibiaxiálním testovacím protokolu jsou uvedeny v tab. 3.13.

Většina výše zmíněných studií zkoumala mechanické vlastnosti ILT z tahových zkoušek. [Hinnen et al. \(2007\)](#) zvolili jiný experimentální přístup na vzorcích ILT ($n = 10$) od šesti pacientů (nebyla rozlišována orientace vzorku ani vzdálenost od lumenu) provedli tlakové a smykové zkoušky. Ze smykových zkoušek a vzájemné relace $E = 2(1+\nu)G$ byl poté pro ILT vyhodnocen modul pružnosti s průměrnou hodnotou $E = 37$ kPa. Dále zjistili, že Poissonův poměr je velmi blízký 0,5 a tudíž lze na trombus nahlížet jako na nestlačitelný materiál.

Z histologických snímků struktury trombu ([Adolph et al., 1997](#), [Gasser et al., 2010b](#)) je však patrné, že trombus obsahuje póry, čímž umožňuje transportovat

TABULKA 3.13: Střední hodnoty Cauchyho napětí a maximálních inkrementálních tuhostí (\pm SD) pro jednotlivé typy a vrstvy ILT.

| Vrstva ILT | σ_{Θ} [kPa] | σ_A [kPa] | $maxIT_{\Theta}$ [kPa] | $maxIT_A$ [kPa] |
|----------------------|-------------------------|------------------|------------------------|-----------------|
| <i>Typ 1</i> | | | | |
| Luminální | $8,3 \pm 2,1$ | $9,3 \pm 2,5$ | 100 ± 28 | 121 ± 42 |
| Mediální | 8 ± 4 | $8,2 \pm 2,4$ | 95 ± 29 | 95 ± 23 |
| Mediální/Abluminální | $6,4 \pm 2,5$ | $6,5 \pm 2,5$ | 65 ± 27 | 68 ± 29 |
| <i>Typ 2</i> | | | | |
| Luminální | $11,2 \pm 2,7$ | 13 ± 3 | 135 ± 40 | 148 ± 30 |
| Mediální | $3,9 \pm 2$ | $5,8 \pm 3$ | 39 ± 19 | 61 ± 34 |
| <i>Typ 3</i> | | | | |
| Luminální | $3,2 \pm 1,5$ | $3,3 \pm 1,4$ | 44 ± 31 | 38 ± 18 |

$maxIT$ – maximální inkrementální tuhost, Θ – obvodový směr, A – axiální směr.

Převzato z O'Leary et al. (2014).

tekutiny a buňky z lumenu k cévní tkáni. Právě tato pórovitá struktura umožňuje přenášet krevní tlak na cévní stěnu, jak ukazují některé experimentální a výpočtové studie (Ayyalasomayajula et al., 2010, Meyer et al., 2010, Polzer et al., 2012a, Schurink et al., 2000). Výsledná velikost přeneseného tlaku může být ovlivněna jak mechanickými vlastnostmi trombu, tak i tuhostí cévní stěny (Hinnen et al., 2005). Zahrnutí ILT do výpočtových studií má tedy své opodstatnění a dokonce se ukazuje, že se trombus podílí na snížení maximálního napětí ve stěně aneurysmatu (Di Martino et al., 1998, Mower et al., 1997, Polzer, 2012b, Reeps et al., 2010, Wang et al., 2002). Při modelování trombu se ovšem dostáváme do rozporu s úplnou nestlačitelností, jak ji stanovil Hinnen et al. (Hinnen et al., 2007), jelikož poroelastický materiál s hyperelastickou tuhou fází nemůže být nestlačitelný. Nestlačitelnost, která byla určena v této práci (Hinnen et al., 2007), si můžeme vysvětlit použitou metodikou měření, podobnou jako u stěny tepny (viz Carew et al. (Carew et al., 1968)). Jestliže měříme nestlačitelnost materiálu pomocí zatížení tlakem kapaliny, nemůže se na výsledku projevit kapalina vytlačena z pórů tkáně. Tudíž se poroelastický materiál jeví jako nestlačitelný, přestože jinou metodikou bychom mohli zjistit stlačitelnost, možná významně závislou na rychlosti zkoušky.

Jedno z mála experimentálních měření týkající se permeability ILT bylo provedeno Adolphem et al. (Adolph et al., 1997), který stanovil permeabilitu trombu pomocí Darcyho zákona:

$$k = \frac{4Qh}{\pi d^2 \Delta P} \quad . \quad (3.21)$$

Q [m^3/s] představuje průtok tekutiny přes tloušťku h vzorku, d je jeho průměr a ΔP je hydrostatický tlak odpovídající ρgH s hustotou kapaliny ρ , gravitační

konstantou g a výškou sloupce tekutiny H nad vzorkem (Adolph et al., 1997). Experimentální měření ukázalo, že trombus vykazuje propustné chování s permeabilitou $k = 0.9 \pm 0.54 \text{mm}^4/N \cdot \text{s}$. To je hodnota cca o 3 řády vyšší než u cévní stěny, takže lze předpokládat, že tekutina a malé molekuly se sítí drobných kanálků mohou do jisté míry šířit po tloušťce trombu (Adolph et al., 1997), což koresponduje s již zmíněnými fakty. Na tomto místě je nutno podotknout, že je potřeba intenzivnějšího výzkumu v této oblasti, jelikož je velmi málo publikovaných prací zabývajících se poroelastickými vlastnostmi trombu i jeho stlačitelností.

3.4.1 Intraluminální trombus – zhodnocení

V porovnání se stěnou AAA trpí určování mechanických vlastností intraluminálního trombu zásadním nedostatkem experimentálních dat z dvouosých zkoušek, které by představovaly adekvátní vstupy pro možné konstitutivní modely. Tento evidentní nedostatek je s největší pravděpodobností zapříčiněn poměrně pozdějším nástupem zájmu o mechanické vlastnosti ILT a jeho vlivu na riziko ruptury AAA, zejména však mnohem obtížnějším testováním v porovnání se stěnou AAA. Zde se totiž zásadně projevuje proměnlivost struktury ILT (viz. §2.4), která v některých případech znemožňuje mechanické zkoušky ILT.

Podíváme-li se na výše uvedené výsledky, je poněkud obtížné je mezi sebou srovnávat, jelikož autoři pracují s různými koncepty napětí (Cauchyho \times 1.Piola–Kirchhoffovo, vzájemný přepočítání není z publikovaných dat možný, jelikož se jedná o stlačitelný materiál) a také rozdílnými způsoby mechanických zkoušek (zejména jednoosá \times dvouosá tahová zkouška). Nicméně jsem tato data sumarizoval do tab. 3.14 a společně s prezentovanou rešeršní studií lze učinit následující závěry:

- a) Z doposud publikovaných dat se jeví, že ILT vykazuje izotropní chování s malou nelinearitou deformačně-napěťové závislosti. Tedy pro jeho konstitutivní modelování můžeme použít izotropní fenomenologický model (např. Ogdenova typu). Dokud nebudeme mít k dispozici údaje o jeho struktuře (z analýzy obrazu, např. PLM), je používání strukturního modelu materiálu bezpředmětné. Dosavadní experimenty ani neukazují potřebu studovat směrovou strukturu jednotlivých komponent ILT.
- b) Pevnost a modul pružnosti ILT v tahu klesá se vzdáleností od lumenu v důsledku degradace jeho struktury (se stářím ILT).
- c) Stejně jako u stěny AAA i u ILT platí, že použitelné fenomenologické modely nejsou schopny predikovat odezvu v biaxiálním režimu na základě dat z jednoosých zkoušek.

- d) Mechanická separace trombu na jednotlivé vrstvy je velmi subjektivní záležitostí, jelikož jednotlivé vrstvy do sebe postupně přecházejí. V návaznosti na bod b) z toho plyne, že korektnější by bylo stanovovat jeho vlastnosti vzhledem ke vzdálenosti od lumenu.
- e) Obdobně jako u stěny tepny by se hodnoty materiálových konstant měly určovat ze všech měřených dat současně.
- f) Otázka permeability ILT není stále ještě jasně zodpovězená.

TABULKA 3.14: Shrnutí publikovaných hodnot mechanických vlastností ILT (všechny v kPa).

| Autor | Vrstva ILT | Směr | maxIT | Pevnost | Modul pružnosti |
|--|------------|----------|-------|---------|-----------------|
| Di Martino et al. (1998)* \diamond | – | Θ | | 85 | 131 |
| Wang et al. (2001)*# | L | A | 540 | 520 | |
| | | Θ | 570 | 540 | |
| | M | A | 330 | 300 | |
| | | Θ | 270 | 220 | |
| Vande Geest et al. (2006a) \dagger # | L | A | 230 | | |
| | | Θ | 210 | | |
| Hinnen et al. (2007) \ddagger | | | | | 37 |
| Gasser et al. (2008)*# | L | | | 156 | |
| | M | Θ | | 92 | |
| | Ab | | | 48 | |
| Ashton et al. (2009) \ddagger | L | | | | 1,5 |
| | M | – | | | 2,5 |
| | Ab | | | | 19,3 |
| Tong et al. (2011) \dagger # | L | A | 206 | | |
| | | Θ | 189 | | |
| | M | A | 145 | | |
| | | Θ | 137 | | |
| | Ab | A | 102 | | |
| | | Θ | 108 | | |
| Tong et al. (2013) \dagger # | L | A | 290 | | |
| | | Θ | 196 | | |
| | M | A | 158 | | |
| | | Θ | 143 | | |
| | Ab | A | 105 | | |
| | | Θ | 110 | | |
| O’Leary et al. (2014) \dagger # | L | A | 121 | 9,3 | |
| | | Θ | 100 | 8,3 | |
| | M | A | 95 | 8,2 | |
| | | Θ | 95 | 8 | |
| | Ab | A | 68 | 6,5 | |
| | | Θ | 65 | 6,4 | |

L – luminální vrstva, M – mediální vrstva, Ab – abluminální vrstva, „–“ bez rozlišení,

maxIT – maximální inkrementální tuhost, Θ – obvodový směr, A – axiální směr

* jednoosá tahová zkouška, \dagger biaxiální tahová zkouška, \ddagger tlaková-smyková zkouška,

\diamond 1.Piolla–Kirchhoffovo napětí, # Cauchyho napětí

Kapitola 4

Publikační činnost

4.1 Komentáře k publikovaným pracím

Doposud jsem se autorsky podílel na šesti člancích v odborných časopisech. Z některých článků již bylo v tomto pojednání čerpáno, nicméně bych se jim v dalším textu rád věnoval podrobněji a specifikoval svůj podíl na nich.

Importance of material model in wall stress prediction in abdominal aortic aneurysms [Polzer et al. \(2013c\)](#)

První z těchto článků se zabýval vlivem modelu materiálu na napětí ve stěně AAA. Zde se nám podařilo propojit modely geometrie vycházející z CT-A snímků konkrétních pacientů (patient-specific) s materiálovými parametry, které byly rovněž stanoveny z experimentálních dat z biaxiálních zkoušek aneurysmatické stěny přímo těchto pacientů. Výsledná pole napětí byla porovnána s rozložením napětí u modelů, které počítaly s materiálovými parametry uváděnými v literatuře. Ukázali jsme, že typ použitého konstitutivního modelu výrazně ovlivňuje rozložení napětí ve stěně AAA. Zatímco konstitutivní modely používající průměrná data z dvouosých tahových zkoušek dávají celkově stejná pole napětí jako patient-specific modely, materiálové modely založené na jednoosých zkouškách nadhodnocují napětí ve stěně v průměru o 30 kPa. Mým příspěvkem v této publikaci byla experimentální část – biaxiální tahové zkoušky na vzorcích AAA a následné zpracování a vyhodnocení měření, na jejichž základě jsme získali potřebná patient-specific data pro zvolený konstitutivní model.

Structure-based constitutive model can accurately predict planar biaxial properties of aortic wall tissue [Polzer et al. \(2015\)](#)

Tato druhá publikace, které jsem spoluautorem, se vztahuje ke konstitutivnímu modelování a to strukturnímu konstitutivnímu modelu *Martufi-Gasser* a validaci jeho schopnosti predikovat dvouosou odezvu arteriální stěny. Mechanické parametry pocházející z biaxiálních zkoušek byly doplněny strukturními parametry z analýzy obrazu (pomocí PLM). Použitý konstitutivní model velmi dobře popisuje biaxiální chování prasečí aorty ($R^2 = 0,95 \pm 0,03$). Zároveň byly zkoumány i jeho prediktivní vlastnosti. Testování predikce bylo založeno na otázce, zda data z jediného biaxiálního testovacího protokolu ($u_c : u_a = 2 : 1$ nebo $u_c : u_a = 5 : 1$) jsou použitelná pro stanovení všech materiálových parametrů použitého modelu. A dále, zda model s těmito konstantami je schopen popsat deformačně-napěťovou odezvu pro zbývající čtyři testovací protokoly. Arteriální stěna je uvažována, že je složena ze dvou vrstev – medie a adventicie, přičemž každá vrstva má svůj konstitutivní model materiálu, tedy celý model stěny může být označen jako dvouvrstvý. Z provedeného srovnání vyšlo, že referenční testovací protokol $u_c : u_a = 2 : 1$ má lepší prediktivní vlastnosti ($R^2 = 0,92 \pm 0,04$). Z toho lze usuzovat, že dvouvrstvý model materiálu doplněný reálnými mikrohologickými daty, může úspěšně předvídat makroskopické nelineární vlastnosti aortální stěny i z omezeného rozsahu mechanických zkoušek. Při přípravě tohoto článku jsem měl na starosti mechanické testování prasečích aort a zpracování dat pro určování materiálových parametrů a validaci modelu.

Analysis of accuracy of biaxial tests based on their computational simulations [Slazansky et al. \(2016\)](#)

Ve světle výše uvedeného se objevila otázka, jakým způsobem ovlivňují určité parametry experimentů ve dvouosé napjatosti, pro niž není zkouška normalizována, přesnost dosažených výsledků (samotná metodika testování měkkých tkání je popsána dále, viz §5). K nalezení odpovědi byla vytvořena studie založená na konečnoprvkové simulaci experimentů, která se zaměřila na následující aspekty: způsob uchycení vzorku, počet míst uchycení, velikost upínacích elementů (tloušťka háčků, šířka svorek), rozměry vzorku, protokol testování a také materiál vzorku. Výsledky numerické analýzy byly porovnány s experimentálním měřením, které jsem uskutečnil na vzorcích prasečích aort, přičemž jsme mimo jiné porovnávali námi používaný způsob uchycení vzorků pomocí svorek s postupem používaným na jiných pracovištích, kde jsou využívány háčky. Z publikovaných výsledků můžeme konstatovat, že ačkoliv mezi způsoby uchycení (háčky×svorky)

existují statisticky významné rozdíly, tak při vhodné volbě počtu a rozměrů upínacích prvků mohou oba přístupy poskytnout relevantní experimentální data pro jakékoliv měkké tkáně.

Influence of mesh density on calculated extreme stresses in aortic aneurysms [Man et al. \(2016\)](#)

S rozvojem výpočtové a zobrazovací techniky nastal i vývoj úrovně modelování aneurysmat. Od jednoduchých 2D modelů přes idealizované tvary až k patient-specific modelům, což bylo také doprovázeno rozvojem používaných modelů materiálu. Zejména pro výpočtové modelování aneurysmat je specifické, že čím nelineárnější materiál použijeme, tím obdržíme větší gradient napětí po tloušťce stěny. Velikost gradientu závisí na použitém modelu materiálu a také na počtu elementů po tloušťce stěny. Tyto údaje nebývají ve většině prací uváděny. Vědomi si těchto faktů jsme publikovali „pilotní studii“, ve které jsme se zabývali vlivem hustoty sítě na maximální napětí ve stěně aneurysmatu. Na čtyřech reálných AAA jsem vyšetřoval vliv počtu elementů po tloušťce stěny na rozložení napětí, přičemž byl také brán v potaz různý konstitutivní model materiálu a zahrnutí nebo naopak pomínutí vlivu zbytkové napjatosti. Počet elementů po tloušťce má vždy podstatný vliv, pro jakýkoliv konstitutivní model materiálu. Podstatnějším závěrem ovšem bylo zjištění, že bez zahrnutí zbytkového napětí se v některých případech nepodařilo obdržet výsledky nezávislé na síti (počtu elementů přes tloušťku), zatímco s uvažováním zbytkové napjatosti tento problém nenastal v důsledku výrazně menšího gradientu napětí po tloušťce stěny. Nicméně je potřeba konstatovat, že pro malý počet vyšetřovaných případů nelze zatím podat žádné obecné doporučení pro počet elementů po tloušťce stěny.

Predictive capabilities of various constitutive models for arterial tissue [Schroeder et al. \(2017\)](#)

Ve výpočtovém modelování je volba vhodného konstitutivního modelu materiálu naprosto zásadní pro obdržení realistických výsledků, přičemž zejména u modelování arteriálních tkání může být obtížné zvolit model materiálu nejvíce odpovídající skutečnosti. O použitelnosti daného modelu může v tomto případě rozhodnout jeho schopnost popsat a také předpovědět deformačně-napěťovou odezvu při jednoosém a dvouosém zatěžování a to bylo také cílem této studie. Na 14 vzorcích prasečích aort byly provedeny jednoosé a dvouosé tahové zkoušky, přičemž naměřená data sloužila pro validaci čtyř konstitutivních modelů materiálu (HGO

model, model založený na zobecněném strukturním tenzoru – GST, Four-Fiber-Family model – FFF a Microfiber model). Nejprve byla zvláště fitována data z jednoosých a dvouosých tahových zkoušek všemi modely a byly porovnávány jejich popisné vlastnosti. V druhém kroku byla ověřována jejich schopnost predikce. Ta probíhala dvoustupňově. Nejprve byly nafitovány materiálové parametry z 5 biaxiálních tahových zkoušek a následně byla vyhodnocena predikce pro jednoosou odezvu v obou směrech. Poté byl celý postup zopakován, pouze v obráceném pořadí – tedy na základě údajů z jednoosé zkoušky byly předpovídány odezvy v 5 biaxiálních testovacích režimech. Popisné vlastnosti všech porovnávaných modelů byly výborné, nicméně z publikovaných výsledků je patrné, že HGO model a GST model nejsou schopné smysluplně předpovědět biaxiální odezvu z uniaxiálních experimentálních dat. Nejrobustnější predikční schopnosti z porovnávaných modelů ukázal FFF model. Na této práci jsem se podílel, provedením části experimentálního měření a popisu metodiky testování.

Impact of isotropic constitutive descriptions on the predicted peak wall stress in abdominal aortic aneurysms [Man et al. \(2018\)](#)

V této práci jsem částečně vycházel z problematiky, na kterou jsme narazili při výpočtovém modelování u předchozí publikace ([Man et al., 2016](#)), kdy výpočtové časy u některých patient-specific modelů byly příliš velké nebo výpočtová úloha nebyla dokončena v důsledku příliš velkých nelinearit. Ve světle tohoto jsme vytvořili studii, kde jsem na idealizovaných a patient-specific modelech geometrie AAA porovnával vliv pěti rozdílných izotropických konstitutivních modelů materiálu stěny AAA. Modely materiálu odpovídaly reálnému nelineárnímu chování, uměle (při menších deformacích) zpevňujícímu nelineárnímu průběhu nebo nepřírozenému velmi tuhému a téměř lineárnímu popisu deformačně-napětové závislosti stěny AAA. Na základě uveřejněných výsledků můžeme konstatovat, že pokud ve výpočtovém modelování AAA použijeme kvalitativně podobný nelineární konstitutivní model, s nízkou počáteční tuhostí a se zpevněním v průběhu deformace, tak se při vyhodnocování maximálního napětí ve stěně (PWS) nedopustíme výrazné nepřesnosti. Takovéto využití uměle zpevňujícího modelu může zkrátit výpočtový čas až o 30%, aniž by došlo k zásadním změnám v PWS. Naopak tomu uměle tuhý, téměř lineární model materiálu může výrazně podhodnotit PWS a není tedy věrohodný pro výpočet napětí ve stěně AAA.

Kapitola 5

Zkoušky mechanických vlastností arteriálních tkání

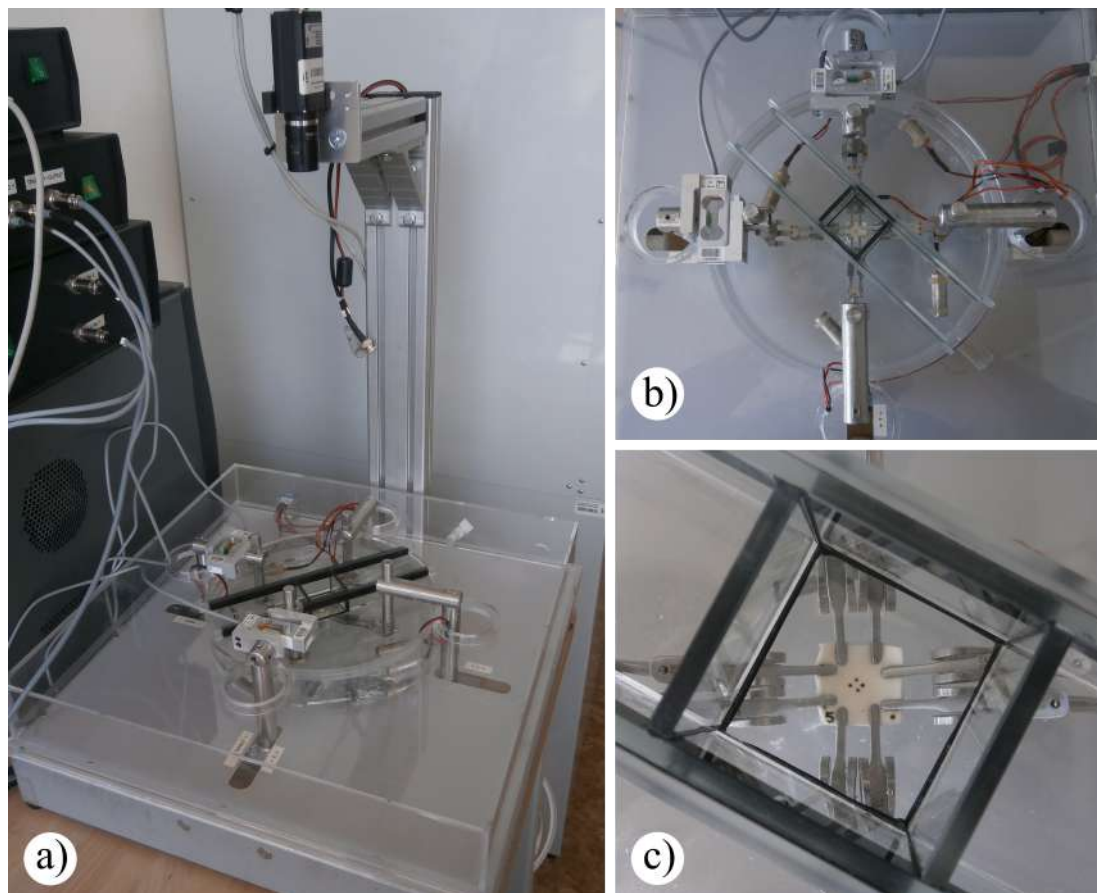
Tato kapitola je věnována rozšířenému popisu metodiky a praktických aspektů týkajících se mechanického testování tkání tepen. Shrnuje problematiku experimentů z pohledu výsledků celého týmu, s odlišením mého vlastního podílu od práce ostatních spolupracovníků. Výsledky a postup jsme úspěšně publikovali v odborných časopisech (Polzer et al., 2013c, 2015), zatímco praktické zkušenosti spojené s testováním jsem prezentoval na konferenci ESB 2015 v Praze.

Pro popis mechanických vlastností hyperelastických materiálů jsou jednoosé zkoušky nedostačující, jelikož nedokážou dostatečně pokrýt širokou oblast možných deformačně-napěťových stavů v měkké tkáni tepen. Přesnost používaného výpočtového modelu tepny silně závisí na použitém modelu materiálu a jeho predikční schopnosti, která je obzvláště u fenomenologických modelů obecně špatná. Z tohoto důvodu je potřeba jednoosé zkoušky doplnit zkouškami dvouosými a právě jim bude věnován další text.

5.1 Metodika testování

5.1.1 Popis zařízení

Mechanické zkoušky jsou prováděny na dvouosém experimentálním zařízení (Camea s.r.o., CZ, viz obr. 5.1 a), které bylo touto firmou vyvinuto ve spolupráci s naším ústavem. Jeho konstrukce je podobná některým komerčním zařízením pro biaxiální tahové zkoušky. Mechanický posuv je realizován pomocí dvou symetric-



OBR. 5.1: Experimentální zařízení Camea pro dvouosou tahovou zkoušku: a) celkový pohled, b) horní pohled, c) detailní záběr uchyceného vzorku s markery a skleněným krytem.

kých lineárních krokových motorů, nad nimiž je umístěn plastový kryt s nádrží na fyziologický roztok. Oblast vzorku je shora snímána pomocí kamery s CCD čipem a rozlišením 0,02 mm/pixel.

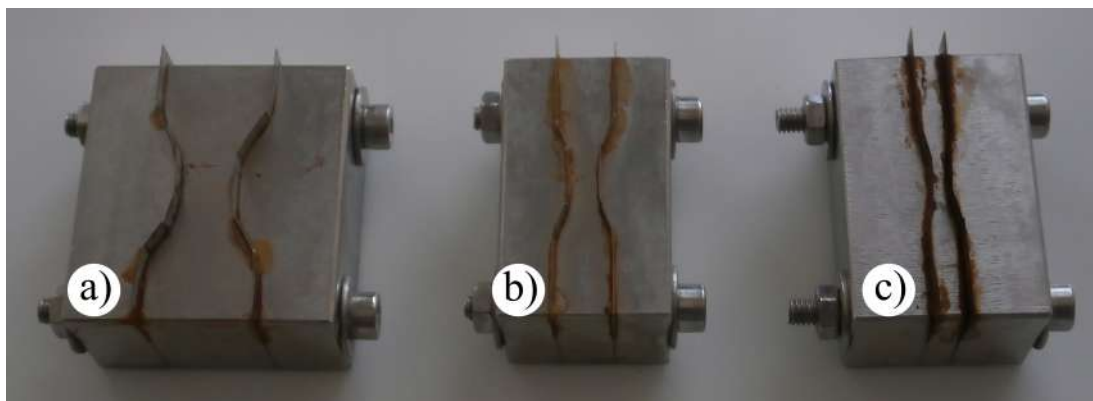
Pro uchycení vzorků používáme speciální svorky s vyměnitelnými pružinami, které umožňují přizpůsobit sevření čelistí aktuálně testovanému vzorku. Systém svorek a pružin s různými tuhostmi nám umožňuje nejen bezpečné a velmi rychlé upnutí a odepnutí testovaného vzorku, ale také možnost testování měkkých tkání s velmi odlišnými vlastnostmi – od poměrně pevných prasečích aort, přes tkáň AAA až po velmi měkkou tkáň ILT. Přestože svorky nám svou velikostí nedovolují pro dostupné rozměry tkání AAA (obvykle 18 mm × 18 mm) použití více než dvou svorek na hranu, je přesnost získaných deformačně–napětových křivek srovnatelná s přesností při použití vyššího počtu upínacích prvků (3–5 háčků) (Polzer et al., 2013c, Slazansky et al., 2016).

Mechanické zkoušky se realizují v lázni, temperované na požadovanou teplotu (běžně $37 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$), přičemž čtvercový vzorek je uchycen na každé straně dvěma

svorkami (obr. 5.1 c). Po upnutí vzorku svorkami je přes nádrž umístěn skleněný kryt (obr. 5.1 b). Pro zaznamenání síly během zkoušky je experimentální zařízení vybaveno tenzometrickými hlavami PW4MC3 (HBM, GmbH) s maximálním dovoleným zatížením do 20 N.

5.1.2 Úpravy experimentálního zařízení a rozšíření stávajícího vybavení

Původní experimentální zařízení doznalo v průběhu posledních let několika změn. V prvním provedení byla plastová nádrž bezodtoková, tudíž po ukončení testování musely být nejprve odejmuty snímací hlavy a následně i samotná nádrž. Zejména kvůli vyšší bezpečnosti a snadnější manipulaci během vypouštění a čištění nádrže, jsem navrhl nový plastový kryt s odtokovým ventilem. V návaznosti na novou nádrž bylo potřeba provést také úpravy na vodících trnech a vahadlech pro tenzometrické hlavy, které jsem taktéž navrhoval.



OB. 5.2: Pohled na vysekávací nože pro přípravu vzorků na jednoosou tahovou zkoušku. Odstupňováno dle šířky krčku a) 8 mm; b) 4 mm a c) 2 mm.

Současně s výše popsanou úpravou celého zařízení se nám jevílo jako naprosto logické přidat k dvuosým tahovým zkouškám jako běžný standard i zkoušku jednoosou¹. S ohledem na snadnost přípravy a stejný tvar vzorků, jsem na základě návrhu svého školitele specialisty Ing. Polzera, vytvořil výkresovou dokumentaci pro výrobu vysekávacích nožů pro jednoosé tahové zkoušky (obr. 5.2). V §5.1.1 bylo uvedeno, že pro dvuosé tahové zkoušky jsou používány úzké svorky podobné peanu (obr. 5.3 a). Šířka jejich čelistí je pouze 2 mm, což pro jednoosé tahové

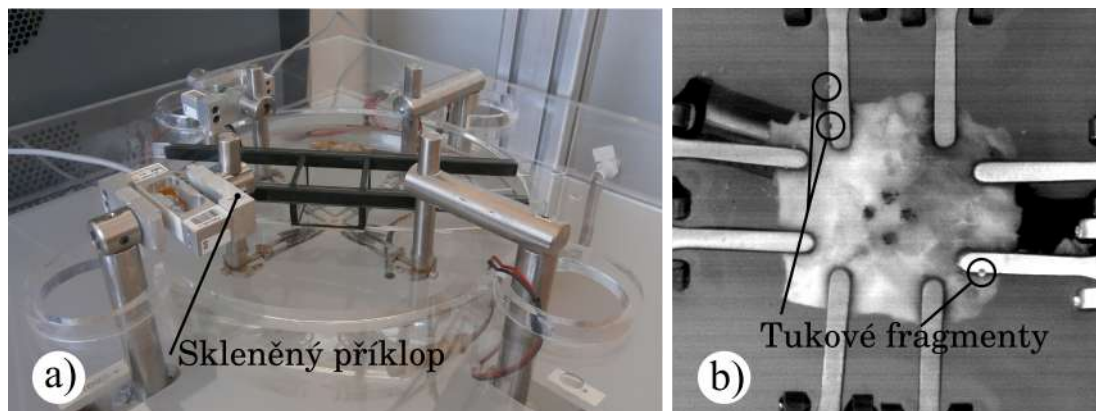
¹Jedině při ní je totiž možné určovat pevnost zkoušených materiálů, protože při dvuosé zkoušce dochází ke koncentraci napětí a předčasnému porušení v rozích vzorku.

zkoušky na vzorcích s širší lopatkou (obr. 5.2 a, b) není ideální. Navíc při jednoosých zkouškách na vepřových aortách docházelo k vysmeknutí vzorku ze svorek ještě před jeho přetržením. Z tohoto důvodu bylo potřeba modifikovat svorky pro jednoosou tahovou zkoušku. Při úpravě jsem vycházel z původního návrhu a u nové svorky jsem rozšířil čelisti na 10 mm, aby mohl být vzorek uchycen po celé své šířce. Jelikož při prvních testech docházelo k vysmeknutí vzorku z čelistí před dosažením požadovaného protažení, bylo ještě nutné doplnit tyto svorky silnějšími pružinami. Konečná podoba svorky se silnější pružinou je na obr. 5.3 b.



OBR. 5.3: a) Detail svorky pro biaxiální zkoušky, b) celkový pohled na svorku pro jednoosou tahovou zkoušku, c) externí vyhřívací lázeň pro vzorky během jejich zpracování.

K dalším úpravám, které pozitivně ovlivnily přesnost měření, patří bezesporu již zmíněný skleněný kryt (obr. 5.4 a) navržený Ing. Skácelem. Tento příklop je umístěn nad vzorkem a jeho spodní část spočívá pod hladinou. Tímto se nám podařilo eliminovat nejen vlnění vzniklé pohybem vahadel se svorkami, ale také tukové skvrny a fragmenty tkání plujících po hladině (obr. 5.4 b). Ty mohly při průchodu přes snímanou oblast vnášet šum do snímků a způsobovat tak nepřesnosti ve vyhodnocování přetvoření ze zaznamenávaných obrazů. K poslednímu doplnění stávajícího experimentálního zařízení patří samostatná vyhřívaná lázeň (obr. 5.3 c), díky které můžeme uchovávat vzorky tkání před měřením při požadované teplotě. Ta byla taktéž vytvořená Ing. Skácelem.



OBR. 5.4: a) Detail experimentálního zařízení s umístěným skleněným krytem.
b) Snímek stěny AAA se zvýrazněnými plovoucími objekty.

5.1.3 Příprava vzorků

V následujících odstavcích shrnuji své několikaleté praktické zkušenosti z mechanických zkoušek měkkých tkání – lidských i prasečích. Příprava těchto vzorků má jistá specifika, která bych zde rád uvedl. Pro větší názornost je rozdělím podle typů zkoušené tkáně, přičemž větší pozornost bude věnována vzorkům pro dvouosé zkoušky.

Začátkem je dobré připomenout, že zkoumaná tkáň nesmí oschnout. Z tohoto důvodu jsou všechny vzorky před testováním i tkáň, se kterou se momentálně nepracuje, udržovány ve vyhřívané lázni s fyziologickým roztokem ($37 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$) (obr. 5.3c).

a) Prasečí aorta

Nejprve musí být prasečí aorta podélně rozstříhnutá na straně, zpravidla odstupující arteriae intercostales posteriores (resp. arteriae lumbales) výseku a. abdominalis. Z vnější strany aorty se nachází vazivová tkáň, kterou je potřeba před vyseknutím vzorku odstranit. Z vnitřní strany je tkáň hladká (endotel) a nevyžaduje tudíž žádné mechanické zásahy. Z takto připravené tkáně je poté pomocí raznice vyseknut čtvercový vzorek ($18 \text{ mm} \times 18 \text{ mm}$)² pro biaxiální tahovou zkoušku, případně vzorek ve tvaru dvojité lopatky pro jednoosou zkoušku za použití příslušného vysekávacího nože (obr. 5.2), v požadovaném směru. U čtvercového vzorku je následně v pravém dolním rohu lihovým popisovačem označena anatomická orientace vzorku, stejně jako ideální pozice svorek po obvodu (obr. 5.5 a).

²Tento rozměr vzorku byl optimalizován numerickým modelováním a odpovídá minimální velikosti vzorku, který dokáže u našeho zařízení poskytnout výsledky s nejlepší dosažitelnou přesností.

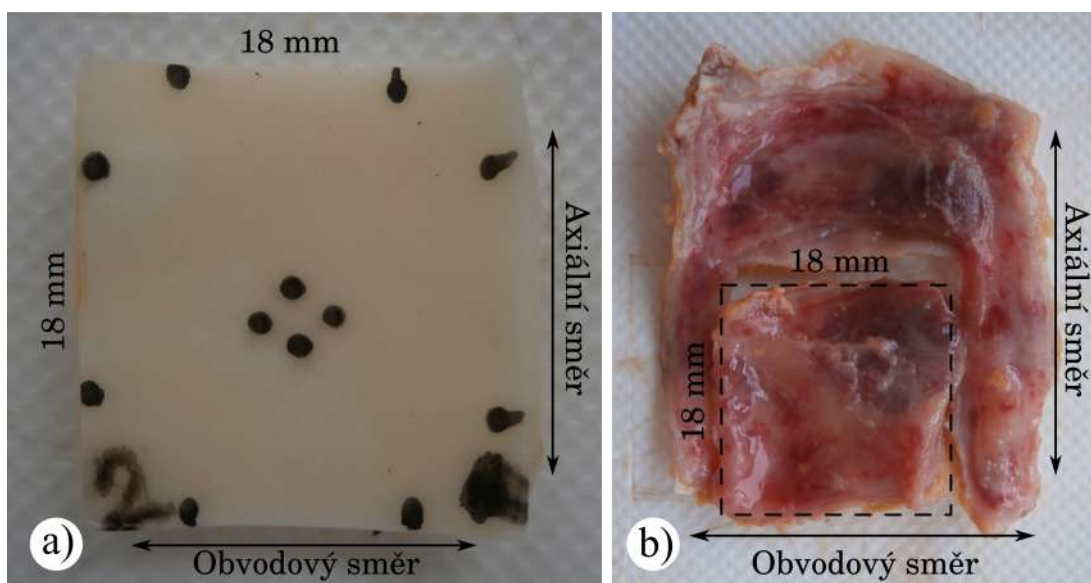
b) Stěna AAA

Podíváme-li se na stěnu AAA (obr. 5.5 b), všimneme si již na první pohled řady odlišností v porovnání s prasečí aortou. Nezřídka bývá na vnitřní straně stěny AAA trombus, který se musí v prvním kroku od stěny opatrně oddělit, aby jej bylo možno použít pro samostatné testování. Následně je potřeba jeho zbytky ze stěny jemně seškrábnout skalpelem. V oblasti rozhraní mezi stěnou a trombem (na vnitřní straně tepny) se můžou navíc vyskytovat aterosklerotické pláty. Pokud nejsou příliš soudržné se stěnou, můžou být odstraněny obdobným způsobem jako zbytky trombu. V opačném případě jsou ponechány na vzorku. Z vnější strany aorty je společně s vazivovou tkání odpreparována také tuková tkáň a případné odbočující tepny tak, aby nebyla poškozena samotná stěna. Jakmile je tkáň takto připravena, může být vyseknut vzorek pro dvouosou případně jednoosou tahovou zkoušku, na němž je označen anatomický směr a pozice svorek.

c) ILT

V předchozím odstavci bylo zmíněno, že společně s cévní stěnou často z odběru tkáně při operaci AAA obdržíme také intraluminální trombus³. Mimo samotné struktury ILT je v porovnání se stěnou AAA hlavním rozdílem jeho tloušťka. Ta se pohybuje od jednotek až k desítkám milimetrů. Po oddělení trombu od

³Odběr vzorků cévních tkání byl prováděn v rámci projektu GAČR a byl schválen etickou komisí Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, referenční číslo 49V/2010.



OBR. 5.5: Typické vzorky pro biaxiální tahovou zkoušku. a) Prasečí aorta s označenou anatomickou orientací, pozicí svorek a markery ve středové oblasti; b) Aneurysmatická stěna s naznačenou hranicí vyseknutého vzorku.

stěny je změřena jeho celková tloušťka a pak je podélně rozřezán na jednotlivé vrstvy. Pokud je mi známo, neexistuje v tomto bodě zatím žádné pevné pravidlo, jak vést jednotlivé řezy. Při separaci vrstev postupují od lumenální strany k abluminální, přičemž se snažím o přibližně stejnou tloušťku řezů, případně využívám hranic mezi jednotlivými stádii trombu, pokud jsou na vzorku viditelné. Z každé takto oddělené vrstvy je pořízen požadovaný vzorek a zaznamenána jak jeho tloušťka, tak i vzdálenost jeho vnitřní plochy od lumenu – vnitřní plochou je myšlena ta strana vzorku, která je nejbližší lumenu. Dále je poznačena jeho anatomická orientace a pozice svorek stejně, jako v předcházejících případech.

5.1.4 Metodika testování cévních tkání

Postup při dvouosých zkouškách je ve své podstatě stejný pro všechny výše uvedené tkáně. Vzorek je nejprve uchycen do testovacího zařízení a předcyklován rychlostí posuvu $0,333 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ a posuvem odpovídajícím ekvibiaxiálnímu režimu (tab. 5.1), dokud není splněna podmínka maximálního rozdílu v měřených silách mezi dvěma bezprostředně následujícími cykly ($< 0,02 \text{ N}$). Této hranice je většinou dosaženo mezi 5. až 10. testovacím cyklem. S ohledem na to, že během předcyklování docházelo k častému porušení vzorku, neprovádíme u vzorků ILT předcyklování. Mimo nastavení maximálních posuvů je důležitým doporučeným omezením maximální síla, které může být během testování dosaženo, aniž by došlo k porušení vzorku. U prasečí aorty byla tato hodnota experimentálně stanovena na 15 N , u aneurysmatické tkáně a trombu na 6 N .

Po předcyklování je vzorek odepnut, položen mezi dvě laboratorní sklíčka a je změřena jeho tloušťka pomocí digitálního tloušťkoměru v pěti místech jeho středové oblasti. Přiložené sklíčko společně s velmi malým přitlačným tlakem $1,0 \pm 0,1 \text{ kPa}$ umožňují vyrovnání vzorku, zabraňují vtlačení indentoru do tkáně a tím zajišťují optimální reprodukovatelnost měření.

Následně jsou na vzorek ve středové oblasti umístěny markery pro sledování přetvoření (obr. 5.5 a). Takto připravený vzorek je poté opět přichycen svorkami, přes nádrž je umístěn skleněný příklop a na vzorek je aplikováno předepnutí silou $0,1 \text{ N}$ ⁴. Tím je dosažena dostatečná rovinnost vzorku a eliminuje se vliv případných ohybových efektů. V této konfiguraci je taktéž pořízen referenční snímek. Samotné testování probíhá v pěti zatěžovacích protokolech (tab. 5.1), přičemž před každým typem zatěžovacího protokolu dojde k předcyklování v odpovídajícím módu, dokud opět není splněna podmínka maximální odchylky mezi dvěma

⁴Menší hodnota předepnutí není pro naše testovací zařízení použitelná, protože u menších sil dochází k výraznému vlivu tření v čepech na vahadlech a svorkách a měření nejsou opakovatelná.

po sobě jdoucími cykly. Hodnoty posuvů v jednotlivých režimech jsou nastaveny tak, aby celkový posuv u ($u = \sqrt{u_c^2 + u_a^2}$) odpovídal posuvu v ekvibiaxiálním režimu a požadovanému procentu deformace z ideálního rozměru vzorku.

| Režim testování | | $u_c : u_a$ | $2u_c : u_a$ | $5u_c : u_a$ | $u_c : 2u_a$ | $u_c : 5u_a$ |
|-----------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Prasečí aorta | posuv x [mm] | 6,3 | 8,0 | 8,7 | 4,0 | 1,8 |
| | posuv y [mm] | 6,3 | 4,0 | 1,8 | 8,0 | 8,7 |
| Stěna AAA | posuv x [mm] | 3,6 | 4,6 | 5,0 | 2,3 | 1,0 |
| | posuv y [mm] | 3,6 | 2,3 | 1,0 | 4,6 | 5,0 |
| ILT | posuv x [mm] | 2,7 | 3,4 | 3,75 | 1,7 | 0,75 |
| | posuv y [mm] | 2,7 | 1,7 | 0,75 | 3,4 | 3,75 |

TABULKA 5.1: Nastavení posuvů pro prasečí aortu, aneurysmatickou stěnu a ILT. Index c označuje obvodový směr, a axiální směr. Osa x odpovídá obvodovému směru na tepně, zatímco osa y je totožná s axiálním směrem.

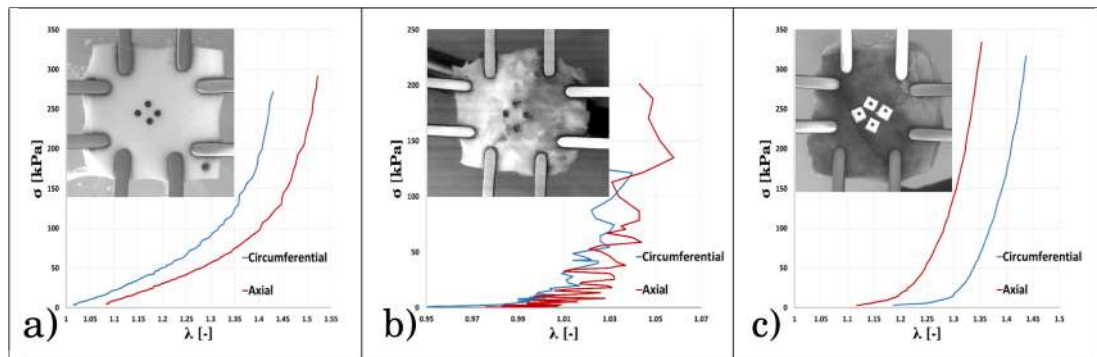
Na tomto místě je vhodné zmínit některá omezení výše uvedeného přístupu. Veškerá testování probíhají v protokolech řízených posuvy (případně silou) a současná koncepce nám neumožňuje protokol řízený přetvořením, který vyžaduje zpětnovazebnou smyčku založenou na okamžitém vyhodnocování přetvoření. Dalším možným omezením jsou krokové motory, jejichž technické parametry nedovolují vyšší přesnost řízení zatěžovacího procesu.

Závěrem je nutno podotknout, že skutečností, která v současné době asi nejvíce ovlivňuje přesnost výsledků, je kvalita a kontrast markerů. S ohledem na tento fakt prošly markery určitým vývojem a právě jemu je věnována následující část §5.1.5.

5.1.5 Specifika testování tkání AAA

Správné stanovení deformace pomocí optických metod je závislé na přesném určení polohy sledovaného objektu, v našem případě markerů. Tento fakt se stal markantním se začátkem mechanických zkoušek lidských aort. Oproti velmi hladké a homogenní struktuře endotelu prasečí aorty (obr. 5.6 a) vykazuje poškozená stěna AAA (obr. 5.6 b) značné rozdíly ve struktuře povrchu, ale také kontrastu a kvalitě markerů. To se odráží zejména na přesnosti detekce markerů, která může být zatížena výrazným šumem způsobeným deformací markerů a v některých případech může tato automatická detekce dokonce selhat vlivem zachycení tmavých skvrn na samotném povrchu tkáně namísto samotných markerů.

Ukázky obdržených křivek napětí–protažení pro prasečí aortu a stěnu AAA,



OB. 5.6: Křivky napětí-protažení získané z ekvibiaxiální tahové zkoušky. Řazeno zleva: prasečí aorta, stěna AAA s markery vyznačenými barvivem přímo na vzorek, stěna AAA s markery ze špendlíků.

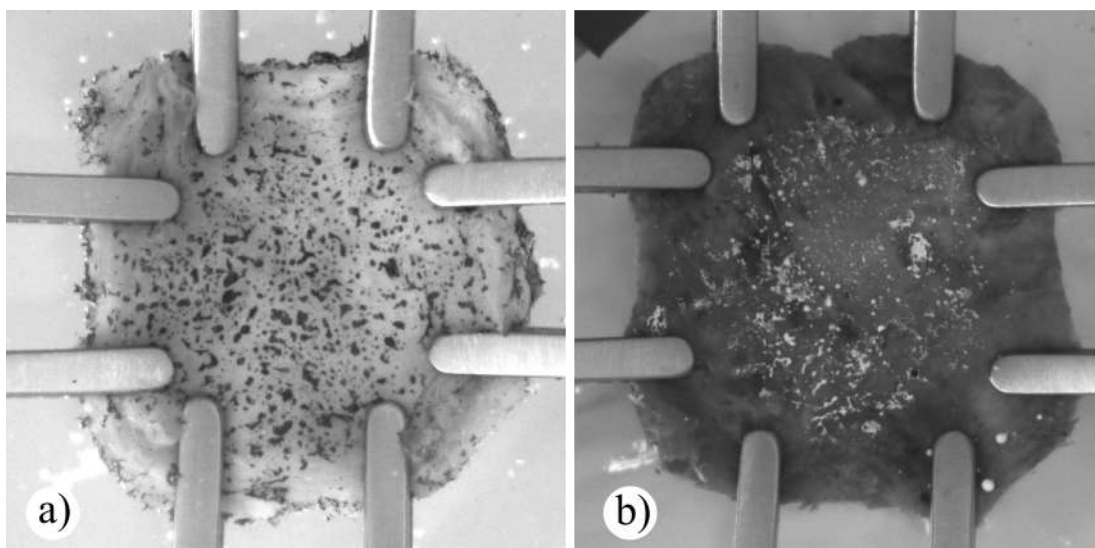
testovaných za stejných podmínek s použitím markerů umístěných přímo na povrch tkáně, jsou znázorněny na (obr. 5.6 a, respektive obr. 5.6 b). Již na první pohled je patrné, že zatímco pro prasečí aortu jsou markery vytvořené lihovým popisovačem dostačující, pro stěnu aneurysmatické aorty je tento typ markerů v důsledku velkého šumu takřka nepoužitelný. Z tohoto důvodu byly pro stěnu i ILT původní markery umístěné přímo na tkáň nahrazeny tenkými špendlíky (ϕ 0,5 mm) s plastovou ploškou, na níž je umístěn referenční bod (obr. 5.6 c). Tímto řešením byl významným způsobem zlepšen kontrast markerů a jejich detekce, jelikož nyní nezávisí na struktuře tkáně, což se odráží i v získané křivce napětí–protažení (obr. 5.6 c), která již není zatížena tak výrazným šumem. Současně také dochází k průměrování deformace po tloušťce a je tak eliminován vliv možného rozdílného posuvu jednotlivých vrstev aorty (oproti uchycení pomocí háčků je zatížení svorkami přenášeno jen na povrchové vrstvy vzorku). Podstatnou nevýhodou používání špendlíkových markerů je fakt, že jsou náchylné na naklánění, což musí být v co největší možné míře vyloučeno operátorem. I přes veškerou snahu při umístění markerů jsme museli od tohoto způsobu upustit, jelikož efekty způsobené nakláněním markerů nebyly zanedbatelné. Vrátili jsme se tedy k umístění markerů přímo na tkáň. Původní koncepci čtyř teček jsem zkusil nahradit nanesením kontrastního nástřiku (paternu) na celý vzorek. V současné době porovnáваме dva způsoby tvorby paternu:

a) Tmavý patern

Tento způsob je technologicky velmi jednoduchý, jelikož nepotřebuje žádný mezikrok. Na očištěné a lehce povrchově osušené tkáni je akrylovým sprejem přímo vytvořen tmavý patern (obr. 5.7a) a po krátkém zaschnutí je vzorek připraven k testování.

b) Světlý patern

Na rozdíl od předchozího způsobu je potřeba nejprve provést “barevnou homogenizaci” povrchu tkáně. Potřebné ztmavení docílíme ponořením vzorku do roztoku toluidinové modři po dobu přibližně jedné minuty. Na osušeném vzorku je následně vytvořen bílý patern lihovým popisovačem na sklo (obr. 5.7 b). Po krátkém zaschnutí paternu je vzorek připraven k testování.



OBR. 5.7: a) Tmavý patern na stěně AAA vytvořený akrylovým sprejem.
b) Světlý patern vytvořený lihovým popisovačem na vzorku stěny AAA.

Který z těchto dvou uvedených přístupů je vhodnější, je prozatím předmětem dalšího zkoumání. Z dosavadních výsledků se zdá, že oba přístupy si jsou rovnocenné. S namočením celého vzorku do barviva ovšem vyvstává otázka, zda používané barvivo neznemožní následné histologické zpracování zkoumaných vzorků, čímž bychom ztratili možnost získat informace o struktuře tkáně. I toto je předmětem pokračujícího výzkumu.

5.2 Vyhodnocení měření

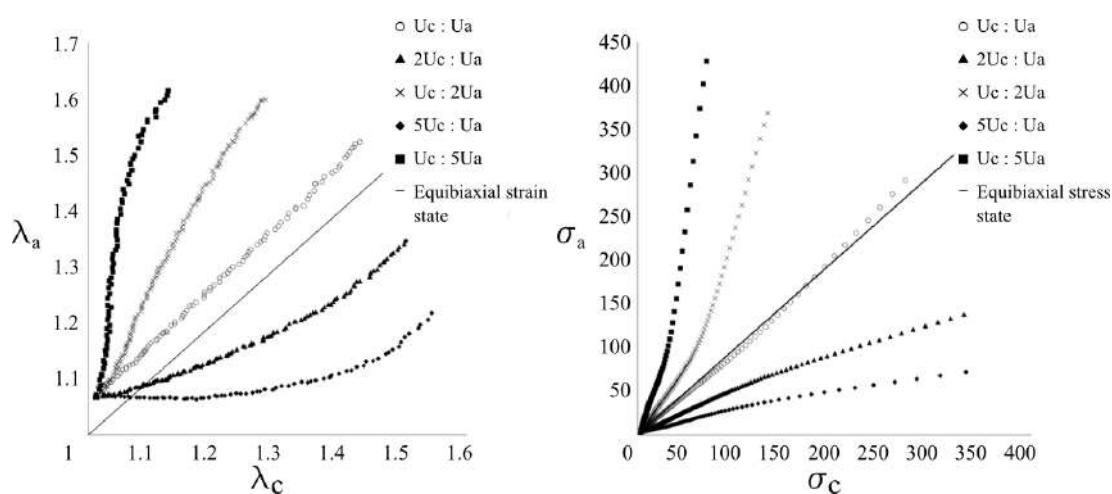
Po ukončení měření je k dispozici soubor snímků, který odpovídá příslušnému testovacímu protokolu včetně okamžitých hodnot měřených zatěžovacích sil v obou směrech F_c , F_a . Počáteční rozměry vzorku L_a v axiálním a L_c v obvodovém směru jsou stanoveny na základě pixelové velikosti z referenčního snímku, pořízeného před začátkem testování. Tloušťka T_0 je stanovena jako průměr z naměřených hodnot po předcyklování vzorku.

Protažení a všechny komponenty deformačního tenzoru jsou následně vyhodnoceny ze zaznamenaných snímků za použití softwaru Tibixus (ÚMTMB, Brno). První Piola–Kirchhoffovo napětí v axiálním σ_a , respektive v obvodovém σ_c směru:

$$\sigma_a = \frac{F_a}{L_c T}; \quad \sigma_c = \frac{F_c}{L_a T}, \quad (5.1)$$

je následně dopočítáno v makru programu MATLAB (MathWorks, 2012b, USA,).

Z modelového vyobrazení průběhů zatěžovacích protokolů na prasečí aortě (obr. 5.8) je patrné, že uvedeným nastavením (tab. 5.1) jsme schopni pokrýt většinu zatížení, která mohou v aortě nastat. Tudíž tak získáváme adekvátní vstupy do konstitutivních modelů. Podíváme-li se detailněji na obr. 5.8a) můžeme



OB. 5.8: Znázornění zatěžovacích protokolů pro prasečí aortu v souřadnicích: a) poměrných protažení λ v obvodovém a axiálním směru, b) smluvních napětí v obvodovém a axiálním směru.

si povšimnout, že poměrná protažení nevycházejí z nulových hodnot. To je způsobeno počátečním předepnutím vzorku potřebným pro jeho vyrovnání⁵. Tento jev je mnohem více patrný u tkání s nižší počáteční tuhostí, kde malé změny v silách způsobují větší protažení vzorku.

Závěrečným krokem ve zpracování měření je stanovení materiálových konstant pro požadovaný konstitutivní model materiálu. Z obr. 5.8 je zřejmé, že posuvy řízený testovací protokol není schopen zajistit proporcionalitu ani v protaženích ani v napětích. To znemožňuje fitování modelu ve většině komerčních konečno-prvkových programů, např. ANSYSu, tudíž je nutné použít vhodný program (např. Hyperfit⁶, vytvořený Ing. Skácelem na ÚMTMB), který dokáže postihnout prakticky libovolnou trajektorii zatěžování. Při použití takového programu se ale

⁵To stejné platí i pro sílu (resp. napětí), což o všem není při daném rozlišení grafu tak patrné.

⁶www.hyperfit.wz.cz

tato zdánlivá nevýhoda mění naopak v přednost, protože platí, že čím je rozložení experimentálních dat v prostoru daném souřadnicemi přetvoření rovnoměrnější, tím je lepší kvalita fitu a současně se také zlepšuje predikční schopnost použitého konstitutivního modelu.

Kapitola 6

Výsledky experimentů

Tato kapitola bude rozdělena do dvou tématických celků, ve kterých budou prezentovány experimentální výsledky z mechanických zkoušek ILT a poté vzorků prasečích aort vystavených účinkům elastázy.

Veškeré mechanické zkoušky byly uskutečněny v laboratoři ÚMTMB na experimentálním zařízení, které bylo popsáno v §5.1.1.

6.1 Mechanické zkoušky ILT

Jak bylo zmíněno v §3.4.1, v dostupné literatuře dosud nebylo publikováno příliš mnoho experimentálních dat ze dvouosých zkoušek ILT. Ve světle tohoto faktu se nám jeví jako významné zabývat se touto tematikou a pokusit se tak rozšířit momentální stav našeho poznání. Hlavním cílem bylo pokusit se získat na základě mechanických zkoušek parametry zvoleného konstitutivního modelu materiálu a stanovit mez pevnosti, obojí v závislosti na vzdálenosti od lumenu.

6.1.1 Získání a příprava vzorků

Soubor vzorků ILT pochází celkem od 28 pacientů (19 mužů, 9 žen), kteří podstoupili elektivní operaci AAA a jejichž základní údaje jsou shrnuty v tab. 6.1. Mechanické vlastnosti byly na vzorcích stanovovány z tahových zkoušek a veškeré testování se uskutečnilo do 4 hodin po získání vzorku během operace. Vzorky tkáně byly po odebrání uchovány ve fyziologickém roztoku o teplotě ($37 \pm 0,5$ °C). Celkově bylo takto nashromážděno 25 vzorků pro biaxiální tahovou zkoušku a 97 vzorků pro určení pevnosti v tahu. Nakládání se vzorky cévních tkání bylo

schváleno etickou komisí Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, referenční číslo 49V/2010.

U každého zkoumaného vzorku trombu byla zaznamenána jeho celková tloušťka, rozměry, stručný popis struktury a případně také pořízena fotografie. Poté byl vzorek rozdělen dle aktuální dispozice na vrstvy (viz §6.2.2) a byla zapsána vzdálenost vnitřní plochy každého vzorku od lumenu.

TABULKA 6.1: Přehled základních údajů o pacientech.

| | od | do | průměr ± SD | Medián |
|-------------------|-----|----|-------------|--------|
| Věk | 64 | 84 | 72,4 ± 5,0 | 73 |
| Průměr AAA [mm] | 44 | 90 | 60,6 ± 11,1 | 57 |
| Tloušťka ILT [mm] | 4,8 | 41 | 15,9 ± 9,9 | 12 |

| Klinický nález | Ano | Ne | Bývalí kuřáci |
|---------------------|-----|----|---------------|
| Hypertenze | 26 | 2 | - |
| HLP [†] | 17 | 11 | - |
| CHOPN ^{††} | 10 | 18 | - |
| Kuřák | 11 | 5 | 12 |

[†]Zvýšená hladina krevních tuků
^{††}Chronická obstrukční plicní nemoc

6.1.2 Mechanické zkoušky

Soubor vzorků pro biaxiální tahovou zkoušku ($n = 25$) pocházel od 18 pacientů, vzorky pro stanovení pevnosti v tahu ($n = 97$) byly od 28 pacientů. U všech vzorků byla zaznamenána celková tloušťka ILT, vzdálenost od lumenu a u vzorků pro jednoosou pevnost byla dále poznačena jejich orientace (axiální, obvodový směr). Průběh testování byl detailněji popsán v §5.1.4, na tomto místě jenom připomenou, že dvouosé zkoušky probíhaly v posuvy řízených testovacích protokolech s nastavením uvedeným v tab. 5.1 a pro vyhodnocení deformace bylo použito markerů ve formě teček i tmavého paternu.

Vzorky pro jednoosou pevnost v tahu byly vyseknuty z jednotlivých vrstev pomocí vysekávacího nože (obr. 5.2 c), s typickými rozměry 30 mm × 4 mm a nominální šířkou krčku 2 mm. Následně byla poznamenána jejich anatomická orientace a změřena jejich tloušťka ve třech středových bodech krčku, stejným způsobem jako u čtvercového vzorku. Po té byl vzorek uchycen svorkami v testovacím zařízení s respektováním os přístroje a anatomické orientace vzorku (osa x – obvodový směr, osa y – axiální směr). Na takto uchyceném vzorku bylo aplikováno počáteční

předpnutí (0,1 N) potřebné pro jeho vyrovnání. Po dosažení požadovaného předpnutí byl pořízen referenční snímek. Ke stanovení meze pevnosti bylo použito posuvem řízeného protokolu s rychlostí posuvu 0,333 m/s a experiment byl ukončen při dosažení maximální síly před porušením vzorku.

6.1.3 Vyhodnocení měření ILT

U všech vzorků byla určována jejich vzdálenost od lumenu jako součet změřené vzdálenosti odseparované vrstvy a poloviny tloušťky vzorku. U jednoosých tahových zkoušek byla stanovena maximální pevnost v tahu σ_{max} ve smyslu 1. PK napětí následovně:

$$\sigma_{max} = \frac{F_{max}}{S_0}, \quad (6.1)$$

kde F_{max} označuje maximální dosaženou sílu před přetržením vzorku a S_0 je počáteční průřez vzorku.

Experimentální data z dvouosých zkoušek byla vyhodnocena v programu Tibixus (ÚMTMB, Brno), přičemž 1. PK–napětí bylo na základě předpokladu o homogenní napjatosti po průřezu dopočítáno ze vztahu rov. 5.1. K určení materiálových parametrů ILT byl použit software Hyperfit (www.hyperfit.wz.cz). Pro fitování materiálových parametrů byly pro porovnání zvoleny dva modely materiálu uváděné v literatuře:

- a) SEDF popsaná modelem Yeoh druhého řádu (rov. 3.19)

$$\Psi = c_1(I_1 - 3) + c_2(I_1 - 3)^2, \quad (6.2)$$

- b) SEDF vycházející z Ogdenova modelu (rov. 3.20)

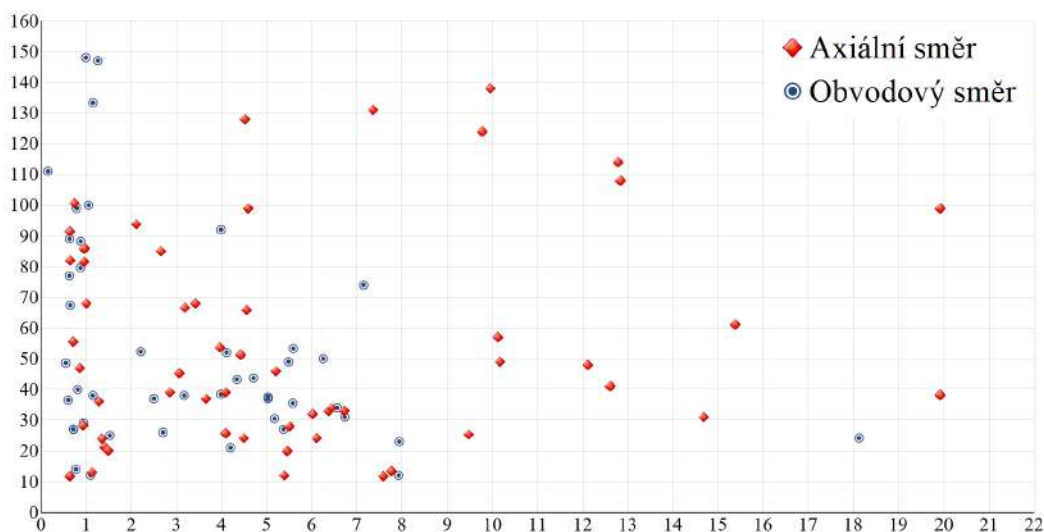
$$\Psi = c \sum_{i=1}^3 (\lambda_i^4 - 1). \quad (6.3)$$

Podrobnější popis celé metodiky vyhodnocení je zmíněn v §6.1.3. Statistické analýzy byly zpracovány v programu MiniTab (15.1.1, Minitab Inc., USA.) a byla u nich uvažována hladina statistické významnosti $\alpha = 0.05$, což znamená, že rozdíl mezi testovanými soubory považujeme za statisticky významný, pokud je $p < 0.05$.

6.1.4 Výsledky tahových zkoušek

Jednoosá pevnost v tahu

Na obr. 6.1 jsou pro všechny testované vzorky vykresleny naměřené pevnosti společně se vzdáleností od lumenu (rozděleno dle anatomické orientace).



OBR. 6.1: Pevnosti ILT pro všechny vzorky v závislosti na vzdálenosti od lumenu.

Pro vystižení trendu byly všechny změřené hodnoty rozděleny do čtyř skupin dle vzdálenosti od lumenu a s respektováním anatomické orientace. Pro každou skupinu byl poté stanoven medián a interkvartilní rozptyl jak pro vzdálenost od lumenu – $h_{circ,axial}$ tak i pro maximální pevnost, přičemž zpracované hodnoty jsou uvedeny v tab. 6.2.

Jelikož je na ILT velmi často nahlíženo jako na izotropní materiál, byla pro porovnání vytvořena tab. 6.3, kde jsou vzdálenosti a pevnosti rozděleny stejným způsobem jako v předchozím případě, ovšem bez rozlišení anatomické orientace.

Biaxiální tahová zkouška

Také u dvouosých tahových zkoušek byl hledán vztah mezi narůstající vzdáleností od lumenu a změnou mechanických vlastností. Obdobně jako v předchozím případě byla i experimentální data z dvouosých tahových zkoušek rozčleněna do tří skupin dle vzdálenosti od lumenu (h), přičemž dělicí hodnotou byla zvolena průměrná tloušťka všech vzorků ($t = 3,4$ mm). Na takto rozčleněném datovém

TABULKA 6.2: Rozdělení naměřených maximálních pevností ILT a vzdáleností od lumenu do jednotlivých skupin s uvažováním anatomické orientace.

| Vzdálenost od lumenu | h_{circ} [mm] | σ_{circ} [kPa] | h_{axial} [mm] | σ_{axial} [kPa] |
|-------------------------|-------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|------------------------|
| | Medián ($Q_{0,25} \div Q_{0,75}$) | | Medián ($Q_{0,25} \div Q_{0,75}$) | |
| 0 – 2 mm | 0,8 (0,6 ÷ 1,0) | 67,4 (28,1 ÷ 99,5) | 0,9 (0,7 ÷ 1,0) | 61,8 (33,0 ÷ 81,9) |
| 2 – 4 mm | 2,9 (2,5 ÷ 3,8) | 38,2 (37,3 ÷ 48,8) | 3,1 (2,8 ÷ 3,5) | 60,2 (43,8 ÷ 72,3) |
| 4 – 6 mm | 5,0 (4,3 ÷ 5,2) | 37,0 (30,5 ÷ 43,3) | 4,6 (4,5 ÷ 5,4) | 39,7 (22,9 ÷ 58,6) |
| 6 mm – více | 7,5 (6,7 ÷ 10,5) | 27,6 (21,1 ÷ 38,0) | 7,7 (6,4 ÷ 10,8) | 33,1 (25,1 ÷ 38,9) |

circ – obvodový směr, axial – axiální směr.

souboru byly vypočteny moduly tuhosti v počáteční a koncové oblasti deformačně-napěťové křivky pro každý vzorek a anatomický směr. Pro vyhodnocování byl v návaznosti na dříve publikované výsledky ekvibiaxiální testovací režim ($u_c : u_a$). Z těchto modulů tuhosti byl stanoven medián a společně s interkvartilním rozptylem jsou tyto hodnoty uvedeny v tab. 6.5.

Mimo již zmíněných modulů byly jednotlivé skupiny fitovány dvěma výše uvedenými konstitutivními modely materiálu a statistický popis (medián a interkvartilní rozptyl) jejich jednotlivých parametrů je společně se vzdáleností od lumenu uveden v tab. 6.4 a tab. 6.6. Pro doplnění byl proveden statistický popis materiálových parametrů pro oba modely, aniž by u nich byla zohledněna vzdálenost vzorku od lumenu tab. 6.7.

TABULKA 6.3: Rozdělení naměřených maximálních pevností ILT a vzdáleností od lumenu do jednotlivých skupin bez rozlišení anatomické orientace.

| Vzdálenost od lumenu | h [mm] | σ [kPa] |
|----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | Medián ($Q_{0,25} \div Q_{0,75}$) | Medián ($Q_{0,25} \div Q_{0,75}$) |
| 0 – 2 mm | 0,9 (0,6 \div 1,0) | 67,4 (28,3 \div 89,0) |
| 2 – 4 mm | 3,1 (2,7 \div 3,6) | 48,8 (38,1 \div 67,7) |
| 4 – 6 mm | 4,9 (4,4 \div 5,4) | 36,3 (26,7 \div 45,6) |
| 6 mm – více | 7,7 (6,5 \div 10,8) | 32,5 (23,9 \div 38,9) |

TABULKA 6.4: Statistický popis jednotlivých konstant získaných z fitování experimentálních dat pro model Yeoh s rozlišením vzdálenosti od lumenu (medián, $Q_{0,25} \div Q_{0,75}$).

| Vzdálenost od lumenu | h [mm] | Model Yeoh | | R^2 [-] |
|----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | c_{10} [kPa] | c_{20} [kPa] | |
| 0 – 3,4 mm | 1,8 | 7,45 | 0 | 0,6 |
| | (1,5 \div 2,0) | (5,58 \div 8,17) | (0 \div 2,71) | (0,4 \div 0,68) |
| 3,4 – 6,8 mm | 5,4 | 7,11 | 2,44 | 0,8 |
| | (4,8 \div 5,4) | (4,14 \div 7,56) | (1,99 \div 2,58) | (0,73 \div 0,8) |
| 6,8 mm – více | 10,7 | 4,84 | 0 | 0,72 |
| | (9,8 \div 11,2) | (3,97 \div 7,51) | (0 \div 0,69) | (0,72 \div 0,75) |

TABULKA 6.5: Přehled počátečních a koncových inkrementálních modulů ze všech biaxiálních vzorků v závislosti na vzdálenosti od lumenu (medián, $Q_{0,25} \div Q_{0,75}$).

| Vzdálenost od lumenu | h [mm] | Obvodový směr | | | Axiální směr | | |
|----------------------|--------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| | | Počáteční modul [kPa] | Koncový modul [kPa] | Počáteční modul [kPa] | Počáteční modul [kPa] | Koncový modul [kPa] | Koncový modul [kPa] |
| 0 – 3,4 mm | 1,8 | 44,1 | 74,1 | 74,8 | 58,1 | | |
| | (1,5 ÷ 2,0) | (30,4 ÷ 83,1) | (44,8 ÷ 103,1) | (30,5 ÷ 100) | (45,3 ÷ 122,7) | | |
| 3,4 – 6,8 mm | 5,4 | 53,0 | 51,3 | 83,7 | 71,7 | | |
| | (4,8 ÷ 5,4) | (38,5 ÷ 60,9) | (36,8 ÷ 104,5) | (31,4 ÷ 107,3) | (53,8 ÷ 157,9) | | |
| 6,8 mm – více | 10,7 | 33,3 | 89,6 | 57,9 | 55,7 | | |
| | (9,8 ÷ 11,2) | (26,5 ÷ 40,1) | (79,2 ÷ 100,1) | (43,6 ÷ 72,2) | (40,3 ÷ 71,1) | | |

TABULKA 6.6: Statistický popis jednotlivých konstant získaných z fitování experimentálních dat pro Ogden model v závislosti na vzdálenosti od lumenu (medián, $Q_{0,25} \div Q_{0,75}$).

| Vzdálenost od lumenu | h [mm] | Ogden model | | | | | | R^2 [-] |
|----------------------|--------------|---------------|------------|---------------|---------------|------------------|---------------|---------------|
| | | α_1 | μ_1 | μ_2 | α_2 | μ_3 | α_3 | |
| 0 – 3,4 mm | 1,8 | 0 | 0,13 | 0 | 6,59 | 4,85 | 12,98 | 0,62 |
| | (1,5 ÷ 2,0) | (0 ÷ 0,36) | (0 ÷ 0) | (5,20 ÷ 11,1) | (2,77 ÷ 5,72) | (0 ÷ 75,6) | (0 ÷ 0,42) | (0,47 ÷ 0,79) |
| 3,4 – 6,8 mm | 5,4 | 0,62 | 0,03 | 1,98 | 9,03 | 114,18 | 0,07 | 0,88 |
| | (4,8 ÷ 5,4) | (0,04 ÷ 1,46) | (0 ÷ 7,88) | (1,66 ÷ 2,5) | (8,24 ÷ 9,39) | (92,33 ÷ 219,44) | (0,04 ÷ 0,07) | (0,86 ÷ 0,93) |
| 6,8mm – více | 10,7 | 0,48 | 0 | 4,0 | 5,18 | 31,26 | 0 | 0,8 |
| | (9,8 ÷ 11,2) | (0,25 ÷ 0,58) | (0 ÷ 46,1) | (2,0 ÷ 6,36) | (2,71 ÷ 5,28) | (15,63 ÷ 105,2) | (0 ÷ 0,12) | (0,8 ÷ 0,82) |

TABULKA 6.7: Statistický popis jednotlivých konstant získaných z fitování experimentálních dat pro uvažované typy materiálu pro všechny vzorky bez rozlišení vzdálenosti od lumenu.

| | Parametry | Medián ($Q_{0,25} \div Q_{0,75}$) | R^2 [-] |
|-------------|------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Model Yeoh | c_{10} | 7,19 (5,08 \div 8,17) | 0,68 (0,58 \div 0,77) |
| | c_{20} | 0,22 (0 \div 2,58) | |
| Ogden model | μ_1 | 0,22 (0 \div 0,62) | 0,75 (0,56 \div 0,86) |
| | α_1 | 0 (0 \div 0) | |
| | μ_2 | 5,3 (2,5 \div 8,73) | |
| | α_2 | 5,29 (3,25 \div 8,15) | |
| | μ_3 | 31,26 (0 \div 125,41) | |
| | α_3 | 0,07 (0 \div 0,24) | |

6.1.5 Interpretace a zhodnocení výsledků, limitace

Maximální pevnost v tahu

Výsledné hodnoty dosažených maximálních pevností ILT uvedených v tab. 6.2 a tab. 6.3 ukazují, že s přibývajícím vzdáleností od lumenu dochází k poměrně k výraznému poklesu maximální pevnosti ILT v obou směrech. Při porovnání nejbližší a nejvzdálenější oblasti od lumenu je tento pokles na 6 mm vzdálenosti přibližně poloviční.

Celkový trend tohoto poklesu maximálních pevností s přibývajícím vzdáleností od lumenu taktéž odpovídá výsledkům jiných autorů uvedeným v tab. 3.14. Pokud bychom porovnávali konkrétní hodnoty, blížím se svými výsledky práci (Di Martino et al., 1998). Pro srovnání s ostatními autory uvedenými v tab. 3.14 potřebujeme v prvé řadě sjednotit koncepce napětí. K tomu může dopomoci poměrně jednoduchý myšlenkový konstrukt, kdy Cachyho napětí z tab. 6.2 respektive tab. 6.3 vynásobíme poměrným protažením $\lambda = 1,5$. Tato hodnota je čistě ilustrativní a odpovídá přibližně maximálnímu možnému protažení uniaxiálních vzorků. Po tomto kroku je již více zřetelná kvalitativní podobnost s výsledky (Gasser et al., 2008), zatímco v porovnání s prací (Wang et al., 2001) jsou moje výsledky asi pětinašobně menší a oproti (O’Leary et al., 2014) zase přibližně devětkrát větší.

Samozřejmě pokud bych měl k dispozici údaj o skutečném protažení, mělo by takovéto porovnání větší vypovídající hodnotu, stejně tak by se daly porovnávat i maximální inkrementální tuhosti. Tohoto nedostatku jsem si vědom a v následujících prováděných měřeních bude průběh deformace již zaznamenáván.

Biaxiální tahová zkouška

Při porovnání počátečních a koncových modulů tuhosti tab. 6.5 nenajdeme pro všechny hodnoty jednoznačný společný trend. Nicméně v návaznosti nejen na předchozí část, byla experimentální data fitována na dva modely materiálu, jejichž parametry společně s mírou kvality fitu (R^2) a zohledněním vzdálenosti od lumenu jsou uvedeny v tab. 6.4 a tab. 6.6. Ten stejný postup jsem zopakoval ještě jednou, ovšem bez uvažování vzdálenosti od lumenu a výsledné materiálové parametry jsou zapsány v tab. 6.7. Můžeme si povšimnout, že model Ogden postihuje deformačně-napěťovou odezvu o něco lépe než model Yeoh. Při porovnání s hodnotami v tab. 6.6 ovšem vidíme, že rozdělením ILT na jednotlivé vrstvy přesnost fitování výrazně nezlepšíme.

Poměrně nízká hodnota přesnosti může mít příčinu v řadě jevů. Základním je velký rozptyl výsledků, daný zřejmě tím, že každý odebraný trombus má jinou strukturu. Dalším může být fakt, že jsme neměli žádné praktické zkušenosti, ať už se jednalo o přípravu vzorků, kontrast markerů nebo o strukturu ILT, která si mimo jiné vyžádala výrazně poddajnější pružiny pro uchycení (viz §5.1).

Dále bych chtěl zmínit, že při přípravě vzorků se mohou vyskytnout některé aspekty, které je potřeba uvést. Jako nejvíce problematická se mi v průběhu testování jeví separace trombu na jednotlivé vzorky. Je totiž poměrně obtížné zajistit stejnou tloušťku po celém průřezu vzorku, zejména u vzorků pro dvouosou tahovou zkoušku. Tento fakt mohl jistým způsobem ovlivnit měřené deformačně-napěťové charakteristiky, minimálně tím, že průřez vzorků a tudíž i napětí nebylo po průřezu homogenní. To by se například dalo vyřešit výrobou vhodného univerzálního přípravku pro řezání trombu na potřebné pláty.

Jako další poměrně obtížnou část vidím měření mechanických vlastností ablu-minální vrstvy ILT. V tomto případě mám na mysli tu část, která přímo dosedá na stěnu aorty, případně je v jejím nejbližším okolí (≈ 3 mm). Tato vrstva je totiž v naprosté většině případů nesoudržná nebo značně porušená a pro vytvoření vzorku pro jednoosou nebo dvouosou tahovou zkoušku nepoužitelná. Doposud se mi nepodařilo najít nějaký společný ukazatel, který by mohl už dopředu naznačit míru nekonzistentnosti této vrstvy. Domnívám se, že v důsledku degradačních proteolytických procesů je kompaktnost této vrstvy velmi nízká, stejně tak jako spojení mezi ILT a stěnou aorty. Takže při rozříznutí stěny a ILT během operace dojde k výraznému narušení této „křehké“ rovnováhy a samovolnému lokálnímu oddělení trombu od stěny. Základem pro formulaci této domněnky se stalo vlastní pozorování a fotodokumentace při elektivních operacích a následném odběru vzorků AAA. Ve světle výše uvedeného se domnívám, že by se tento fakt měl zohlednit i do výpočtového modelu, například snížením tuhostních parametrů této vrstvy ILT

nebo volbou jiného než svázaného kontaktu mezi stěnou a trombem. Stanovení míry takového snížení si nicméně vyžaduje dalšího pozorování.

6.2 Vliv elastázy na změnu mechanických vlastností prasečí aorty

6.2.1 Motivace

Jedním z významných omezení pro klinickou použitelnost výpočtových modelů predikce ruptury AAA je nemožnost jejich ověření (validace) u reálných pacientů. Vytvoření AAA u animálního modelového objektu by umožnilo simulovat rupturu a tím ověřit jak úroveň tlaku, tak i lokalizaci ruptury predikovanou pomocí výpočtového modelu a tím urychlit jeho klinické využití. Protože podle posledních poznatků je vznik a vývoj AAA dán postupnou degradací a úbytkem elastinu ve stěně aorty (White, 1994), prvním krokem v tomto směru by mělo být ověření, zda jsme schopni uměle vytvořit AAA u pokusného zvířete, tedy změnit mechanické vlastnosti zdravé aorty tak, aby se blížily vlastnostem stěny AAA. Jelikož elastin i kolagen tvoří komplexní prostorovou strukturu, je potřeba využít vhodného biochemického působení k jejich separaci, např. enzymatické proteolytické procesy. Nejčastěji je k tomu používána kolagenáza (rozkládající kolagen) a elastáza (rozkládající elastin).

Ve zdravé cévní stěně jsou výše uvedené proteázy (elastáza a kolagenáza) společně s MMPs (metalloproteinázami) přítomny v latentní podobě a k jejich aktivaci dochází až většinou v důsledku poškození stěny, genetickými změnami, záněty nebo jiným onemocněním. Jejich zvýšená přítomnost byla také zjištěna v aneurysmatické tkáni (§2.3), kde jsou právě zodpovědné za postupnou degradaci kolagenové a elastinové matrice a následný růst výdutě. Leukocyty, které produkují specifické enzymy MMP-9 a elastázu, byly mimo stěnu identifikovány i uvnitř trombu (Kazi et al., 2005). Právě jejich vysoká koncentrace ve stěně aneurysmatu vedla k myšlence vytvořit pomocí enzymatického působení tkáň podobnou AAA *in vivo*¹ (Coutard et al., 2010) nebo *in vitro*.

¹Tento způsob může být ovšem poněkud diskutabilní, jelikož u pokusných zvířat dochází ke ztrátě elastinu v důsledku enzymatického působení v řádech týdnů. To je ovšem v rozporu s růstem AAA, která trvá v řádech roků. Rychlý úbytek elastinu nemůže být plně nahrazen kolagenem. To se může projevit jednak v deformačně–napěťovém chování arteriální stěny, ale také ve struktuře ILT, který bude v celém svém objemu tvořen převážně „čerstvým“ trombem s převažujícím podílem krevních buněk.

Tkáni upravenou *in vitro* se zabývala řada výzkumných týmů, z nichž bych chtěl uvést zejména tři následující. Gundiah *et al.* (Gundiah *et al.*, 2013) provedl na prasečích aortách vystavených účinkům kolagenázy a elastázy ekvibiaxiální tahové zkoušky, přičemž u vzorků máčených v elastáze pozorovali výrazné deformační zpevnění. Naproti tomu publikovali Weisbecker *et al.* (Weisbecker *et al.*, 2013) studii, kde má elastáza změkčující účinek na deformačně–napětovou křivku. Tento výzkum byl ovšem uskutečněn na vzorcích lidských hrudních aort – z pitev, na kterých byly provedeny jednoosé tahové zkoušky. Poslední zde uvedená studie byla představena Chow *et al.* (Chow *et al.*, 2013), kde na prasečích aortách vystavených působení elastázy pozorovali nejprve deformační změkčení, které s narůstající dobou působení elastázy přecházelo do deformačního zpevnění.

Na základě těchto tří prací a určitého rozporu mezi nimi, jsme se rozhodli uskutečnit vlastní pilotní experimentální vyšetření vlivu elastázy na mechanické vlastnosti prasečí aorty². Hlavním cílem bylo nalezení optimální koncentrace elastázy, společně s dobou expozice, při které bude dosaženo tkáně, která se bude mechanicky chovat podobně jako tkáň AAA (s nízkou počáteční tuhostí a s výrazným deformačním zpevněním). Na základě těchto výsledků, by bylo poté možné vytvářet pokusné vzorky s odezvou blízkou AAA a vylepšovat tak doposud prováděná měření.

6.2.2 Příprava vzorků

Pro prvotní studii bylo použito čtyř, přibližně 20 cm dlouhých, úseků prasečí aorty, které byly získány z místních jatek a uchovány v mrazničce při teplotě -18°C . Před testováním byly pozvolna rozmrazeny ve fyziologickém roztoku při pokojové teplotě ($\sim 20^{\circ}\text{C}$). Po odseparování přebytečné tukové a pojivové tkáně byl z každého aortálního segmentu vyseknut jeden vzorek pro dvouosou tahovou zkoušku, přibližně ve stejné vzdálenosti (~ 5 cm) od aortálního oblouku. Dále byla označena jejich anatomická orientace a kvůli zamezení dehydratace byly přechovávány ve fyziologickém roztoku vyhřívaném na 37°C .

6.2.3 Ošetření elastázou

Pro postupnou degradaci vzorků aort byl použit 5 U/ml kultivační roztok prasečí pankreatické elastázy typu I (Sigma-Aldrich, CZ) a fyziologického roztoku (0,9%

²Účinek kolagenázy nebyl do tohoto experimentu zahrnut, protože v poškozené tkáni AAA dochází zejména k úbytku elastinu a jeho nahrazování kolagenními vlákny.

NaCl)³. V roztoku elastázy byly vzorky udržovány při teplotě 37°C po dobu 12 h (Time 1), 15 h (Time 2) a 24 h (Time 3), poté vyjmuty a před každým testováním ustáleny ve fyziologickém roztoku.

6.2.4 Dvouosá tahová zkouška

Každý vzorek byl nejprve předcyklován v proporcionálním testovacím protokolu $u_c : u_a$, s posuvy odpovídajícími 35% deformace z ideálního rozměru vzorku, s omezením maximální dovolené síly na 8 N a počátečním předepnutím vzorku 0,1 N. Poté byl vzorek položen mezi dvě laboratorní sklíčka a byla změřena jeho tloušťka v pěti místech ve středové oblasti pomocí digitálního tloušťkoměru. Výsledná hodnota je průměrem z naměřených hodnot. Po předcyklování a určení tloušťky byly vzorky otestovány ve třech proporcionálních testovacích režimech $u_c : u_a$, $2u_c : u_a$ a $u_c : 2u_a$. Tento výchozí stav je dále označován jako Time 0. Popsaná metodika experimentu byla zachována i v následujících časech (Time 1, Time 2 a Time 3).

S ohledem na fakt, že během působení elastázy dochází k narušení povrchu vzorku, byly na vzorcích testovány následující 3 druhy paternu:

- a) čtyři tečky – vytvořené lihovým popisovačem (viz obr. 5.5 a).
- b) tmavý patern – kontrastní nástřík akrylovým sprejem (viz obr. 5.7 a).
- c) plastové terčíky – černé plastové markery (hrana $\sim 1,5$ mm, tloušťka 0,5 mm) nalepené minimálním množstvím kyanoakrylátového lepidla na povrch vzorku, uspořádané stejně jako v prvním bodě.

Před začátkem celého měření byly „izolované“ markery vytvořeny od každého typu po jednom, zatímco kontrastní patern byl na vzorcích dvou. Po prvním vyjmutí vzorků z lázně (+12 hod – Time 1) došlo ke smytí barvených markerů, tudíž byly nahrazeny plastovými terčíky. Na jednom vzorku zůstal původní patern. V čase +15 hod (Time 2) byly plastové markery dolepeny i na poslední vzorek.

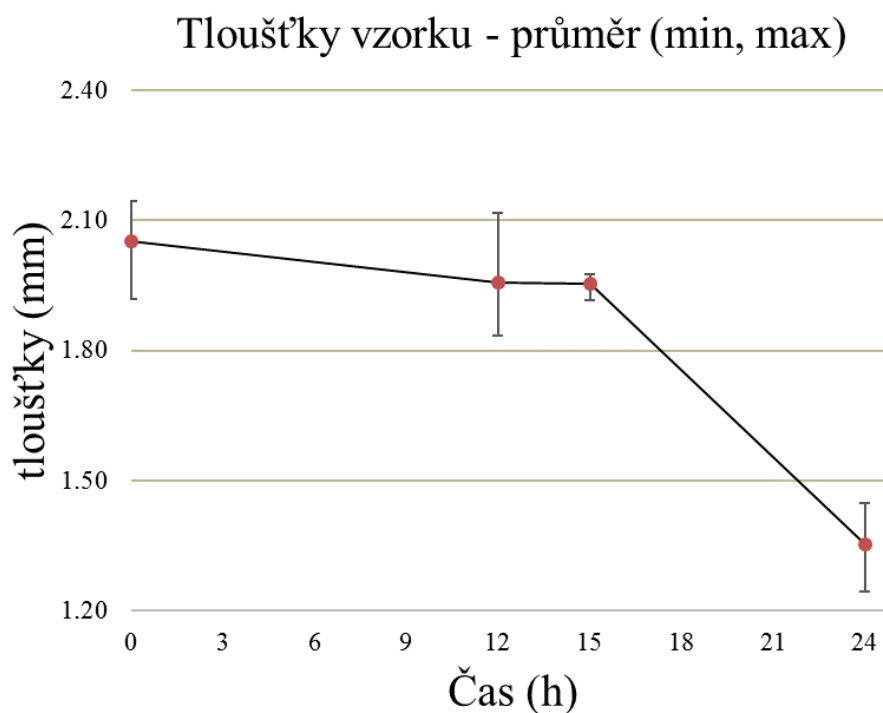
Obdobně jako u ILT (§6.1.3) bylo 1.PK–napětí vypočítáno z rovnice rov. 5.1 a dále byly vykresleny deformačně-napěťové křivky pro jednotlivé časy i vzorky.

³V souladu s prací Weisbecker *et al.* (Weisbecker *et al.*, 2013) nebyl do lázně přidán trypsin pro zamezení rozkladu proteoglykanů a možného ovlivnění kolagenem.

6.2.5 Vliv elastázy – výsledky

6.2.5.1 Změna rozměrů v průběhu enzymatického působení

Jak již bylo naznačeno, dochází v důsledku působení elastázy k zásadním strukturním změnám. Kvantitativně lze tyto změny pozorovat i pouhým okem, jelikož dochází k přechodu pevné struktury vzorku do struktury podobné hustému gelu. U neošetřených aort se tloušťka vzorků pohybovala od 1,92 do 2,14 mm (průměr $2,05 \pm 0,086$ mm), zatímco s přibývajícím dobou expozice jejich tloušťka klesala jak je patrné na obr. 6.2. Toto postupné „roztékání“ vzorků mělo za následek taktéž pozvolný nárůst délkových rozměrů vzorků, což se nejvíce projevilo po 24 hodinách (tab. 6.8).



OBR. 6.2: Znázornění průběhu změn tloušťky vzorků v důsledku působení elastázy v jednotlivých časech.

6.2.5.2 Deformačně-napěťové křivky a moduly pružnosti

Naměřená data byla vyhodnocena, dle již dříve uvedeného postupu (§5.2) a pro každý vzorek byla vykreslena deformačně-napěťová závislost. Ačkoliv byly vzorky

testovány v různých proporcionálních testovacích režimech ($2u_c : u_a; u_c : 2u_a$), budou zde pro diskutovány pouze výsledky z ekvibiaxiálního testovacího režimu ($u_c : u_a$), jelikož výše uvedení autoři publikovali také pouze ekvibiaxiální experimentální data. Průběhy naměřených deformačně-napěťových závislostí z našeho testování jsou vykresleny na obr. 6.3 a budou detailněji diskutovány v následující části. Ke kvantifikaci změn mechanických vlastností mezi stanovenými fázemi degradace elastinu byl zvolen počáteční a koncový inkrementální tuhosti, jenž je definovaný sklonem deformačně-napěťové křivky v požadované oblasti. Pro každý směr byl vypočten medián, chybové úsečky v příslušných grafech obr. 6.4 představují maximální respektive minimální dosažené hodnoty.

6.2.6 Diskuze k výsledkům a limitace

V této předběžné studii byly vzorky prasečích aort vystaveny, ve třech časových odstupech, účinkům elastázy k postihnutí průběhu změn jejich mechanických vlastností. Z uskutečněných měření lze usuzovat, že vlivem degradace elastinu dochází k nárůstu délkových rozměrů vzorků v obvodovém i axiálním směru, zatímco tloušťka vzorků klesá.

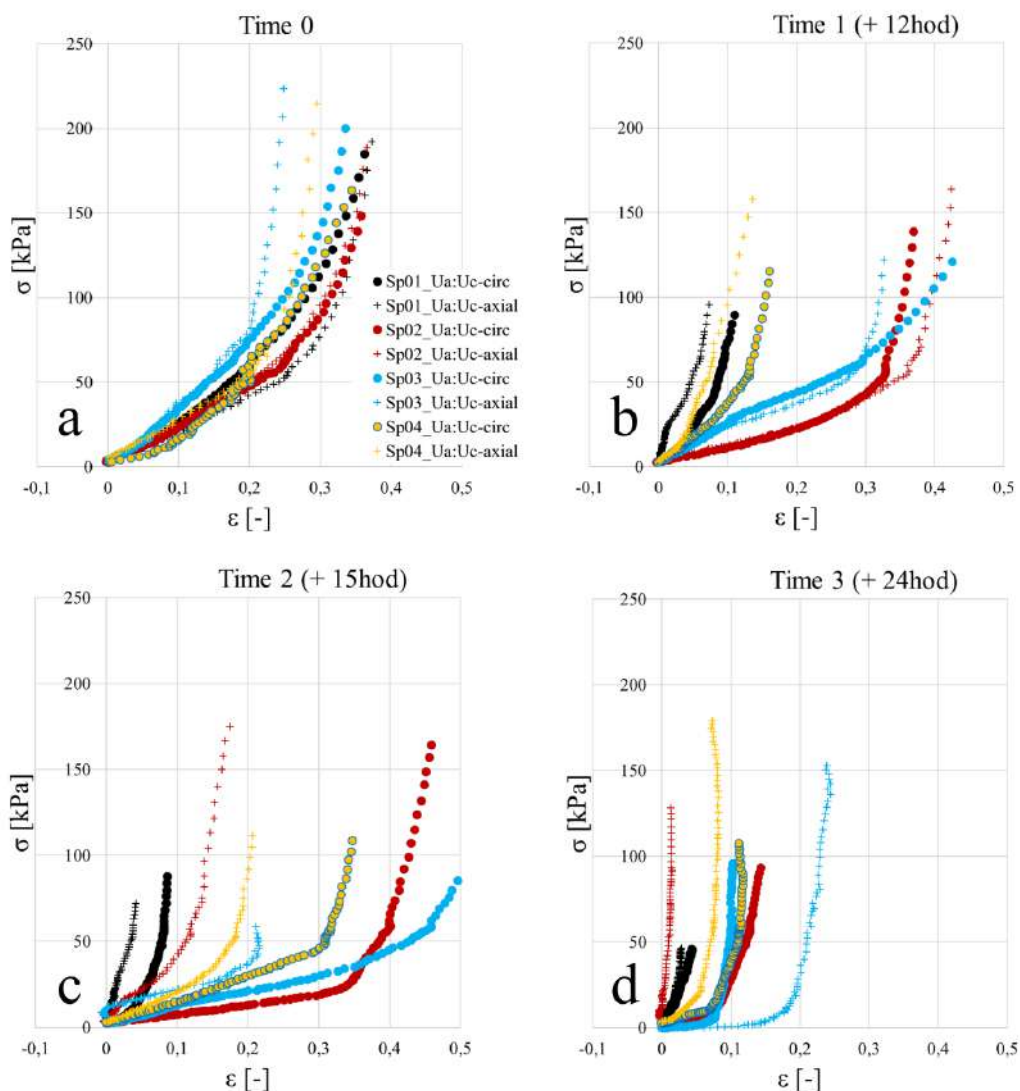
Počátečním nebo také referenčním stavem je označen čas Time 0. Průběhy deformačně-napěťových závislostí (obr. 6.3a) pokrývají v prostoru poměrně úzkou oblast, lze konstatovat, že všechny posuzované vzorky měly podobné mechanické vlastnosti v obou anatomických směrech, protože ani počáteční ani koncové inkrementální moduly se od sebe statisticky významně neliší. Ze statistického zpracování modulů tuhosti pro časy Time 1 a Time 2 vyplývá, že moduly jsou na sobě statisticky nezávislé.

Závěrečné testování bylo provedeno v čase Time 3 (+24hod) (obr. 6.3 d). Z deformačně-napěťových závislostí je poměrně jednoznačně zřejmé, že zkoumané vzorky mají podobné mechanické vlastnosti jako aneurysmatická tkáň, tedy nízkou

TABULKA 6.8: Průměrné hodnoty (\pm SD) délek hran vzorků v závislosti na době působení elastázy.

| | $L_0 \text{ circ}$ (mm) | $L_0 \text{ axial}$ (mm) |
|--------|-------------------------|--------------------------|
| Time 0 | 17,2 \pm 0,26 | 18,1 \pm 0,21 |
| Time 1 | 17,4 \pm 0,56 | 18,2 \pm 0,38 |
| Time 2 | 17,7 \pm 0,51 | 18,5 \pm 0,38 |
| Time 3 | 21,1 \pm 0,58 | 25,7 \pm 2,33 |

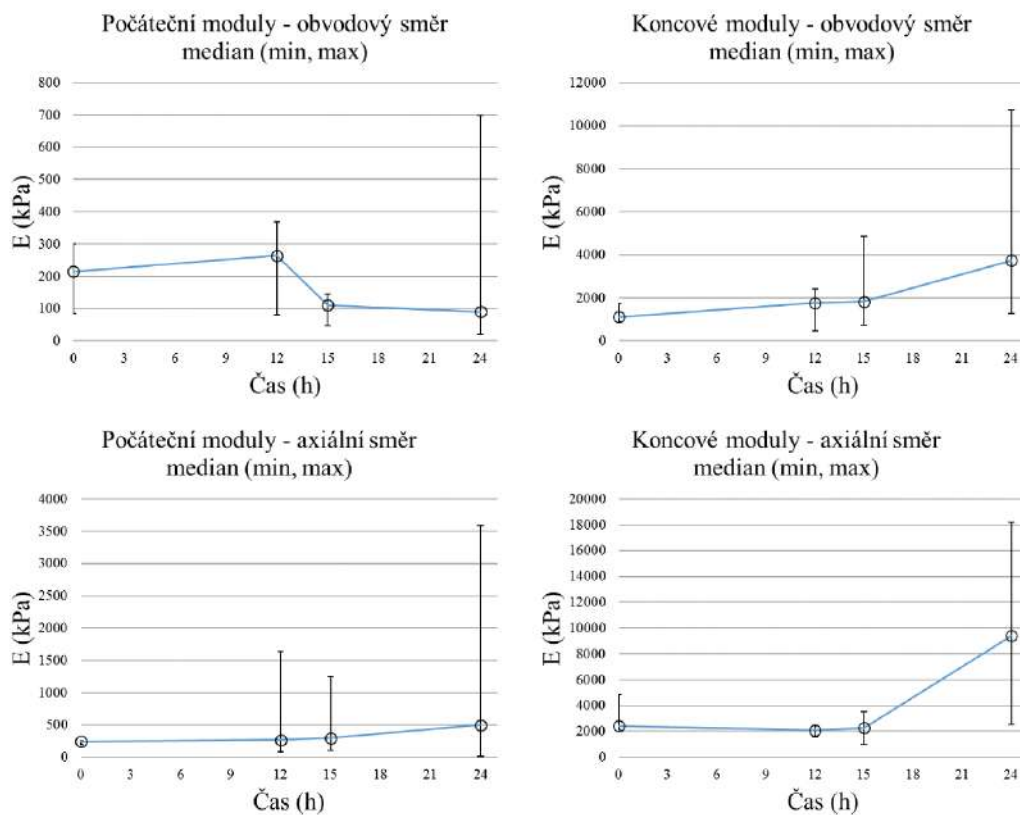
circ – obvodový směr, *axial* – axiální směr.



OBR. 6.3: Průběhy deformačně-napěťových závislostí v různých časových intervalech pro proporcionální testovací režim $u_c : u_a$.

počáteční tuhost, která s přibývajícím zatížením prudce narůstá, tedy výrazné deformační zpevnění což potvrzují i zjištěné počáteční a koncové moduly. Vysoké hodnoty počátečních modulů některých vzorků ukazují, že se kolagenní vlákna zapojují do přenosu zatížení významně již prakticky od nezatíženého stavu, zřejmě pozorované zvětšení rozměrů vzorku po degradaci elastinu postačuje k jejich částečnému napřímení. Tento rozdíl oproti tkáni AAA může být způsoben rychlou degradací elastinu, jejíž čas je nedostatečný pro tvorbu a remodelaci kolagenu.

Z průběhu provedeného experimentu bych zde rád uvedl několik poznatků. Co se týče otázky použitých markerů, (viz §6.2.4) se mi jeví jako nejvhodnější aplikace plastových markerů přímo na tkáň, jelikož si tento typ uchovával v celém průběhu testování jak svůj tvar i kontrast. Oproti počáteční domněnce nebylo



OBR. 6.4: Změny počátečních a koncových inkrementálních modulů v závislosti působení elastázy pro jednotlivé směry.

třeba v průběhu experimentu měnit pružiny ve svorkách za poddajnější. Ačkoliv se mi podařilo otestovat vzorky i po 24 hodinách, musím podotknout, že tyto výsledky považuji spíše za ilustrativní vzhledem k pozorovanému stavu tkáně. Po tomto čase totiž došlo k takovému „natrávení“ vzorku, že s ním jakákoliv manipulace byla velmi obtížná, což poměrně značně omezovalo přesné stanovení jak počátečních rozměrů, tak i nezatíženého stavu. Toho nebylo prakticky možno dosáhnout, jelikož i při nepatrném zatížení docházelo ke „roztékání“ vzorků. Na základě tohoto i naměřených veličin se domnívám, že za výše stanovených podmínek je potřebná doba expozice cca 18 hod. K potvrzení nebo vyvrácení tohoto předpokladu je samozřejmě potřeba jak dalšího experimentálního měření, tak i většího souboru zkoumaných vzorků.

Kapitola 7

Shrnutí a budoucí práce

7.1 Budoucí práce

Domnívám se, že jsem v této práci blíže specifikoval a ujasnil některé aspekty týkající se problematiky využití experimentů ke zlepšení úrovně konstitutivních modelů tkání AAA. Nicméně je ještě několik úkolů, které je potřeba dokončit. Ve světle tohoto jsem sestavil následující seznam možných úkolů, které by mohly dotvořit celkový obraz testování měkkých tkání AAA:

- i. Provést další sérii experimentálního měření mechanických vlastností ILT zejména na dvouosých vzorcích, doplněné výsledky z jednoosé tahové zkoušky a pokusit se tak jednoznačně specifikovat vztah mezi mechanickými vlastnostmi a vzdáleností od lumenu.
- ii. Uskutečnit rozsáhlejší studii vlivu elastázy na mechanickou odezvu stěny prasečí aorty, tedy navázat na úvodní studii uvedenou v této práci a stanovit potřebný čas a podmínky pro vytvoření tkáně podobné AAA.

7.2 Závěr

V této práci jsem shrnul své zkušenosti a poznatky v průběhu mého Ph.D. studia týkající se jak problematiky testování měkkých tkání, tak i konstitutivního modelování a stručného přehledu fyziologie a patologie stěny aorty. Během mého studia se mi podařilo vylepšit stávající experimentální zařízení a také upravit

metodiku testování měkkých tkání, včetně osvojení jejích specifik. Ať už se jednalo o vzorky prasečích aort a nebo díky spolupráci s FN u sv. Anny v Brně o vzorky lidských tkání AAA. Mimo samotné experimentální části jsem se také věnoval zahrnutí zjištěných poznatků do výpočtového modelování jak ideálních, tak i patient-specific modelů AAA.

Na tomto místě bych rád zmínil jednu limitaci této práce. Jak již bylo dříve zmíněno v textu, tak během elektivní operace AAA jsme získávali převážně aneurysmatickou stěnu a v některých případech také ILT. Na vzorcích stěny byly prováděny nejprve dvouosé tahové zkoušky, později se přidaly jednoosé tahové zkoušky. Ačkoliv metodika testování stěny AAA uvedená v §5.1.4 je takřka totožná s testováním prasečích aort, tak se mi doposud nepodařilo u stěny AAA dosáhnout podobné přesnosti–kvality fitu jako u prasečích aort nebo u ILT. Z tohoto důvodu nebyly výsledky z experimentálního měření stěny AAA v této práci šířeji prezentovány. Vysvětlením tohoto faktu může být anizotropní chování stěny AAA, ale také možná nepřesná detekce deformace vzorku např. důsledku šumu. Nicméně pro jednoznačné zodpovězení této otázky je zapotřebí dalšího měření a výzkumu vzorků stěny AAA. Čímž bych rozšířil stávající seznam budoucí práce §7.1.

I přes toto omezení věřím, že výsledky mé práce pomohou jak ke zlepšení experimentálního měření měkkých tkání, tak i úrovně konstitutivního modelování AAA.

Literatura

- Adolph, R., Vorp, D. A., Steed, D. L., Webster, M. W., Kameneva, M. V., & Watkins, S. C. (1997). Cellular content and permeability of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm. *J. Vasc. Surg.*, *25*, 916–926.
- Alexander, J. J. (2004). The pathobiology of aortic aneurysms. *J. Surg. Res.*, *117*, 163–175.
- Ashton, J. H., Vande Geest, J. P., Simon, B. R., & Haskett, D. G. (2009). Compressive mechanical properties of the intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysms and fibrin-based thrombus mimics. *J. Biomech.*, *42*, 197–201.
- Ayyalasomayajula, A., Vande Geest, J. P., & Simon, B. R. (2010). Porohyperelastic finite element modeling of abdominal aortic aneurysms. *J. Biomech. Eng.*, *132*, 104502.
- Baek, S., Valentín, A., & Humphrey, J. D. (2007). Biochemomechanics of cerebral vasospasm and its resolution: II. Constitutive relations and model simulations. *Ann. Biomed. Eng.*, *35*, 1498–1509.
- Bessa, K., Legendre, D., & Prakas, A. (2012). Biomechanical Factors Analysis in Aneurysm. In *Fluid Dyn. Comput. Model. Appl.* (pp. 493–512). InTech.
- Canham, P. B., Finlay, H. M., Dixon, J. G., Boughner, D. R., & Chen, A. (1989). Measurements from light and polarised light microscopy of human coronary arteries fixed at distending pressure. *Cardiovasc. Res.*, *23*, 973–982.
- Canham, P. B., Whittaker, P., Barwick, S. E., & Schwab, M. E. (1992). Effect of pressure on circumferential order of adventitial collagen in human brain arteries. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, *70*, 296–305.
- Carew, T. E., Vaishnav, R. N., & Patel, D. J. (1968). Compressibility of the Arterial Wall. *Circ. Res.*, *23*, 61–68.

- Carlisle, C. R., Coulais, C., & Guthold, M. (2010). The mechanical stress-strain properties of single electrospun collagen type I nanofibers. *Acta Biomater.*, *6*, 2997–3003.
- Choi, H. S., & Vito, R. P. (1990). Two-Dimensional Stress-Strain Relationship for Canine Pericardium. *J. Biomech. Eng.*, *112*, 153.
- Chow, M.-J., Mondonedo, J. R., Johnson, V. M., & Zhang, Y. (2013). Progressive structural and biomechanical changes in elastin degraded aorta. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, *12*, 361–372.
- Chow, M. J., Turcotte, R., Lin, C. P., & Zhang, Y. (2014). Arterial extracellular matrix: A mechanobiological study of the contributions and interactions of elastin and collagen. *Biophys. J.*, *106*, 2684–2692.
- Clark, J. M., & Glagov, S. (1985). Transmural organization of the arterial media. The lamellar unit revisited. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, *5*, 19–34.
- Cortes, D. H., Lake, S. P., Kadlowec, J. A., Soslowsky, L. J., & Elliott, D. M. (2010). Characterizing the mechanical contribution of fiber angular distribution in connective tissue: comparison of two modeling approaches. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, *9*, 651–658.
- Coutard, M., Touat, Z., Houard, X., Leclercq, A., & Michel, J. B. (2010). Thrombus versus wall biological activities in experimental aortic aneurysms. *J. Vasc. Res.*, *47*, 355–366.
- Delfino, A., Stergiopoulos, N., Moore, J. E., & Meister, J. J. (1997). Residual strain effects on the stress field in a thick wall finite element model of the human carotid bifurcation. *J. Biomech.*, *30*, 777–786.
- Demiray, H. (1981). Large Deformation Analysis of Some Soft Biological Tissues. *J. Biomech. Eng.*, *103*, 73.
- Di Martino, E., Mantero, S., Inzoli, F., Melissano, G., Astore, D., Chiesa, R., & Fumero, R. (1998). Biomechanics of abdominal aortic aneurysm in the presence of endoluminal thrombus: Experimental characterisation and structural static computational analysis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, *15*, 290–299.
- Dobrin, P. B. (1984). Elastolytic and Collagenolytic Studies of Arteries. *Arch. Surg.*, *119*, 405.
- Dobrin, P. B., Schwarcz, T. H., & Mrkvicka, R. (1990). Longitudinal retractive force in pressurized dog and human arteries. *J. Surg. Res.*, *48*, 116–120.

- Doyle, B. J., Callanan, A., Walsh, M. T., Grace, P. A., & McGloughlin, T. M. (2009). A Finite Element Analysis Rupture Index (FEARI) as an Additional Tool for Abdominal Aortic Aneurysm Rupture Prediction. *Vasc. Dis. Prev.*, *6*, 114–121.
- Fillinger, M. F., Marra, S. P., Raghavan, M. L., & Kennedy, F. E. (2003). Prediction of rupture risk in abdominal aortic aneurysm during observation: Wall stress versus diameter. *J. Vasc. Surg.*, *37*, 724–732.
- Fillinger, M. F., Raghavan, M. L., Marra, S. P., Cronenwett, J. L., & Kennedy, F. E. (2002). In vivo analysis of mechanical wall stress and abdominal aortic aneurysm rupture risk. *J. Vasc. Surg.*, *36*, 589–597.
- Finlay, H. M., McCullough, L., & Canham, P. B. (1995). Three-dimensional collagen organization of human brain arteries at different transmural pressures. *J. Vasc. Res.*, *32*, 301–312.
- Fratzl, P. (2008). *Collagen Structure and Mechanics*. New York: Springer.
- Fung, Y. C. (1991). What are the residual stresses doing in our blood vessels? *Ann. Biomed. Eng.*, *19*, 237–249.
- Fung, Y.-C. (1993). *Biomechanics*. New York, NY: Springer New York.
- Fung, Y. C., Fronek, K., & Patitucci, P. (1979). Pseudoelasticity of arteries and the choice of its mathematical expression. *Am J Physiol Hear. Circ Physiol*, *237*, H620–631.
- Gasser, T. C., Auer, M., Labruto, F., Swedenborg, J., & Roy, J. (2010a). Biomechanical rupture risk assessment of abdominal aortic aneurysms: Model complexity versus predictability of finite element simulations. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, *40*, 176–185.
- Gasser, T. C., Görgülü, G., Folkesson, M., & Swedenborg, J. (2008). Failure properties of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm under static and pulsating mechanical loads. *J. Vasc. Surg.*, *48*, 179–188.
- Gasser, T. C., Martufi, G., Auer, M., Folkesson, M., & Swedenborg, J. (2010b). Micromechanical characterization of intra-luminal thrombus tissue from abdominal aortic aneurysms. *Ann. Biomed. Eng.*, *38*, 371–379.
- Gasser, T. C., Ogden, R. W., & Holzapfel, G. A. (2006). Hyperelastic modelling of arterial layers with distributed collagen fibre orientations. *J. R. Soc. Interface*, *3*, 15–35.

- Gosline, J., Lillie, M., Carrington, E., Guerette, P., Ortlepp, C., & Savage, K. (2002). Elastic proteins: biological roles and mechanical properties. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, *357*, 121–132.
- Gundiah, N., B Ratcliffe, M., & A Pruitt, L. (2007). Determination of strain energy function for arterial elastin: Experiments using histology and mechanical tests. *J. Biomech.*, *40*, 586–594.
- Gundiah, N., Babu, A. R., & Pruitt, L. A. (2013). Effects of elastase and collagenase on the nonlinearity and anisotropy of porcine aorta. *Physiol. Meas.*, *34*, 1657–73.
- Hans, S. S., Jareunpoon, O., Balasubramaniam, M., & Zelenock, G. B. (2005). Size and location of thrombus in intact and ruptured abdominal aortic aneurysms. *J. Vasc. Surg.*, *41*, 584–588.
- Hinnen, J. W., Koning, O. H. J., Visser, M. J. T., & Van Bockel, H. J. (2005). Effect of intraluminal thrombus on pressure transmission in the abdominal aortic aneurysm. *J. Vasc. Surg.*, *42*, 1176–1182.
- Hinnen, J. W., Rixen, D. J., Koning, O. H. J., van Bockel, J. H., & Hamming, J. F. (2007). Development of fibrinous thrombus analogue for in-vitro abdominal aortic aneurysm studies. *J. Biomech.*, *40*, 289–295.
- Holzapfel, G. A., Gasser, T. C., & Ogden, R. W. (2000). A new constitutive framework for arterial wall mechanics and a comparative study of material models. *J. Elast.*, *61*, 1–48.
- Holzapfel, G. A., & Ogden, R. W. (2010). Constitutive modelling of arteries. *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.*, *466*, 1551–1597.
- Holzapfel, G. A., Sommer, G., Gasser, C. T., & Regitnig, P. (2005). Determination of layer-specific mechanical properties of human coronary arteries with nonatherosclerotic intimal thickening and related constitutive modeling. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, *289*, 2048–2058.
- Hu, J. J., Baek, S., & Humphrey, J. D. (2007). Stress-strain behavior of the passive basilar artery in normotension and hypertension. *J. Biomech.*, *40*, 2559–2563.
- Karšaj, I., & Humphrey, J. D. (2009). A mathematical model of evolving mechanical properties of intraluminal thrombus. *Biorheology*, *46*, 509–527.

- Kazi, M., Zhu, C., Roy, J., Paulsson-Berne, G., Hamsten, A., Swedenborg, J., Hedin, U., & Eriksson, P. (2005). Difference in matrix-degrading protease expression and activity between thrombus-free and thrombus-covered wall of abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, *25*, 1341–1346.
- Kent, K. C., Zwolak, R. M., Egorova, N. N., Riles, T. S., Manganaro, A., Moskowitz, A. J., Gelijns, A. C., & Greco, G. (2010). Analysis of risk factors for abdominal aortic aneurysm in a cohort of more than 3 million individuals. *J. Vasc. Surg.*, *52*, 539–548.
- Lanir, Y. (1983). Constitutive equations for fibrous connective tissues. *J. Biomech.*, *16*, 1–12.
- Lasheras, J. C. (2007). The Biomechanics of Arterial Aneurysms. *Annu. Rev. Fluid Mech.*, *39*, 293–319.
- Maier, A., Gee, M. W., Reeps, C., Eckstein, H. H., & Wall, W. A. (2010). Impact of calcifications on patient-specific wall stress analysis of abdominal aortic aneurysms. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, *9*, 511–521.
- Man, V., Polzer, S., & Bursa, J. (2016). Influence of mesh density on calculated extreme stresses in aortic aneurysms. *Applied and Computational Mechanics*, *10*, 97–110.
- Man, V., Polzer, S., Gasser, T. C., Novotny, T., & Bursa, J. (2018). Impact of isotropic constitutive descriptions on the predicted peak wall stress in abdominal aortic aneurysms. *Medical Engineering and Physics*, .
- Martufi, G., & Gasser, T. C. (2011). A constitutive model for vascular tissue that integrates fibril, fiber and continuum levels with application to the isotropic and passive properties of the infrarenal aorta. *J. Biomech.*, *44*, 2544–2550.
- Meyer, C. A., Guivier-Curien, C., & Moore, J. E. (2010). Trans-Thrombus Blood Pressure Effects in Abdominal Aortic Aneurysms. *J. Biomech. Eng.*, *132*, 071005.
- Mooney, M. (1940). A Theory of Large Elastic Deformation. *J. Appl. Phys.*, *11*, 582.
- Mower, W. R., Quinones, W. J., & Gambhir, S. S. (1997). Effect of intraluminal thrombus on abdominal aortic aneurysm wall stress. *J. Vasc. Surg.*, *26*, 602–608.
- Novak, K., Polzer, S., Tichy, M., & Bursa, J. (2015). Automatic Evaluation of Collagen Fiber Directions from Polarized Light Microscopy Images. *Microsc. Microanal.*, (pp. 1–13).

- O'Connell, M. K., Murthy, S., Phan, S., Xu, C., Buchanan, J., Spilker, R., Dalman, R. L., Zarins, C. K., Denk, W., & Taylor, C. A. (2008). The three-dimensional micro- and nanostructure of the aortic medial lamellar unit measured using 3D confocal and electron microscopy imaging. *Matrix Biol.*, *27*, 171–181.
- Ogden, R. W. (1972). Large Deformation Isotropic Elasticity - On the Correlation of Theory and Experiment for Incompressible Rubberlike Solids. *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.*, *326*, 565–584.
- O'Leary, S. A., Kavanagh, E. G., Grace, P. A., McGloughlin, T. M., & Doyle, B. J. (2014). The biaxial mechanical behaviour of abdominal aortic aneurysm intraluminal thrombus: Classification of morphology and the determination of layer and region specific properties. *J. Biomech.*, *47*, 1430–1437.
- Polzer, S. (2012b). *Deformačně napěťová analýza aortálních aneuryzmat*. Doctoral thesis Brno University of Technology.
- Polzer, S., Bursa, J., Gasser, T. C., Staffa, R., & Vlachovsky, R. (2013b). A numerical implementation to predict residual strains from the homogeneous stress hypothesis with application to abdominal aortic aneurysms. *Ann. Biomed. Eng.*, *41*, 1516–1527.
- Polzer, S., Christian Gasser, T., Bursa, J., Staffa, R., Vlachovsky, R., Man, V., & Skacel, P. (2013c). Importance of material model in wall stress prediction in abdominal aortic aneurysms. *Med. Eng. Phys.*, *35*, 1282–1289.
- Polzer, S., Gasser, C. T., Markert, B., Bursa, J., & Skacel, P. (2012a). Impact of poroelasticity of intraluminal thrombus on wall stress of abdominal aortic aneurysms. *Biomed. Eng. Online*, *11*, 62.
- Polzer, S., Gasser, T., Novak, K., Man, V., Tichy, M., Skacel, P., & Bursa, J. (2015). Structure-based constitutive model can accurately predict planar biaxial properties of aortic wall tissue. *Acta Biomater.*, *14*, 133–145.
- Polzer, S., Gasser, T. C., Forsell, C., Druckmüllerova, H., Tichy, M., Staffa, R., Vlachovsky, R., & Bursa, J. (2013a). Automatic Identification and Validation of Planar Collagen Organization in the Aorta Wall with Application to Abdominal Aortic Aneurysm. *Microsc. Microanal.*, *19*, 1395–1404.
- Raghavan, M. L., & Vorp, D. A. (2000). Toward a biomechanical tool to evaluate rupture potential of abdominal aortic aneurysm: Identification of a finite strain constitutive model and evaluation of its applicability. *J. Biomech.*, *33*, 475–482.

- Raghavan, M. L., Webster, M. W., & Vorp, D. A. (1996). Ex vivo biomechanical behavior of abdominal aortic aneurysm: Assessment using a new mathematical model.
- Reeps, C., Gee, M., Maier, A., Gurdan, M., Eckstein, H. H., & Wall, W. A. (2010). The impact of model assumptions on results of computational mechanics in abdominal aortic aneurysm. *J. Vasc. Surg.*, *51*, 679–688.
- Rezakhaniha, R., Aghianniotis, A., Schrauwen, J. T. C., Griffa, A., Sage, D., Bouten, C. V. C., van de Vosse, F. N., Unser, M., & Stergiopoulos, N. (2012). Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, *11*, 461–473.
- Rodríguez, J. F., Ruiz, C., Doblaré, M., & Holzapfel, G. A. (2008). Mechanical stresses in abdominal aortic aneurysms: influence of diameter, asymmetry, and material anisotropy. *J. Biomech. Eng.*, *130*, 021023.
- Ryan, E. A., Mockros, L. F., Weisel, J. W., & Lorand, L. (1999). Structural origins of fibrin clot rheology. *Biophys. J.*, *77*, 2813–2826.
- Sacks, M. S., & Chuong, C. J. (1998). Orthotropic Mechanical Properties of Chemically Treated Bovine Pericardium. *Ann. Biomed. Eng.*, *26*, 892–902.
- Sagan, A., Mrowiecki, W., Mikolajczyk, T. P., Urbanski, K., Siedlinski, M., Nosalski, R., Korbut, R., & Guzik, T. J. (2012). Local inflammation is associated with aortic thrombus formation in abdominal aortic aneurysms relationship to clinical risk factors. *Thromb. Haemost.*, *108*, 812–823.
- Sakalihasan, N., Limet, R., & Defawe, O. D. (2005). Abdominal aortic aneurysm. *Lancet*, *365*, 1577–1589.
- Schroeder, F., Polzer, S., Slažanský, M., Man, V., & Skácel, P. (2017). Predictive capabilities of various constitutive models for arterial tissue. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *78*, 369 – 380.
- Schurink, G. W., van Baalen, J. M., Visser, M. J., & van Bockel, J. H. (2000). Thrombus within an aortic aneurysm does not reduce pressure on the aneurysmal wall. *J. Vasc. Surg. Off. Publ. Soc. Vasc. Surg. [and] Int. Soc. Cardiovasc. Surgery, North Am. Chapter*, *31*, 501–506.
- Shapiro, S. D., Endicott, S. K., Province, M. A., Pierce, J. A., & Campbell, E. J. (1991). Marked longevity of human lung parenchymal elastic fibers deduced

- from prevalence of D-aspartate and nuclear weapons-related radiocarbon. *J. Clin. Invest.*, *87*, 1828–1834.
- Skacel, P., & Bursa, J. (2014). Comparison of constitutive models of arterial layers with distributed collagen fibre orientations. *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, *16*, 47–58.
- Skacel, P., & Bursa, J. (2015). Poisson's ratio of arterial wall - inconsistency of constitutive models with experimental data. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, .
- Slazansky, M., Polzer, S., Man, V., & Bursa, J. (2016). Analysis of Accuracy of Biaxial Tests Based on their Computational Simulations. *Strain*, *52*, 424–435.
- Speelman, L., Hellenthal, F. A., Pulinx, B., Bosboom, E. M. H., Breeuwer, M., van Sambeek, M. R., van de Vosse, F. N., Jacobs, M. J., Wodzig, W. K. W. H., & Schurink, G. W. H. (2010). The Influence of Wall Stress on AAA Growth and Biomarkers. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, *39*, 410–416.
- Swedenborg, J., & Eriksson, P. (2006). The intraluminal thrombus as a source of proteolytic activity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, *1085*, 133–138.
- Timmins, L. H., Wu, Q., Yeh, A. T., Moore, J. E., & Greenwald, S. E. (2010). Structural inhomogeneity and fiber orientation in the inner arterial media. *AJP Hear. Circ. Physiol.*, *298*, H1537–H1545.
- Tong, J. (2013). *Biomechanics of abdominal aortic aneurysm*. (Monographi ed.). Graz: TU Graz.
- Tong, J., Cohnert, T., Regitnig, P., & Holzapfel, G. A. (2011). Effects of age on the elastic properties of the intraluminal thrombus and the thrombus-covered wall in abdominal aortic aneurysms: Biaxial extension behaviour and material modelling. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, *42*, 207–219.
- Tong, J., Schriebl, A. J., Cohnert, T., & Holzapfel, G. A. (2013). Gender differences in biomechanical properties, thrombus age, mass fraction and clinical factors of abdominal aortic aneurysms. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, *45*, 364–372.
- Tremblay, D., Cartier, R., Mongrain, R., & Leask, R. L. (2010). Regional dependency of the vascular smooth muscle cell contribution to the mechanical properties of the pig ascending aortic tissue. *J. Biomech.*, *43*, 2448–2451.
- Vande Geest, J. P., Sacks, M. S., & Vorp, D. A. (2006a). A planar biaxial constitutive relation for the luminal layer of intra-luminal thrombus in abdominal aortic aneurysms. *J. Biomech.*, *39*, 2347–2354.

- Vande Geest, J. P., Sacks, M. S., & Vorp, D. A. (2006b). The effects of aneurysm on the biaxial mechanical behavior of human abdominal aorta. *J. Biomech.*, *39*, 1324–1334.
- Venkatasubramaniam, a. K., Fagan, M. J., Mehta, T., Mylankal, K. J., Ray, B., Kuhan, G., Chetter, I. C., & McCollum, P. T. (2004). A comparative study of aortic wall stress using finite element analysis for ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, *28*, 168–176.
- Veronda, D., & Westmann, R. (1970). Mechanical characterization of skin—Finite deformations. *J. Biomech.*, *3*, 111–124.
- Wagenseil, J. E., & Mecham, R. P. (2009). Vascular Extracellular Matrix and Arterial Mechanics. *Physiol. Rev.*, *89*, 957–989.
- Wang, D. H. J., Makaroun, M., Webster, M. W., & Vorp, D. A. (2001). Mechanical Properties and Microstructure of Intraluminal Thrombus From Abdominal Aortic Aneurysm. *J. Biomech. Eng.*, *123*, 536.
- Wang, D. H. J., Makaroun, M. S., Webster, M. W., & Vorp, D. A. (2002). Effect of intraluminal thrombus on wall stress in patient-specific models of abdominal aortic aneurysm. *J. Vasc. Surg. Off. Publ. Soc. Vasc. Surg. [and] Int. Soc. Cardiovasc. Surgery, North Am. Chapter*, *36*, 598–604.
- Weisbecker, H., Viertler, C., Pierce, D. M., & Holzapfel, G. A. (2013). The role of elastin and collagen in the softening behavior of the human thoracic aortic media. *J. Biomech.*, *46*, 1859–1865.
- White, J. V. (1994). Aneurysm formation in vivo by the topical degradation of adventitial elastin. *Journal of Vascular Surgery*, *20*, 153–156.
- Wilson, J. S., Virag, L., Di Achille, P., Karsaj, I., & Humphrey, J. D. (2013). Biochemomechanics of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysms. *J. Biomech. Eng.*, *135*, 021011.
- Yeoh, O. H. (1990). Characterization of Elastic Properties of Carbon-Black-Filled Rubber Vulcanizates. *Rubber Chem. Technol.*, *63*, 792–805.
- Zeinali-Davarani, S., Choi, J., & Baek, S. (2009). On parameter estimation for biaxial mechanical behavior of arteries. *J. Biomech.*, *42*, 524–530.