



**ČESKÉ
VYSOKÉ
UČENÍ
TECHNICKÉ
V PRAZE**

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky

**Materiálové vlastnosti kryoprezervovaných žil
při kvazistatickém zatěžování.**

**Material properties of quasi-statically loaded
cryopreserved veins**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2021

MICHAELA BENEŠOVÁ

Studijní program: Aplikované vědy ve strojním inženýrství

Studijní obor: Biomechanika

Vedoucí práce: Ing. Hynek Chlup, Ph.D.

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Benešová** Jméno: **Michaela** Osobní číslo: **466531**
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**
Zadávací katedra/ústav: **Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky**
Studijní program: **Aplikované vědy ve strojním inženýrství**
Specializace: **Biomechanika**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Materiálové vlastnosti kryoprezervovaných žil při kvazistatickém zatěžování.

Název diplomové práce anglicky:

Material properties of quasi-statically loaded cryopreserved veins.

Pokyny pro vypracování:

Vyložit metody a techniky kryoprezervace tkání a jejich možný vliv na změnu jejich vlastností
Seznámit se s teorií vaskulární mechaniky a metodami testování cév nebo cévních náhrad.
Zpracovat experimentální data získaná z kvazistatického inflačně-extenzního testu.
Analyzovat vliv kryoprezervace na mechanickou odezvu žil při kvazistatickém zatěžování.

Seznam doporučené literatury:

Špaček M, Měřička P, Janoušek L, Dalecká M, Benda A, Krs O, Slížová D, Špunda R, Hrubý J, Matia I, Honegrová B, Lindner J. Comparison of Different Thawing Protocols in Human Cryopreserved Venous Grafts. Ann Vasc Surg. 2020 Apr;64:347-354. doi: 10.1016/j.avsg.2019.11.026. Epub 2019 Nov 16. PMID: 31743787.
WANG, Zhijie, GOLOB, Mark J., CHESLER, Naomi C.. Viscoelastic Properties of Cardiovascular Tissues, Viscoelastic and Viscoplastic Materials. IntechOpen. 2016.
P.J.A. Oomen, M.A.J. van Kelle, C.W.J. Oomens, C.V.C. Bouten, S. Loerakker, Nondestructive mechanical characterization of developing biological tissues using inflation testing, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, Volume 74, 2017, Pages 438-447, ISSN 1751-6161, <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.07.009>.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

Ing. Hynek Chlup, Ph.D., odbor biomechaniky FS

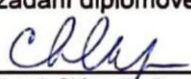
Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) diplomové práce:


MUDr. Rudolf Špunda, Ph.D., Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

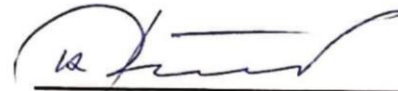
Datum zadání diplomové práce: **12.04.2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13.08.2021**

Platnost zadání diplomové práce:


Ing. Hynek Chlup, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) práce


doc. Ing. Miroslav Španiel, CSc.
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry


prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomantka bere na vědomí, že je povinna vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací.
Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

12.5.2021
Datum převzetí zadání


Podpis studentky

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci: „Materiálové vlastnosti kryoprezervovaných žil při kvazistatickém zatěžování “ vypracovala samostatně pod vedením Ing. Hynka Chlupa, Ph.D., s použitím seznamu literatury uvedeného na konci této práce.

V Praze dne 12.08.2021

.....

Michaela Benešová

PODĚKOVÁNÍ

Zde bych moc ráda poděkovala svému vedoucímu diplomové práce Ing. Hynku Chlupovi, Ph.D. za pomoc při vypracování diplomové práce, za cenné rady a za veškerý čas a konzultace, které mi při tvorbě této práce pomohly. Také bych chtěla moc poděkovat celé své rodině za podporu během celého studia.

ANOTAČNÍ LIST

Jméno autora:	Michaela Benešová
Název DP:	Materiálové vlastnosti kryoprezervovaných žil při kvazistatickém zatěžování.
Anglický název:	Material properties of quasi-statically loaded cryopreserved veins.
Akademický rok:	2020/2021
Ústav:	Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky
Vedoucí DP:	Ing. Hynek Chlup, Ph.D.
Konzultant:	MUDr. Rudolf Špunda, Ph.D.
Bibliografické údaje:	počet stran: 71 počet obrázků: 57 počet tabulek: 8
Klíčová slova:	žíly, materiálové vlastnosti, kryoprezervace, inflačně extenzní experiment
Key words:	veins, material properties, cryopreservation, inflation extension test
Abstrakt:	V této diplomové práci je popsána oběhová soustava, její nemoci a možné rekonstrukce cév. Také je zde popsána kryoprezervace cév. Jak se cévy kryoprezervují, jak se rozmrazují a jaké to má vlivy na biologickou tkáň. Druhá část je věnována inflačně extenznímu experimentu a zpracování dat z experimentu a následným porovnáním cév nativních a kryoprezervovaných.
Abstract:	This thesis describes the circulatory system, it's diseases and possible reconstruction of blood vessels. Also is here described a cryopreservation of blood vessels. How we can cryopreserve them, how they thaw, and what effects it has on biological tissue. The second part is devoted to the inflation extension experiment and the processing of data from the experiment and the subsequent comparison of native and cryopreserved vessels.

OBSAH

1. ÚVOD	9
2. CÍLE PRÁCE A MOTIVACE	10
3. VASKULÁRNÍ SYSTÉM ČLOVĚKA	11
1.1. Cévní onemocnění	14
1.2. Cévní náhrady	16
1.2.1. Biologické cévní náhrady	17
1.2.2. Umělé cévní náhrady:	17
4. KRYOPREZERVACE.....	19
4.1. Postupy a metody při kryoprezervaci cév	20
4.2. Příprava kryoprezervovaných vzorků k implantaci.....	22
4.3. Poškození během kryoprezervace.....	22
5. MECHANICKÉ VLASTNOSTI CÉV.....	24
5.1. Vliv kryoprezervace na mechanické vlastnosti	27
5.2. Typy testů.....	30
5.3. Konstitutivní modely pro popis.....	31
6. INFLAČNĚ EXTENZNÍ EXPERIMENT	33
6.1. Experimentální vzorky.....	33
6.2. Průběh experimentu	35
6.3. Zpracování experimentálních dat	37
7. VÝPOČET DEFORMACÍ, NAPJATOSTI A MATERIÁLOVÝCH PARAMETRŮ	39
7.1. Deformace.....	39
7.2. Napjatost.....	41
7.3. Popis kinematiky.....	43
7.3.1. Popis napjatosti.....	45
7.4. Materiálové parametry	48
8. VÝSLEDKY	48
8.1. Rozměrová analýza vzorků	48
8.2. Materiálové charakteristiky tlak deformace.....	51
8.3. Regresní analýza	54
9. DISKUZE.....	59
10. ZÁVĚR.....	62
11. ZDROJE	63
12. SEZNAM OBRÁZKŮ.....	66
13. SEZNAM TABULEK.....	69
14. PŘÍLOHY	70

Seznam použitého značení

Zkratky:

GOH	Gasser – Ogden - Holzapfel
HGO	Holzapfel – Gasser - Ogden
ROI	region of interest
VSM	vena saphena magna

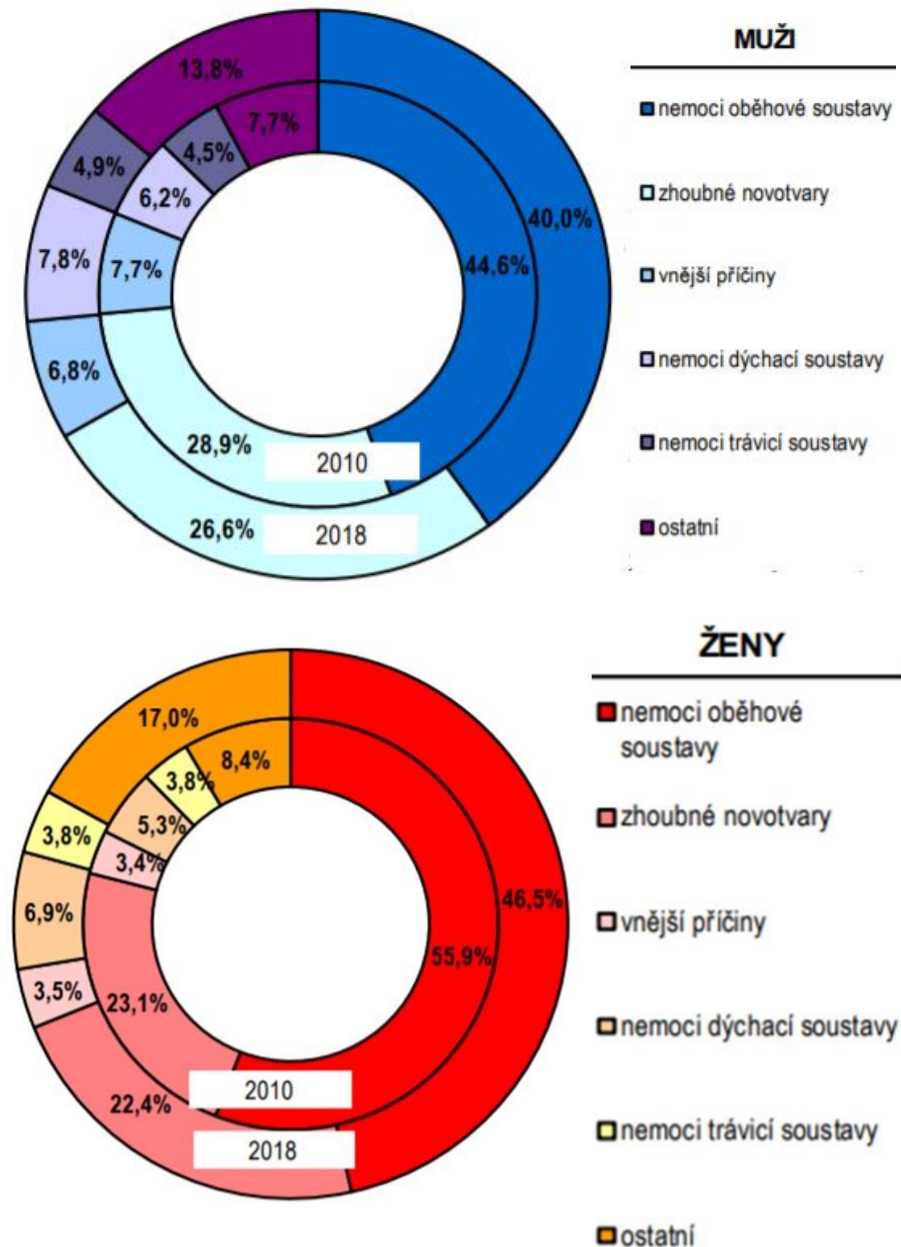
Symboly:

\mathbf{b}	levý Cauchy – Greenův tenzor
\mathbf{C}	pravý Cauchy - Greenův tenzor
\mathbf{E}_i	bázový vektor v referenční konfiguraci
\mathbf{e}_i	bázový vektor v zdeformované konfiguraci
\mathbf{F}	deformační gradient
I_1	první invariant Cauchy – Greenova tenzoru
I_4	invariant popisující anizotropii
I_6	invariant popisující anizotropii
k_1	materiálový parametr
k_2	materiálový parametr
\mathbf{P}	smluvní napětí (Piolovo – Kirchhoffovo)
p	tlak
p^{mod}	predikovaný tlak
p^{exp}	tlak získaný z experimentu
Q	objektivní cílová funkce
R	poloměr v referenční konfiguraci
\mathbf{R}	tenzor vlastní rotace
R_i	vnitřní poloměr v referenční konfiguraci
R_o	vnější poloměr v referenční konfiguraci
r	poloměr v zdeformované konfiguraci

r_i	vnitřní poloměr v zdeformované konfiguraci
r_o	vnější poloměr v zdeformované konfiguraci
\mathbf{U}	pravý tenzor strečů
\mathbf{v}	levý tenzor strečů
W	hustota deformační energie
w_P	váhový koeficient tlaku
w_F	váhový koeficient síly
\mathbf{X}	polohový vektor v referenční konfiguraci
\mathbf{x}	polohový vektor v zdeformované konfiguraci
κ	materiálový parametr charakterizující disperzi vláken
λ	streč
λ_{rr}	radiální streč
$\lambda_{\theta\theta}$	obvodový streč
λ_{zz}	axiální streč
μ	materiálový parametr
$\boldsymbol{\sigma}$	Cauchyho tenzor napětí

1. ÚVOD

Mezi nejčastější příčinu úmrtí v České republice u žen i u mužů patří nemoci oběhové soustavy. Nemoci oběhové soustavy mají za následek 40% veškerých úmrtí u mužů a 47% u žen viz. Obrázek 1 [36].



Obrázek 1: Porovnání příčin úmrtí, upraveno z [36].

Cévní stěna je nejčastěji postižena aterosklerózou. Při tomto onemocnění se ukládají postupně tukové látky do stěny cévy a to může mít za následek její ucpání. Také může dojít k infarktu myokardu nebo k cévní mozkové příhodě [12]. Toto je možné řešit nejprve podáváním farmak. Pokud léky nezaberou nebo je onemocnění hodně rozsáhlé je třeba udělat resekci poškozeného úseku a tento úsek následně nahradit nebo využít bypass. Nahradit poškozený úsek je možné štěpem nebo cévní náhradou.

Cévní alotransplantace jsou prováděny napříč celým světem. Použit lze buď čerstvý nebo kryoprezervovaný štěp. Štěpy pro transplantaci se odebírají v rámci multiorgánového odběru. Infekce transplantovaného čerstvého štěpu je jednou z nejobávanějších komplikací s celkovou mírou úmrtnosti 9 % – 28 % a ke ztrátě končetiny dochází v 10 % až 20 %. Jako vhodná alternativa se ukázaly kryoprezervované štěpy, které by mohly zajistit lepší odolnost vůči infekcím a mohlo by se zamezit odmítnutí tělem pacienta [37]. Od roku 2011 se v České republice začaly pro transplantaci využívat kryoprezervované štěpy. V roce 2015 došlo téměř k vyrovnání používání štěpů čerstvých a štěpů kryoprezervovaných viz. Obrázek 10 [13].

Je třeba zkoumat biomechanické vlastnosti kryoprezervovaných štěpů, protože nesoulad mezi cévou a štěpem může snížit průchodnost štěpu a urychlit vývoj dalšího onemocnění [30].

2. CÍLE PRÁCE A MOTIVACE

Cílem práce je analyzovat vliv kryoprezervace cévních štěpů na jejich mechanické vlastnosti. Mechanické vlastnosti jsou porovnávány z inflačně extenzních testů tzn. zatěžování vzorků cévy vnitřním tlakem. Také byl zkoumán vliv rychlosti rozmrazení dle standardního protokolu 120 minut a rychlého 5 minut. Kryoprezervované štěpy byly porovnávány s nativními štěpy *VSM*.

Motivací je zpřesnění a porovnání výsledků a také, že v posledních 5 letech narůstá uplatnění kryoprezervovaných cévních štěpů v cévní chirurgii o tom svědčí i výsledky prezentované v publikaci [14] viz. Obrázek 10. Bylo by žádoucí aby mechanické vlastnosti implantovaných kryoprezervovaných cév měly velmi podobnou mechanickou odezvu jako cévy nativní.

Tato diplomová práce volně navazuje na bakalářskou práci [6], v této práci byly použity stejné vzorky a byly uvažovány za tenkostěnné válcové skořepiny. V mé práci jsou vzorky uvažovány jako silnostěnné válcové nádoby kruhového průřezu. Otázkou je zda tento přístup může nějakým způsobem ovlivnit získané výsledky.

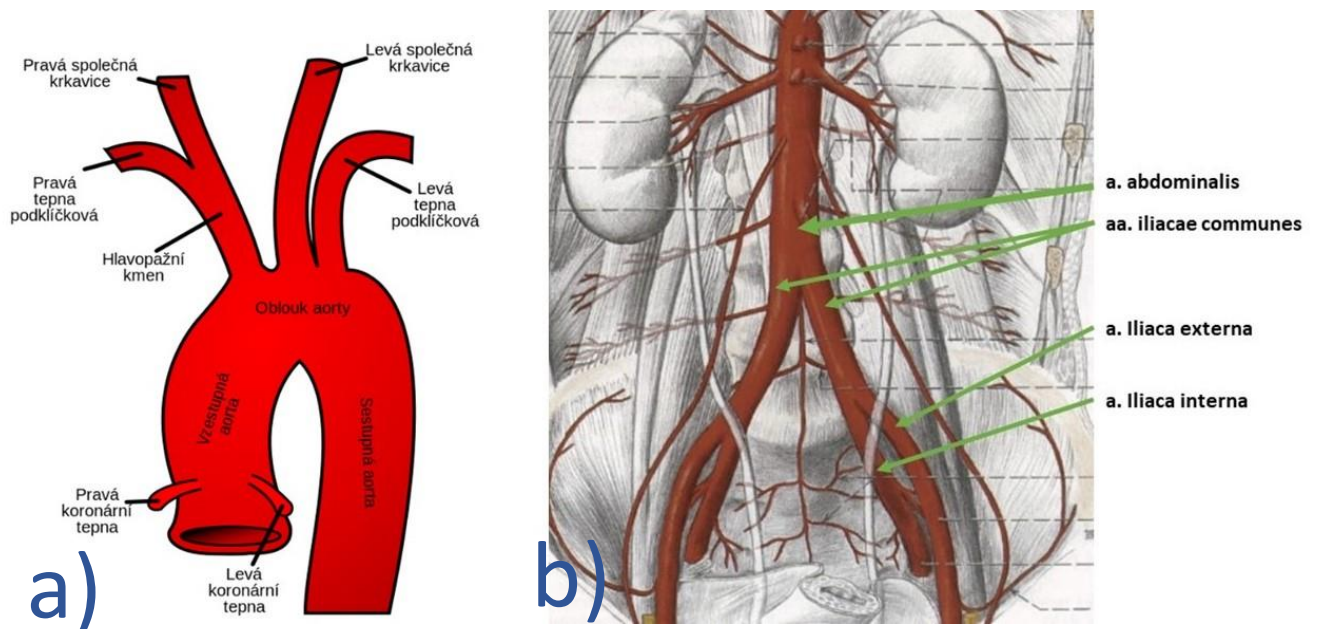
S využitím matematického modelu budou obdrženy reprezentativní mechanické odezvy pro každou skupinu vzorků.

3. VASKULÁRNÍ SYSTÉM ČLOVĚKA

Kardiovaskulární soustava obsahuje srdce, krevní cévy a krev, mízní cévy a mízu [1]. Ústředním orgánem je srdce – latinsky *cor*, které svými pravidelnými stahy pohání krev v cévách. Tepny – latinsky *arteriae*, rozvádí krev ze srdce a dál se větví na tenčí tepny a přechází až v tenkostěnné tepénky: vlasečnice (kapiláry) – latinsky *arteriolae*, které tvoří konečné sítě cév do kterých se tepny rozvětví. Kapiláry přecházejí v žíly – latinsky *venae*, které vedou krev zpět do srdce [2]. Při začátku srdeční systoly je krev vržena z komor do cév a vzniká tlaková vlna, kterou my vnímáme jako tep. Tep se šíří rychlostí 5-8 m/s což je větší rychlost než rychlost proudění krve v aortě, která je asi 18 cm/s [3].

Tepny:

Tepny rozvádějí okysličenou krev směrem ze srdce. Z Obrázku 2 je patrné, že tepny vystupují z aorty, která je největší tepnou v lidském těle [1].



Obrázek 2: Schéma anatomie hrudní aorty s navazujícími tepnami, a) horní část aorty, b) břišní část aorty a bifurkace, upraveno z [2] [7].

Aorta neboli srdečnice se skládá ze čtyř částí: vzestupná část aorty, oblouk aorty, hrudní část aorty a břišní část aorty [1].

Vzestupná část aorty – (*aorta ascendens*) Z této části vycházejí dvě věnčité tepny. Pravá koronární tepna a levá koronární tepna, které zásobují krví srdce [1].

Oblouk aorty – (*arcus aortae*) Z oblouku aorty vycházejí tepny zásobující krk, hlavu a horní končetiny. Jsou to: hlavopážní tepna, pravá společná krkavice a pravá podklíčková tepna [1].

Hrudní část aorty – (*aorta thoracica*) Z hrudní části aorty vystupují tepny, které zásobují hrudní stěnu, jícen, osrdečník, mezihrudí, část hrudní plochy bránice a větší průdušky [1].

Břišní část aorty – (*aorta abdominalis*) První vystupuje pravá a levá ledvinová tepna a poté pravá a levá tepna varlat což nalezneme u muže, kdežto u ženy je to pravá a levá vaječnicková

tepna a nakonec tři páry nadledvinových tepen [1]. *Aorta abdominalis* se dál vidlicovitě dělí na dvě *aa. iliacaе communes*, která bývá též označována jako bifurkace a ta se na obou stranách rozděluje na dvě *a. iliaca interna* a na *a. iliaca externa*. Pokračováním *a. iliaca externa* je *aorta femoralis* což je stehenní tepna [2]. Pro kryoprezervaci se nejčastěji odebírá právě bifurkace od renálních arterií až po *a. femoralis* a jednostranné tepny od *a. iliaca externa* až k *a. poplitea* [13].

Na Obrázku 4 můžeme vidět stavbu cévní stěny. Cévní stěna je silná, pevná a pružná a tvoří ji tři vrstvy [3]:

Intima:

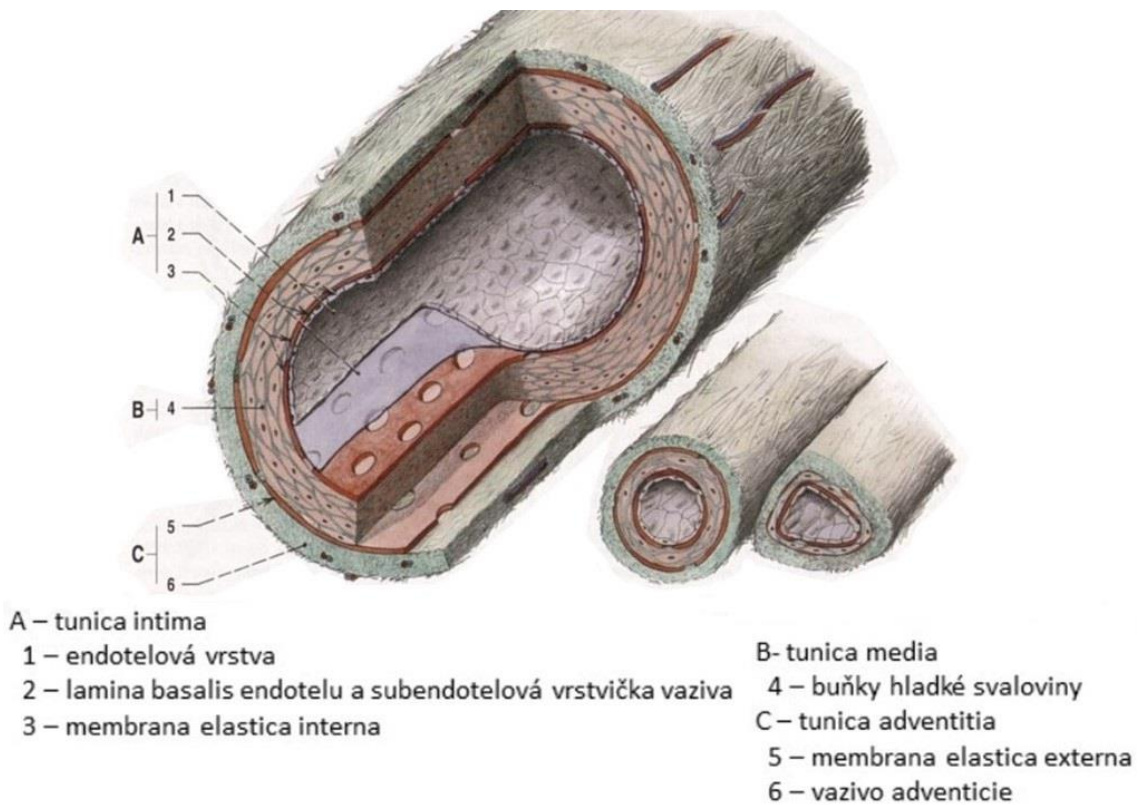
Vnitřní vrstva, tvořena plochými endotelovými buňkami. Tyto buňky kryjí vnitřní povrch cévy a jsou položeny na svazcích elastických a kolagenních vláken, které tvoří vnitřní elastickou membránu [4]. Endotel vytvoří hladký vnitřní povrch, který snižuje tření krve při proudění [3]. Tato vrstva má zejména komunikační funkci [4].

Media:

Je nejsilnější vrstva cévní stěny. Je složena z hladké svaloviny a ze sítě kolagenních a elastických vláken. Podle toho, zda v tepně převažuje elastická nebo svalová složka dělíme tepny na dva typy: tepny svalového typu a tepny elastického typu [2]. V blízkosti srdce najdeme tepny elastického typu, mezi ně patří například : srdečnice – aorta a její větve krkavice (*aa. carotides*), kyčelní tepny (*aa. Iliacae*). Tyto tepny jsou velice pružné a dokáží rychle transportovat krev do periferie. Díky velkému obsahu elastických vláken je tlumen přenos vln při nárazech krevního sloupce během rytmických kontrakcí srdce. Díky převaze elastické složky jsou tyto tepny roztažitelné a tím pádem dokáží pojmout velké množství krve, která je poté vypuzena do periferie a tím je zajištěn nepřerušovaný a rovnoměrný tok. Tepny svalového typu najdeme dále od srdce. Jejich úkolem je zásobovat jednotlivé orgány nebo části orgánů krví. Aktivně mění průměr a díky tomu dochází k regulaci množství protékající krve a rychlosti krevního toku [3]. Funkce střední vrstvy je mechanická. Část mechanické energie od toku krve se uloží ve formě deformační energie stěny nebo se deformují rozměry průřezu tepny k regulování průtoku [4].

Adventitia:

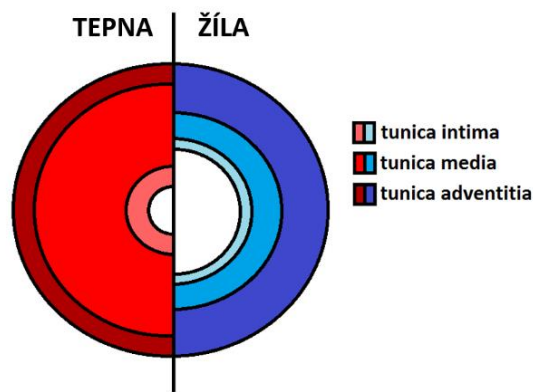
Vnější vrstva, kterou tvoří řídké fibrilární vazivo obsahující podélně orientovaná kolagenní a elastická vlákna. Přes ní prochází nervová vlákna a drobné tepénky, jejichž funkcí je zásobovat svalovinu cév, poté také drobné žíly a mízní cévy. Funkcí vnější vrstvy je chránit cévu a zesilovat její stěnu [3].



Obrázek 3: Stavba cévní stěny, upraveno z [2].

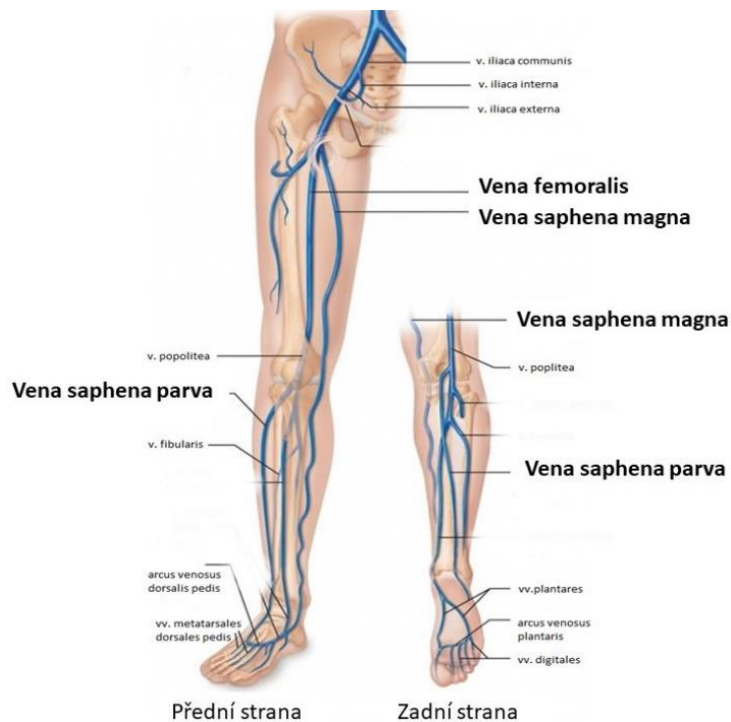
Žíly:

Stavba žil je jako u tepen třívrstevná. *Intima* má téměř stejnou stavbu u žil jako u tepen, ale značné rozdíly můžeme pozorovat ve střední vrstvě *media*. U žil je *media* slabší což nám ukazuje Obrázek 5 a obsahuje malé množství svalových buněk. Téměř všechny žíly obsahují více hladké svaloviny, která je orientovaná podélně, než svaloviny, která je orientovaná cirkulárně. Vnější vrstva *adventitia* obsahuje hladkou svalovinu uspořádanou longitudinálně[8]. Úkolem žil je přivádět odkysličenou krev do srdce. Čtyři plicní žíly vedou krev okysličenou z plic do srdce. Tlak uvnitř žil je nižší než v tepnách, klesá směrem k srdci (5-20 mm Hg) a díky tomu, že žíly nemusí čelit vysokému tlaku je jejich stěna tenčí. Žilní řečiště obsahuje 65% celkového množství krve, jejíž proudění je pomalé. Během pitvy najdeme žíly zkolabované a naplněné krví, kdežto tepny si zachovávají svůj mezikruhový průřez [3]. Pro žíly jsou charakteristické žilní chlopně – *vulvae venosae*, jsou to výběžky intimy kryté endotelem vyztužené vazivem. Tyto chlopně zlepšují pohyb krve k srdci a zamezují zpětnému toku krve v žilách [2].



Obrázek 4: Schématické znázornění porovnání tloušťky stěn u tepny a u žíly [5].

Mezi nejčastěji odebírané žíly pro kryoprezervaci patří *vena saphena*, *vena cava inferior* (dolní dutá žíla) – tato žíla se nachází podél aorty břišní a nemá chlopně a bifurkace *vena iliaca* [13], kde se jednotlivé žíly nacházejí nám ukazuje Obrázek 6.



Obrázek 5: Žíly dolní končetiny, upraveno z [20].

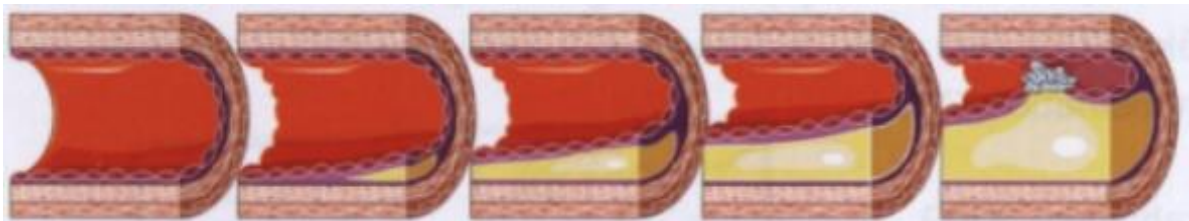
1.1. Cévní onemocnění

Mezi nejčastější onemocnění postihující cévní soustavu patří například: ateroskleróza, arterioskleróza, aneurysma, hypertenze, hypotenze a disekce. Dále se budu věnovat pouze dvěma onemocněním, při kterých se nejvíce uplatňují cévní náhrady a kryoprezervované cévní štěpy a to je:

Ateroskleróza:

Dle Obrázku 7 můžeme vidět, že při tomto onemocnění se postupně ukládají tukové látky do stěny tepny. Během tohoto procesu se průsvit tepen pomalu a postupně zužuje. Ateroskleróza

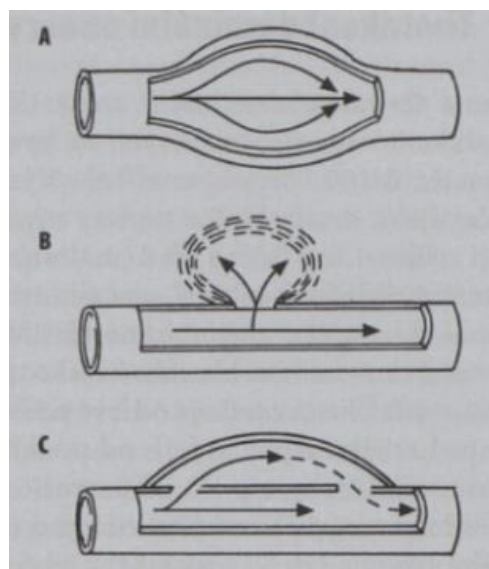
postihuje také tepny, které zásobují orgány pro život nezbytné což jsou srdce, mozek, ledviny a také končetiny. Proces během kterého se ukládají tukové látky do stěny tepny je nebolestivý a proto se také včas nezjistí. Vyvrcholením tohoto procesu je náhlý uzávěr postižené tepny což vede například k infarktu myokardu nebo k cévní mozkové příhodě. Mezi rizikové faktory patří vyšší hladina cholesterolu v krvi, cukrovka, vyšší krevní tlak, kouření, obezita a stres. Zdravým životním stylem lze tomuto onemocnění předejít [9].



Obrázek 6: Časový průběh aterosklerózy [9].

Výduť (aneurysma):

Aneurysma neboli výduť je cévní onemocnění při kterém je tepna neobvykle rozšířená. Tím dochází ke vzniku rizika, že dojde k natržení tepny nebo k jejímu prasknutí. Rozlišujeme pravé aneurysma, ke kterému často dochází kvůli degenerativním změnám v tepenné stěně přičítaným ateroskleróze. Poté nepravé aneurysma, kde stěnu výdutě tvoří vrstvy tepenné stěny. Původ nepravého aneurysmatu je traumatický nebo pooperační. Dalším typem je disekující aneurysma, kdy dojde k natržení intimy a poté proniká krev mezi jednotlivé vrstvy tepenné stěny. Všechny druhy aneurysmatu jsou znázorněny na Obrázku 7 [10].



Obrázek 7: Schématické znázornění aneurysmat: A - pravé aneurysma, B - nepravé aneurysma, C - disekující aneurysma [10].

Nemoci oběhové soustavy je možné léčit. Buďto konzervativním přístupem nebo chirurgickou léčbou. Do konzervativní léčby patří na prvním místě omezení rizikových faktorů. Například začít léčit hypertenzi, zákaz kouření. Také sem můžeme zařadit podávání farmak [11]. Pokud

je nemoc příliš rozvinutá musí se přistoupit k chirurgické léčbě. Nejčastějším postupem je rozšíření zúžené cévy pomocí angioplastiky a nebo se poškozený úsek nahradí cévní náhradou [12].

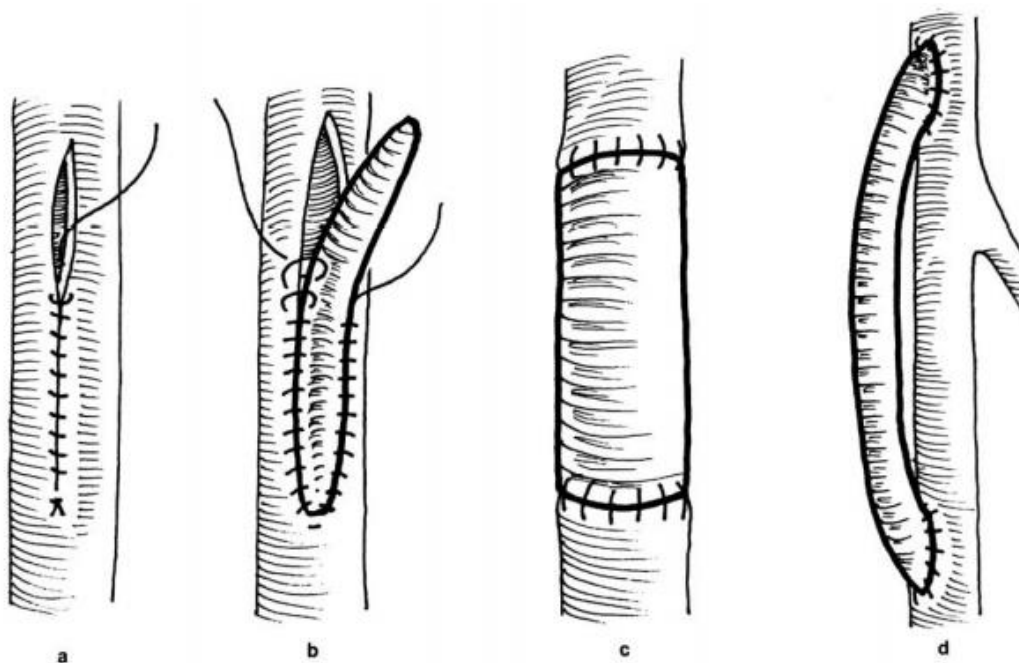
Angioplastika:

Cílem této metody je rozšíření průměru poškozené cévy i společně s aterosklerotickým plátem. Cílem je také se co nejvíce přiblížit průměru zdravé cévy. Angioplastika se provádí tak, že se zavede vodič do cévy, po kterém zavádíme roztažitelný balonkový katétr. Poté se balónek nafoukne a dojde k dilataci tepny [12].

Od 80. let se též využívají stenty. Ty dělíme na plastické (balon – expandibilní) a elastické (samo – expandibilní). Stenty plastické se vyrábějí z chirurgické oceli a je u nich větší radiální síla, která nám definuje možnost lépe přilnout ke stěně cévy a také mají větší kruhovou pevnost. To znamená, že lépe vzdorují zevní kompresi. Hlavní předností elastických stentů je jejich elasticita. Průměr stentu je doporučeno volit větší, než je průměr cévy, aby stent dobře přilehl na cévní stěnu a docházelo k tvorbě tlaku na stěnu [12].

1.2. Cévní náhrady

Poškozený úsek můžeme nahradit v plném rozsahu cévní náhradou nebo vytvořit bypass což je obejití, přemostění. Za cévní náhradu označujeme každý samostatný útvar, implantovaný do cévního systému, který má za cíl obnovení jeho souvislosti a funkce [12]. Základní typy rekonstrukcí můžeme vidět na Obrázku 8.



Obrázek 8: Základní typy rekonstrukcí, a - arteriotomie prostá, b - arteriotomie se záplatou, c - přímá náhrada, d - bypass [12].

Cévní náhrady je možné rozdělit na biologické a umělé. Mezi biologické patří autotransplantáty - to je cévní náhrada odebraná a implantovaná téže osobě, alotransplantáty – cévní náhrada vyjmuta z jedné osoby a implantovaná na jinou a xenotransplantáty – cévní

náhrada odebraná z jednoho pacienta či organismu a implantovaná jinému pacientovi či organismu jiného biologického druhu [12].

1.2.1. Biologické cévní náhrady

Tepenné autotransplantáty:

Autotransplantáty neboli alogenní štěpy se mohou zdát jako dokonalé náhrady. Její schopností je, že dokáže nahradit původní úsek bez jakýchkoliv dalších problémů. Autotransplantát se po správném odběru a následné implantaci dokáže chovat stejně jako původní tepna, ale jsou zde i nevýhody. Ta největší je možnost odebrání. Důležité větší tepny jsou pro zásobování orgánů nezbytně nutné a proto je nemůžeme odebrat. Pokud je důvodem rekonstrukce ateroskleróza taktéž nepůjde odběr provést, jelikož ateroskleróza je onemocnění celého cévního systému. Tím pádem by odebraná tkáň měla také sklony ke vzniku aterosklerotických plátů [12].

Žilní autotransplantáty:

Nejužívanější žílou je *vena saphena magna* nebo *vena saphena parva*. Hlavně díky své poloze, ke které je dobrý přístup. Odebraná žíla se musí dobře zkontrolovat, aby neměla nějaký defekt nebo neobsahovala posttrombotickou změnu. Výhodou žilního autotransplantátu je vysoká roztažitelnost. Další výhodou je to, že žilní autotransplantát je vysoce odolný proti infekci [12].

Tepenné alotransplantáty:

Další možností rekonstrukce je využít cévní náhradu od jiného pacienta. Při tomto postupu je pacient odkázán na dlouhodobou nebo dokonce trvalou imunosupresivní léčbu. Tato náhrada se získává při multiorgánovém odběru. Od roku 1911 se štěpy uchovávají při teplotě 1-4°C současně jsou přidány antibiotika a heparin a možnost jejich užití je do třiceti dnů. Také se mohou skladovat při daleko nižších teplotách, kdy se štěp zchladí na teplotu v rozmezí -110°C až -196°C pomocí tekutého dusíku [12].

Žilní alotransplantáty:

Při rekonstrukci se využívají hlavně žilní alotransplantáty, které jsou zmrazené. Čerstvé se téměř k rekonstrukci neuvžívají. Po implantování se zhoršují mechanické a biologické vlastnosti. Často dochází k výduti nebo k trombóze [12].

Xenotransplantáty:

Cévní xenotransplantáty jsou náhrady z jiného živočišného druhu. Jejich použití je omezené, protože cévy mají jinou velikost a také jsou odmítány tělem pacienta. Postupně dochází k jejich zániku. Byly pokusy s použitím aort králíků, koček a prasat a také tepen hovězího původu. Všechny štěpy se ale v každém případě buďto uzavřely nebo praskly [12].

1.2.2. Umělé cévní náhrady:

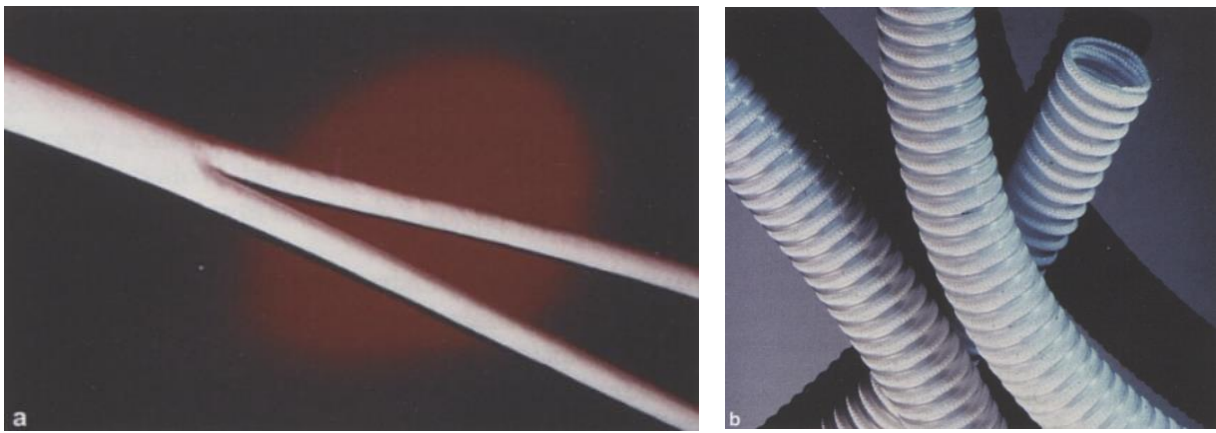
Umělé cévní protézy se vyrábí třemi hlavními způsoby – tkaním, pletením nebo litím. Jejich vlastnosti se odvíjí od výběru materiálu ze kterého jsou zhotoveny a od způsobu výroby. Při výrobě je snaha se co nejvíce přiblížit vlastnostem zdravé tepny [12]. Problémem je pokud potřebujeme nahradit cévu malého průměru (méně než 6 mm). Tyto náhrady se nevyrábějí jelikož u takto malých průměrů dochází často k trombóze [18].

Tkané cévní náhrady:

Tkané cévní náhrady mají omezenou porézní strukturu, proto se musí nejprve předsrážet v krvi pacienta předtím než dojde k její implantaci [18]. Tento způsob výroby má značnou výhodu v tom, že je možné provést hustý úplet a tím pádem nedochází ke krvácení stěnou [12]. Mezi nevýhody patří malá tažnost a ohebnost [18] a také, že při šikmém přestřižení se náhrada třepí [12]. Náhrady se vyrábí převážně z teflonových vláken [12].

Pletené cévní náhrady:

O pletené cévní náhradě můžeme říci, že je více pružná a více porézní [18]. Také se musí předsrážet v krvi pacienta, aby se prozatím zrušila porozita stěny. Nejčastěji se tyto náhrady vyrábí z polyesterových vláken [12]. Pletenou protézu můžeme vidět na Obrázku 9.



Obrázek 9: Pletené polyesterové protézy [12].

Lité cévní náhrady:

Tyto náhrady jsou vyrobeny z PTFE materiálu, který se vyrábí lisováním do připravené formy. Hotová náhrada je mikroporézní a má houbovitou strukturu. Náhrada musí být upravena, pokud by k úpravě nedošlo hrozí riziko krvácení [12].

Materiály umělých náhrad:

Více než 50 let se pro výrobu používají dva polymery 1) polyethyltereftalát (PET), terylen nebo dacron a 2) polytetrafluorethylen (PTFE), teflon nebo Gore-Tex. PET/Dacron (polyethyltereftalát) byl poprvé použit v Anglii v roce 1939 a poté se dále rozvíjel a v roce 1950 byl patentován jako Dacron značkou DuPont. Porozita je vyšší, pokud je Dacron pletený. Ten se poté impregnuje albuminem, kolagenem nebo želatinou. Bylo zjištěno, že impregnace kolagenem zbrzdila hojení a zvýšila ukládání trombocytů[19]. Dacronové vlákno je pevné a hydrofobní. Další výhodou je vysoká odolnost proti kyselinám a zásadám a také je vlákno odolné vůči tělním tekutinám a není karcinogenní [12]. PTFE (polytetrafluorethylen) byl patentován v roce 1939 také společností DuPont jako teflon a ePTFE byl patentován společností Gore jako GORE-TEX v roce 1969. Molekula je biologicky stabilní, což znamená, že je méně náchylná ke zhoršení svých vlastností v biologickém prostředí. Povrch štěpu je elektronegativní a díky tomu se minimalizuje jeho reakce s krevními složkami [19]. Teflonová

vlákna dosahují vysoké pevnosti a jsou odolná proti tření a stejně jako Dacron nejsou karcinogenní [12].

Do další skupiny patří polyurethany (PU), což jsou elastické polymery. Prvotně byly polyurethany vyvinuty v Německu ve 30. letech a v roce 1962 byly patentovány opět společností DuPont. Obecně jsou to kopolymery obsahující rozdílné monomery: krystalické (tvrdé) a amorfni (měkké) [19]. Jelikož jejich vlastnosti jsou nestabilní, nevyužívají se k výrobě náhrad, ale mohou být součástí náhrad kombinovaných [12].

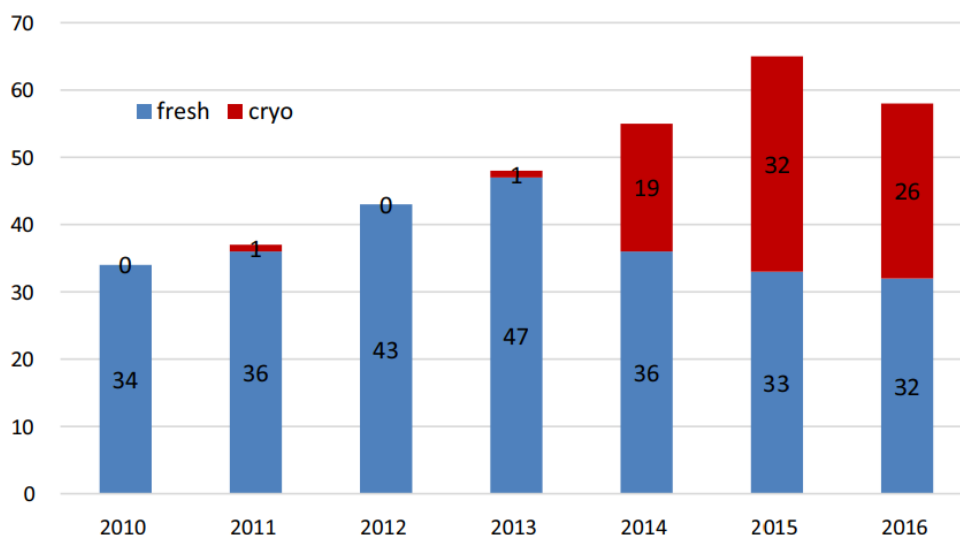
Všechny výhody a nevýhody jak materiálu tak i způsobu výroby jsou shrnuty v Tabulce 1.

		VÝHODY	NEVÝHODY
PET (Dacron, Terylen)	<i>Tkaný</i>	Lepší stabilita, nižší propustnost a menší krvácivost.	Snížená poddajnost, nízká porozita, třepení na okrajích, riziko infekce.
	<i>Pletený</i>	Větší porozita a radiální roztažnost.	Může dojít k dilataci a také je zde riziko infekce.
ePTFE (Telfon, Gore-Tex)	<i>Nízká porozita</i>	Biostabilita a žádná dilatace.	Krvácení stehů, riziko infekce.
	<i>Vysoká porozita</i>	Biostabilita.	Riziko infekce.
Polyurethan	<i>Fibrilární</i>	Poddajnost, dobrá hemo a biokompatibilita.	Biodegradace a riziko infekce.
	<i>Pěnový</i>		

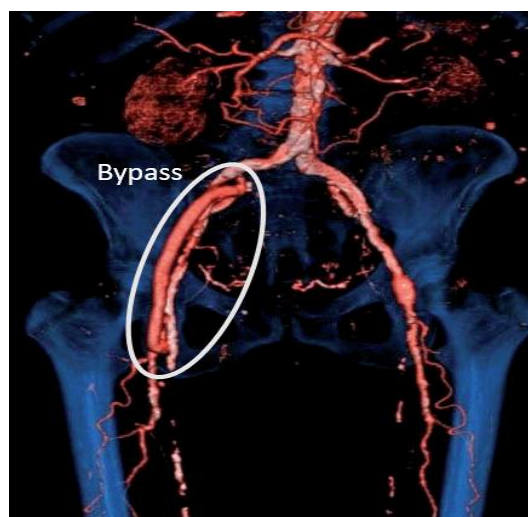
Tabulka 1: Porovnání výhod a nevýhod materiálů a způsobů výroby upraveno z [19].

4. KRYOPREZERVACE

Během padesátých let se hodně užívaly štěpy skladované v chladu. Na počátku šedesátých let, ale byla tato technika zamítnuta kvůli rozsáhlým potížím s odmítáním štěpu a kvůli časté tvorbě ruptur. Nicméně v osmdesátých letech se znovu zavedlo použití štěpů k léčbě infekcí cévních protéz [14]. Dnes se cévní alotransplantace provádějí napříč celým světem u pacientů, kteří trpí infekcí cévní protězy nebo ischemií končetin. Pokud k tomu dojde musí se odstranit infikovaný štěp a musí být provedena revaskularizace. Pro transplantaci může být použit buď čerstvý nebo kryoprezervovaný cévní aloštěp. Využívání kryoprezervovaných cévních aloštěpů bylo v České Republice zahájeno v roce 2011. První transplantace kryoprezervovaného štěpu byla provedena 81 leté ženě viz. Obrázek 11. V roce 2015 se použití kryoprezervovaných štěpů téměř vyrovnalo použití čerstvých štěpů, jak můžeme vidět z grafu na Obrázku 10. V letech 2011 až 2016 bylo dodáno pro klinickou aplikaci celkem 87 kryoprezervovaných cévních aloštěpů [13]. Velkou výhodou kryoprezervace je, že nám umožňuje dlouhodobé skladování i více než 5 let [16].



Obrázek 10: Použití čerstvých (fresh) a kryoprezervovaných štěpů v ČR během let 2010-2016 [14].



Obrázek 11: První transplantace kryoprezervovaného štěpu, iliofemorální bypass [13].

U nás v České republice se nachází síť licencovaných chirurgických zařízení, které mohou provádět cévní odběry. Tato centra transplantační centra nebo centra vaskulární chirurgie byla pro tuto činnost licencována Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL) jako Zakázková zařízení (PE), která jsou úzce spjata s dohodami s licencovaným tkáňovým zařízením (TE) tkáňovou bankou univerzity Nemocnice Hradec Králové. Mezi povinnosti tkáňové banky patří kryoprezervace odebraných štěpů a jejich následné skladování při teplotě kapalného dusíku a kontrola jejich kvality až do doby než je štěp připraven ke klinickému použití. Tato zařízení také mohou přepravit kryoprezervované štěpy na libovolné místo v České republice [13]

4.1. Postupy a metody při kryoprezervaci cév

Hlavní složkou všech buněk je voda. Při ochlazování na nízkou teplotu se tato voda mění na led a potenciálně se mohou poškodit buňky mrazem. V počáteční fázi zmrazování se v extracelulárním prostředí vytváří led, který způsobuje zvýšenou koncentraci soli. Výsledkem je nitrobuněčná osmotická nerovnováha a voda prochází do vnějšího prostředí osmózou.

Buňka dehydratuje, což může být pro ni škodlivé či dokonce smrtelné. Proto se při kryoprezervaci musí brát zřetel na všechny faktory, které by mohly tkáň poškodit. Mezi ty patří: kryoprotektant, rychlost chlazení, teplota skladování a rychlost rozmrazení [16].

Kryoprotektant je aditivum, které pokud je poskytnuto buňkám před zmrazením, umožňuje jim lepší zotavení po rozmrazení. Rozlišujeme dvě hlavní kategorie:

- 1) Prostupující kryoprotektory – to je například methanol, dimethyl sulfoxid, glycerol a propylenglykol.
- 2) Neprostopující kryoprotektory – to je například hydroxyethyl škrob nebo polyvinylpyrrolidon.

Prostupující kryoprotektory mají nízkou molekulovou hmotnost a mohou pronikat buněčnou membránou. Zahrnutí kryoprotektiva do roztoku povede ke snížení koncentrace jiných rozpuštěných látek a pomáhá i ke snížení škodlivého obohacení solí. Neprostopující kryoprotektory mají vysokou molekulovou hmotnost a nemohou vstoupit do buněk. Dokáží dehydratovat buňky před ochlazením a to vede ke snížení tvorby ledových krystalů při zmrazování [16].

Kvůli dodržení kvality a bezpečnosti kryoprezervovaných štěpů je nutné odebrat cévy v rámci multiorgánového odběru [13]. Důležité jsou i podmínky za kterých je tkáň odebírána. Studie prokázala, že je třeba provést aseptický odběr, který zabraňuje bakteriální kontaminaci [14]. Během multiorgánového odběru se při operaci arteriálního systému běžně používá bezdotyková technika. Nejčastěji se odebírá *bifurkace* od *aa. renales* až po tepny zásobující dolní končetinu (v délce 10 cm). Při odběru jednostranných tepen se začíná od *a. iliaca externa* až k *a. poplitea*. *Vena saphena* je odebírána v celkové délce. Přednostní krevní skupina pro odběr je skupina 0. Tkáňová banka má také neobvyklé štěpy v omezených množstvích jako je: bifurkace aorty, aortální oblouk s hlavními tepnami, *vena cava inferior* a bifurkace *vena iliaca* [13].

Odebrané cévy se okamžitě umístí do předem ochlazeného konzervačního roztoku Celsior doplněného gentamicinem a uloží se do sterilních certifikovaných plastových nádob. Nádoby jsou transportovány do tkáňové banky při teplotě tajícího ledu do 12 hodin po odběru spolu s dokumentací o odběru a společně se vzorky dárcovské krve k provedení sérologických testů v licencovaných diagnostických laboratořích [13].

Samotná kryoprezervace probíhá tak, že jsou cévy vloženy do dvojitého sterilních plastových sáčků, které obsahují 50 ml roztoku složeného z předem chlazeného 6% roztoku *Hydroxyethylškrobu* 20% *dimethylsulphoxidu*. Sáčky jsou poté utěsněny a vloženy do mrazicí komory programovatelného mrazáku a zmrazí se rychlostí 1K/min až do teploty -90°C. Poté se nastaví rychlost 5K/min a pokračuje se až do teploty -150°C. Dále jsou pak štěpy uchovávány v biologické nádobě, která je vybavena automatickým plnicím systémem a sledováním teploty [13].

4.2. Příprava kryoprezervovaných vzorků k implantaci

Rozmrazování probíhá tak, že se sáčky vyjmou z mrazáku a transportují se ve speciální přepravce při teplotě kapalného dusíku na operační sál. Zde jsou umístěny do chladničky s teplotou mezi +2 °C a +8 °C na dvě hodiny. Pokud se úplně nerozmrazí v chladničce může být rozmrazování dokončeno při pokojové teplotě [13]. Některé výzkumné skupiny poukazují na výhody transplantace kryoprezervovaných štěpů, jako je nízká pravděpodobnost přenosu infekce a malá pravděpodobnost, že dojde k odmítnutí tělem pacienta - na rozdíl od odmítnutí čerstvých štěpů, které vede k progresivní degeneraci elastických vláken a tvorbě pojivové tkáně a aneurysmatu, pokud není použita imunosuprese. Další autoři jsou přesvědčeni, že určité kryoprezervační protokoly jsou odpovědné za brzké ruptury štěpů, ke kterým může dojít i pooperačně a které jsou vždy spojeny s život ohrožujícími komplikacemi [13]. Ale zdá se, že těmto závažným událostem se dá předejít, pokud se použije pomalé zmrazování. Nesmíme však zapomenout, že za komplikace může být odpovědná i historie předmrazení štěpu. Předchozí studie na psech ukázala, že hypotermické skladování cév ve fyziologickém roztoku po dobu několika dnů vede ke značnému otoku cévní stěny. Díky tomu můžeme předpokládat zvýšenou pravděpodobnost poškození cévní stěny způsobeného tvorbou krystalů během zmrazování. Proto se musí užívat roztoky pro konzervaci orgánů pro přechodné hypotermické skladování bezprostředně po odběru štěpu a kontrolovat čas mezi odběrem štěpu a zahájením kryoprezervace [13].

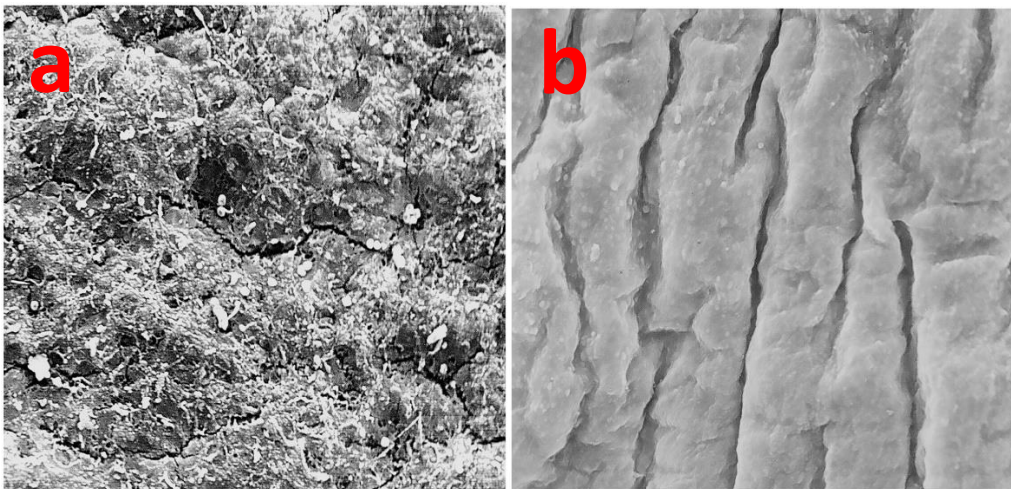
4.3. Poškození během kryoprezervace

Mnoho typů buněk se poškodí už když jsou chlazené na teploty blízké nebo rovny nule. Prvním typem poškození jsou *direct chilling injury* a *cold shock*, závislé na rychlosti ochlazení. Druhým typem je *indirect chilling injury*, které nezávisí na rychlosti, ale je pozorováno při dlouhodobém skladování v nízkých teplotách. K poškození může také dojít během rozmrazování. Malé intracelulární ledové krystaly v rychle ochlazených buňkách porostou, pokud bude rozmrazování pomalé. Tento proces je známý jako rekrystalizace. Při rychlém rozmrazení může působit mechanické napětí a může způsobit další poškození buněk [16].

V roce 1997 provedl testování PEGG, který se zabýval vznikem makroskopických trhlin (ruptur) při změně podmínek chlazení, skladování a rozmrazování. PEGG použil krční tepny králíků, kvůli její podobnosti s lidskou *a. thoracica*, která se hodně používá pro bypass. Metoda kryoprezervace zajišťuje přežití hladkého svalstva a endoteliálních buněk in vitro, ale pro klinické využití nebyla vhodná, protože se vyskytly ruptury u 75% vzorků, které byly zmrazené a následně rozmrazené [15]. Ruptury probíhaly kolmo na cévní stěnu a prodlužovaly se směrem po obvodu a pronikaly intimou a medií a někdy procházely i jednotlivými buňkami. Bylo zjištěno, že tvorba ruptur nebyla ovlivněna složením roztoku dimethyl sulfoxidu nebo rychlostí ochlazení. Ruptury však nebyly pozorovány, když se ochlazení zastavilo na -80°C a nepokračovalo se dále na -180°C. Závěrem jeho práce bylo zjištění, že k trhlinám dochází v důsledku mechanického namáhání vytvořeného rychlým rozmrazováním tepny. Tomuto lze předejít pomalým rozmrazováním k teplotě -100°C [15].

V roce 2017 byl proveden experiment, který zkoumal kryoprezervované aloštěpy kořene aorty a strukturální změny ke kterým dochází při rozmrazování. Bylo testováno celkem 12 vzorků. 6

vzorků bylo rozmrazeno při pokojové teplotě v místnosti 23°C, doba rozmrazování byla nejméně 2 hodiny 49 minut a nejvíce 4 hodiny 5 minut. U všech šesti vzorků se projevila ztráta endotelu, poškození subendoteliálních vrstev s náhodně rozptýlenými defekty a mikrotrhlinami. Dalších 6 vzorků bylo rozmrazeno ve vodní lázni při teplotě 37°C, nejrychlejší rozmrazení trvalo 26 minut a nejdelší 41 minut. Všech 6 vzorků prokázalo ztrátu endotelu z lumenálního povrchu aorta byla podélně zvlňená, což bylo způsobeno kontrakcí buněk hladkého svalstva v *medii* a časté trhliny v subendoteliální vrstvě. Poškození cévní stěny ukazuje Obrázek 12. Závěrem bylo, že vzorky rozmrazené při pokojové teplotě vykazovaly menší celkové poškození a žádnou kontrakci buněk hladkého svalstva. Rozmrazování při pokojové teplotě je šetrnější a nevede k tak vážnému poškození [17].



Obrázek 12: Mikroskopická struktura cévní stěny: a - po rozmrazování při pokojové teplotě: ztráta endotelu a poškození subendoteliálních vrstev s náhodně rozptýlenými defekty a mikrotrhlinami. b - po rozmrazování ve vodní lázni: ztráta endotelu z lumenálního povrchu, podélné zvlňení způsobené kontrakcí buněk hladkého svalstva v *medii* [17].

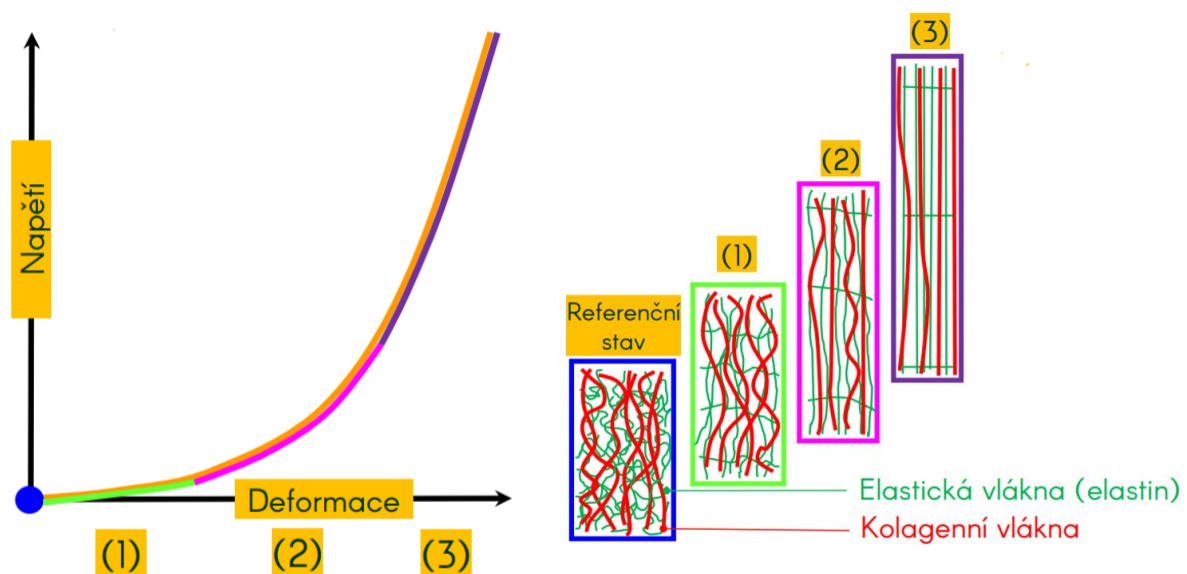
Další experiment byl proveden u nás v České republice v roce 2019. Jednalo se o rozmrazování žilních štěpů. Celkem bylo k dispozici 12 žilních štěpů a dva postupy rozmrazování. Za prvé pomalé rozmrazování, které probíhalo v lednici při +4°C, kdy medián byl 2 hodiny. Druhým postupem bylo pomalé rozmrazování, kdy se štěpy vložily do vodní lázně o teplotě +37°C. Proces byl zastaven v momentě, kdy zmizely poslední částičky ledu. Medián byl 5 minut 50 vteřin. V žíle není lamina elastica interna. Intima žíly je lemována endotelem, který se liší od endotelu tepen v tom, že buňky nejsou protáhlé ve směru cévy, ale jsou uspořádány nepravidelně a jsou spíše širší než delší. Elastická a velmi jemná vlákna intimy probíhají podélně. V předchozích letech bylo prokázáno, že technika kryoprezervace a následné rozmrazení cévních štěpů má vliv na jejich trvanlivost a kvalitu. U kryoprezervovaných žilních štěpů nebyl prokázán žádný rozdíl pokud jde o povrch endotelu a bazální membrány. Klíčovou roli může hrát síla medie v porovnání s tepnou [21].

5. MECHANICKÉ VLASTNOSTI CÉV

Mechanické vlastnosti cév jsou ovlivněny jejich vnitřní stavbou. Cévy mohou být:

- Nelineární – závislost napětí na deformaci je nelineární což můžeme vidět na Obrázku 13.
- Anizotropní – závislost napětí na deformaci z různě orientovaných vzorků odebraných ze stejného místa je různá.
- Viskoelastické – část křivky kdy probíhá zatěžování není stejná s částí, kde probíhá odlehčování. Během procesu dochází k maření energie [4].

První částí deformace cévní stěny se účastní elastin, který má schopnost protáhnout se až o 150% své původní délky. Pokud dochází k velkým deformacím projevuje se poté pouze vliv kolagenu. Na celkové chování cévní stěny má také vliv hladká svalovina a vnitřní pnutí [22].



Obrázek 13: Závislost napětí na deformaci, upraveno z [7].

Na Obrázku 13 je nelineární závislost napětí na deformaci. Jako první je zatížení přenášeno pouze elastickými vlákny. Poté se vyrovnají kolagenní vlákna a dochází k tuhnutí materiálu [7].

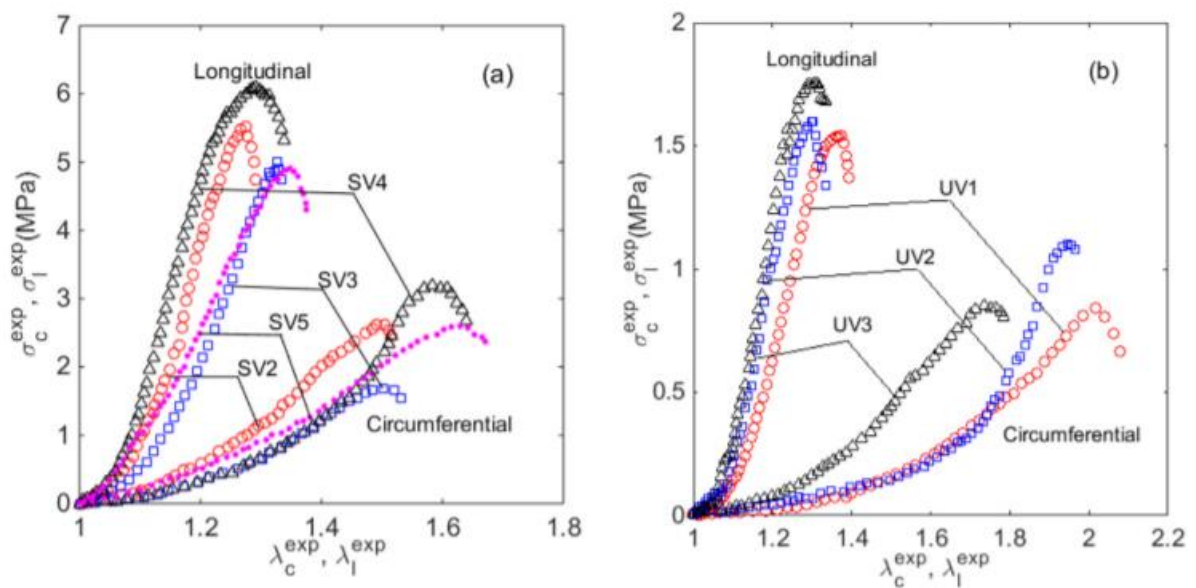
Cévy obsahují kolagenní vlákna a vykazují viskoelastické vlastnosti. Tyto vlastnosti můžeme vysvětlit jako časové zpoždění v reakci na aplikované zatížení, které vzniklo kvůli tření mezi molekulami v materiálu. Toto chování popisují tři stavy v závislosti na zatížení a podmínkách deformace: smyčka pro cyklické zatížení, relaxace při konstantní deformaci a creep při konstantním zatížení [30].

Ve stěně cév nalezneme též zbytkové napětí. Jeho existenci je možné prokázat nařezáním cévy na prstence a následně každý tento prstenec rozříznout. To má za následek jeho otevření což můžeme vidět na Obrázku 14. Céva se rozevře o nějaký úhel, který nazýváme úhlem otevření. Většinou je úhel větší než nula, což naznačuje, že vnitřní stěna je stlačena zatímco vnější stěna je napnutá [30].



Obrázek 14: Ukázka rozevření vytknutého kroužku cévy při uvolnění zbytkového napětí [7].

Při provedení jednoosé tahové zkoušky byla prokázána anizotropie. Na Obrázku 15 je graf z tahové zkoušky dvou žil. *Vena saphena magna* (a) a *vena umbilicalis* (b). V obou případech je patrné, že žíly jsou tužší v podélném směru než ve směru obvodovém [30].



Obrázek 15: Experimentální data – závislost napětí na streči, vzorky podélné (longitudinal) a obvodové (circumferential) a) VSM b) vena umbilicalis [30].

Faktory ovlivňující mechanické vlastnosti cév:

Vliv předpětí:

Ve fyziologickém stavu jsou v našem těle tepny předepnuty. Za fyziologických podmínek během počátečního stavu napjatosti je deformace stěny aorty asi 70%. Tato deformace kolísá v obvodovém směru $\pm 3\%$ a ve směru podélném (axiálním) $\pm 1\%$. Céva se při odebrání z organismu zkrátí. Zkrácení je největší u cév v jejichž stěně převažuje hladká svalovina. Také může být zkrácení závislé i na věku, jako příklad můžeme uvést *arteria femoralis*, jejíž zkrácení je u mladých lidí v průměru o 40% a u starších je to o 25%. U *aorty abdominalis* je zkrácení u mladých lidí o 30% a u starších o 15% [22]. Je také dokázáno, že vliv předpětí závisí též na poloze. Předpětí se zvyšuje s rostoucí vzdáleností cévy od srdce [26].

Vliv lokalizace:

Mechanické vlastnosti jsou též závislé na vzdálenosti od srdce. Prodloužení tepen v podélném směru je u břišní aorty (*aorta abdominalis*) 148% u hrudní aorty (*aorta thoracica*) 145% a u stehenní tepny (*arteria femoralis*) a společné krční tepny (*arteria carotis communis*) je maximální prodloužení 124% [22].

Vliv orientace vzorku:

Orientace vzorku má také vliv na mechanické vlastnosti. Již je známo, že mez pevnosti v tahu R_m je vyšší v obvodovém směru R_{m_2} než ve směru podélném R_{m_1} . Záleží na směru zatěžování, proto můžeme říci, že se cévy chovají anizotropně [22].

VĚK [roky]	$R_{m_1} \cdot 10^{-4}$ [MPa]	$R_{m_2} \cdot 10^{-4}$ [MPa]
11-20	$413,7 \pm 19,2$	$463,2 \pm 35,8$
21-30	$220,6 \pm 11,5$	$307,0 \pm 16,7$
31-40	$155,0 \pm 12,6$	$175,7 \pm 18,7$
41-50	$102,6 \pm 8,2$	$131,7 \pm 8,5$
51-60	$78,7 \pm 14,3$	$121,3 \pm 14,4$
61-70	$78,8 \pm 10,8$	$92,7 \pm 7,0$
71 a více	-	$87,9 \pm 6,9$

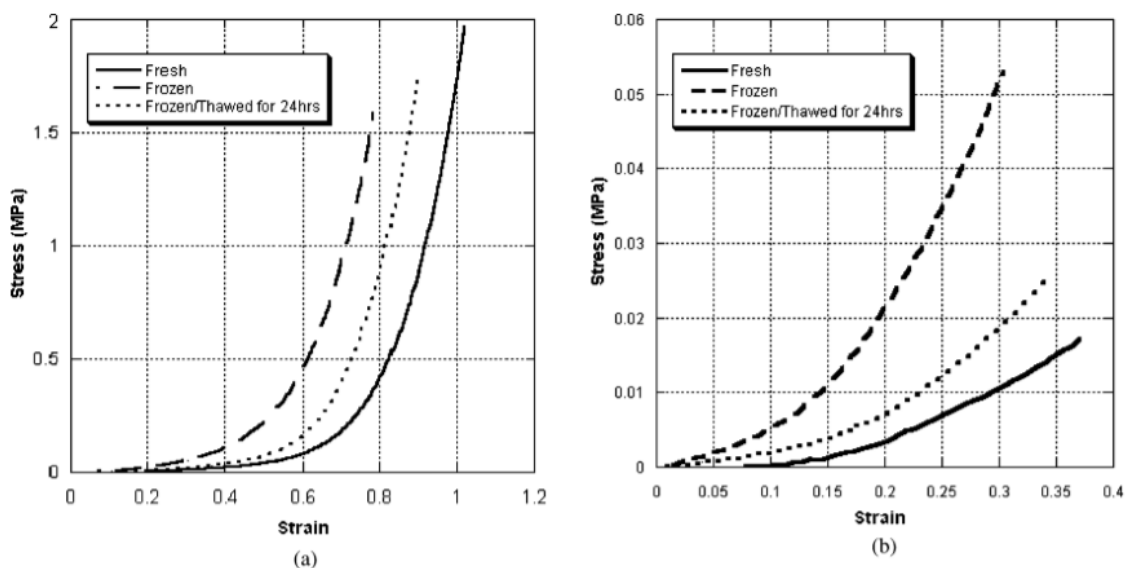
Tabulka 2: Mez pevnosti ve směru podélném a ve směru obvodovém v závislosti na věku [22].

V Tabulce 2 můžeme vidět, že z provedených experimentů je jasně vidět, že mez pevnosti v tahu je vždy vyšší ve směru obvodovém. Mez pevnosti je nejvyšší mezi roky 11-20, poté se mezi roky 21-30 rapidně sníží a snižuje se postupně dál [22].

Také pozorujeme relaxaci napětí při konstantní deformaci a tečení materiálu při konstantním tahu. To jsou nevratné mechanické děje. Céva je ve fyziologickém stavu ve víceosé napjatosti a jednoosá tahová zkouška neodhalí anizotropii, proto se mechanické vlastnosti zjišťují i pomocí dalších testů, mezi které patří dvouosá tahová zkouška a inflačně extenzní test [4].

5.1. Vliv kryoprezervace na mechanické vlastnosti

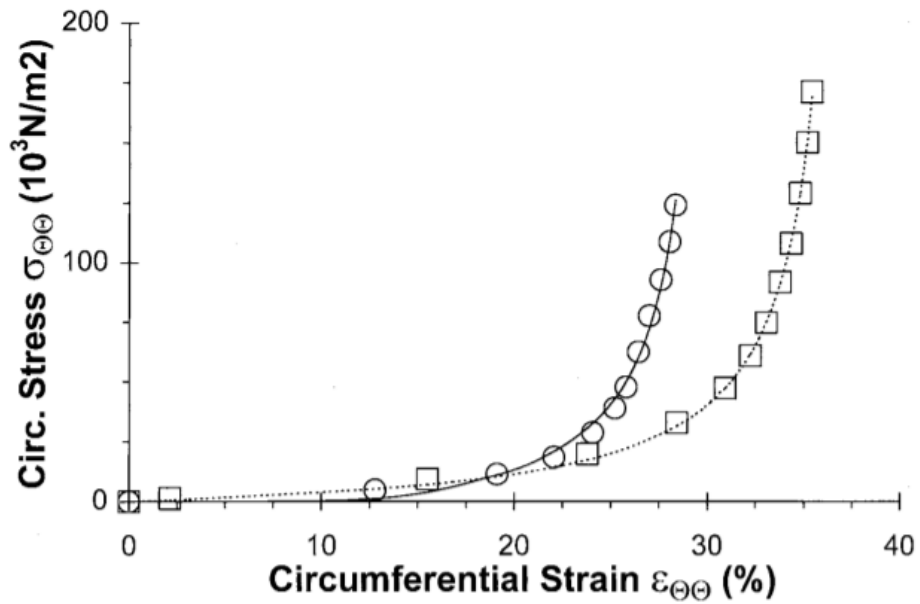
Vliv kryoprezervace na mechanické vlastnosti byl zkoumán na prasečích femorálních tepnách. Z tepen byly vyříznuty prstence o šířce 3 mm. Tepny byly zmrazeny a kryoprezervovány. Při zmražení byly použity dva postupy. Prvním postupem bylo vložení do mrazáku, kde byla teplota -20°C . Druhým postupem bylo zmrazení pomocí hliníkové sondy. Sonda byla umístěna do ethanolové lázně jejíž teplota byla také -20°C . Vzorky byly poté rozmrazeny při pokojové teplotě a následně byla provedena jednoosá tahová zkouška. U vzorků byla před a po zmrazování/rozmrazování měřena hmotnost, aby se vyhodnotil veškerý pohyb vody. Pro kryoprezervaci byly tepny vloženy do mrazáku s řízenou rychlostí zmrazování $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ až do teploty -80°C . Poté došlo k rozmrazení ve vodní lázni o teplotě $+37^{\circ}\text{C}$. Kryoprezervace probíhala buďto s použitím kryoprotektivní látky (CPA) a nebo bez ní [28].



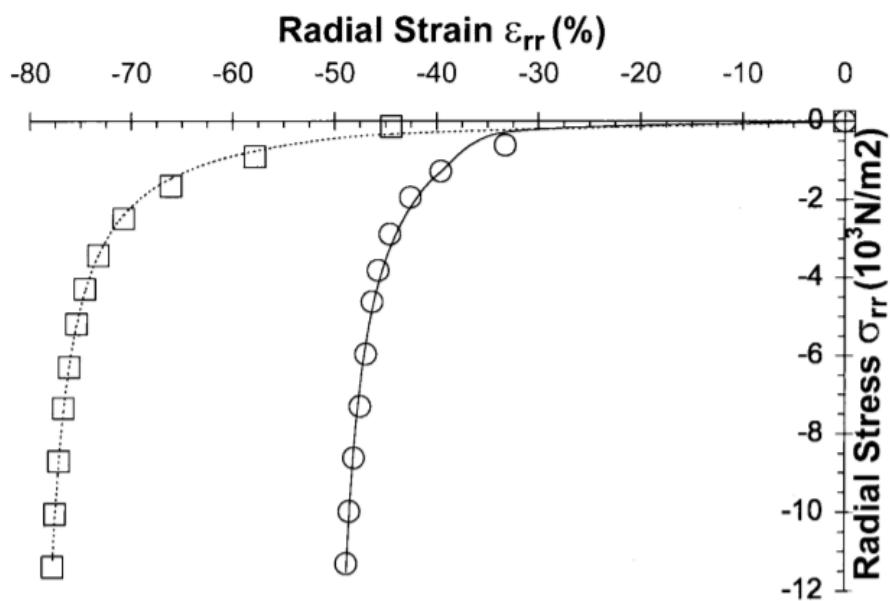
Obrázek 16: a) křivky napětí - deformace pro vzorky čerstvé (fresh) zmrazené (frozen) a zmrazené a následně rozmrazené po dobu 24 hodin b) také křivky napětí - deformace, ale pro nižší hodnoty napětí [28].

Na Obrázku 16 vidíme závislost napětí a deformace. Lineární režim pro čerstvé vzorky začal u vyšších deformací. Modul pružnosti byl vyšší u zmrazených vzorků při nižších hodnotách napětí. U zmrazených vzorků dochází k rychlejšímu nárůstu napětí než u čerstvých vzorků. To může znamenat, že vlákna jsou již vyrovnána a jsou zapojena najednou, kdežto u čerstvých vzorků jsou vlákna postupně tažena až do jejich vyrovnání, což má za následek postupné zvyšování síly [28].

Pro zkoumání mechanických vlastností byl také použit inflační test tepen *arteria iliaca externa* a *arteria femoralis superficialis*. Tepny byly nafouknuty transmurálním tlakem $P_T = 100 \text{ mmHg}$. Obrázek 17 nám ukazuje, že maximální obvodové napětí je vyšší pro kryoprezervované vzorky a v porovnání s Obrázkem 18, který představuje radiální napětí, je obvodové napětí asi 11-15krát větší než napětí radiální při stejném tlaku. Křivky na Obrázku 18 také ukazují, že radiální napětí je větší pro kryoprezervované tepny. Záporné znaménko v grafu na Obrázku 18 značí radiální stlačení ve stěně tepny [29].

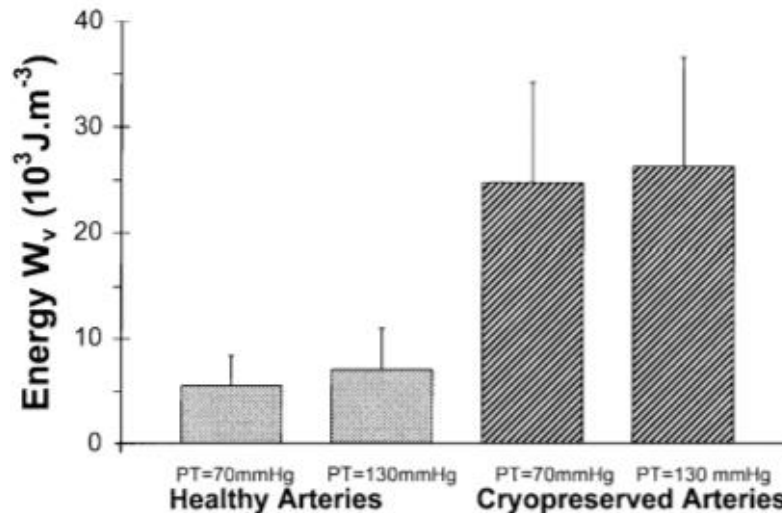


Obrázek 17: Mechanická odezva v obvodovém směru z inflačně extenzního experimentu nativních a kryoprezervovaných cév, plná křivka představuje čerstvé vzorky tečkovaná křivka představuje kryoprezervované vzorky [29].



Obrázek 18: Mechanická odezva v radiálním směru z inflačně extenzního experimentu, tečkovaná křivka představuje kryoprezervované vzorky, a plná křivka představuje čerstvé vzorky [29].

Obrázek 19 ukazuje, že vypočítaná deformační energie na jednotku objemu potřebná k přechodu z referenční konfigurace do zdeformované konfigurace je o dost vyšší též u kryoprezervovaných vzorků. Pro výpočet byla použita lichoběžníková metoda pro přibližný výpočet integrálů [29].



Obrázek 19: Hodnota deformační energie pro čerstvé a kryoprezervované vzorky [29].

Závěrem můžeme říct, že kryoprezervované vzorky v porovnání s čerstvými mají pružnější stěnu (radiální a obvodová deformace je vyšší při stejném radiálním napětí), což vede k vyšším hodnotám obvodového a podélného napětí [29].

Úspěšně kryoprezervované lidské tkáně:

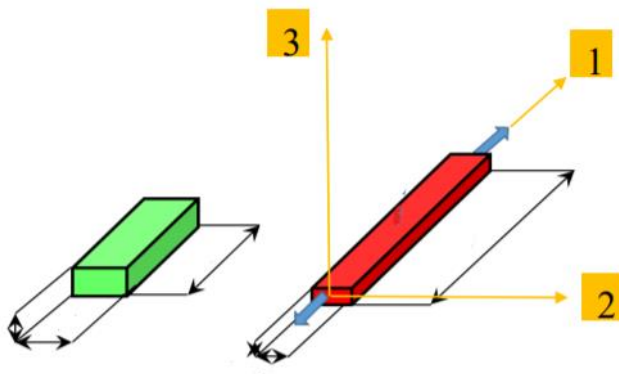
Existuje mnoho tkání, které mohou být kryoprezervovány. Včetně kostí, kůže, žíly, tepny a srdeční chlopně. Tato skupina tkání má různé podobnosti, mezi ty patří i vysoký obsah kolagenu. Další skupinou tkání, které můžeme kryoprezervovat jsou i ty s biosyntetickou funkcí, jako jsou embrya, pankreatická tkáň, příštítná tělíska a tkáň štítné žlázy [16].

Nový vývoj v kryoprezervaci je metoda ultra rychlého chlazení (téměř -300°C za minutu), které přeměňuje vodu vitrifikací na skelný stav. Při vitrifikaci se minimalizuje riziko tvorby ledových krystalů, protože nemají čas na růst. To musí být doprovázeno stejně rychlým rozmrazováním, aby se zabránilo tvorbě ledových krystalů během rozmrazování. Není pochyb o tom, že v budoucnu se zvýší počet tkání, které mohou být úspěšně kryoprezervovány [16].

5.2. Typy testů

Jednoosá tahová zkouška:

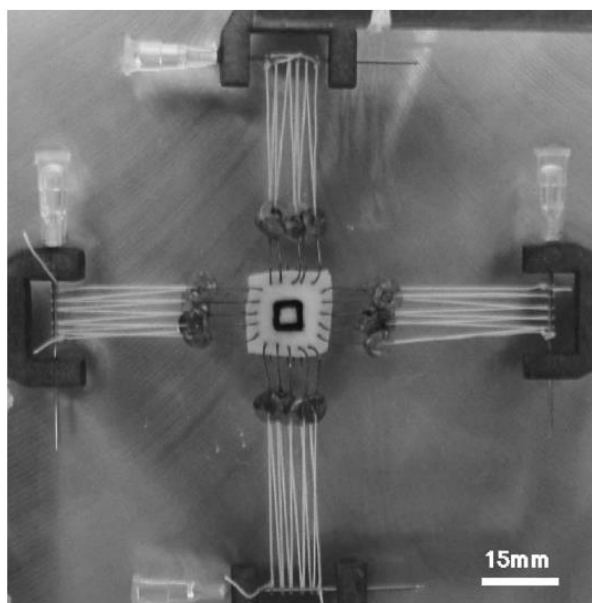
Při jednoosé tahové zkoušce na vzorek působí tahová síla v jednom směru viz. Obrázek 20. Vzorek je natahován až do selhání. Z jednoosé tahové zkoušky získáme prodloužení, díky znalosti vzdálenosti čelistí ve kterých je vzorek upnut, sílu do poškození a tuhost vzorku [24].



Obrázek 20: Jednoosá tahová zkouška [23].

Dvouosá tahová zkouška:

Během dvouosé tahové zkoušky je vzorek současně zatěžován ve dvou směrech jak znázorňuje Obrázek 21 a díky tomu se dají lépe zjistit vlastnosti materiálu. Vlastnosti materiálu můžeme získat jak ve směru obvodovém tak i ve směru podélném. Vzorek je upnut pomocí háčků, které ale naruší celý vzorek [25].



Obrázek 21: Dvouosá tahová zkouška [25].

Inflační - extenzní test:

Během inflačně extenzního testu můžeme porovnat skutečné chování materiálu s výpočtovým nebo analytickým modelem, kdy my trubici nafukujeme vnitřním tlakem a zároveň osově natahujeme. Tepnu můžeme modelovat jako tenkostěnnou nádobu a uvažovat dvousou napjatost nebo jako silnostěnnou nádobu a uvažovat trojosou napjatost [7].

5.3. Konstitutivní modely pro popis

HYPERELASTICKÉ MODELÝ:

Křivka pro zatěžování a odlehčování hyperelastického materiálu je stejná. Díky tomu můžeme říct, že zde během deformace nedojde k disipaci energie [32].

Nejjednodušším modelem je Neo-Hooke:

$$W = \frac{\mu}{2}(I_1 - 3) \quad (1)$$

kde μ je materiálový parametr a I_1 je první invariant tenzoru \mathbf{C} viz. (3).

Při hyperelasticitě je předpokládáno pouze elastické chování. Neelastické chování materiálu není připouštěno. Tím pádem se zanedbává viskoelastická a nebo vnitřní poškození [33].

HGO (Holzapfel – Gasser – Ogden) model:

Cévní stěna je považována za anizotropní a hyperelastickou a funkce hustoty deformační energie je popsána rovnicí (2) [34].

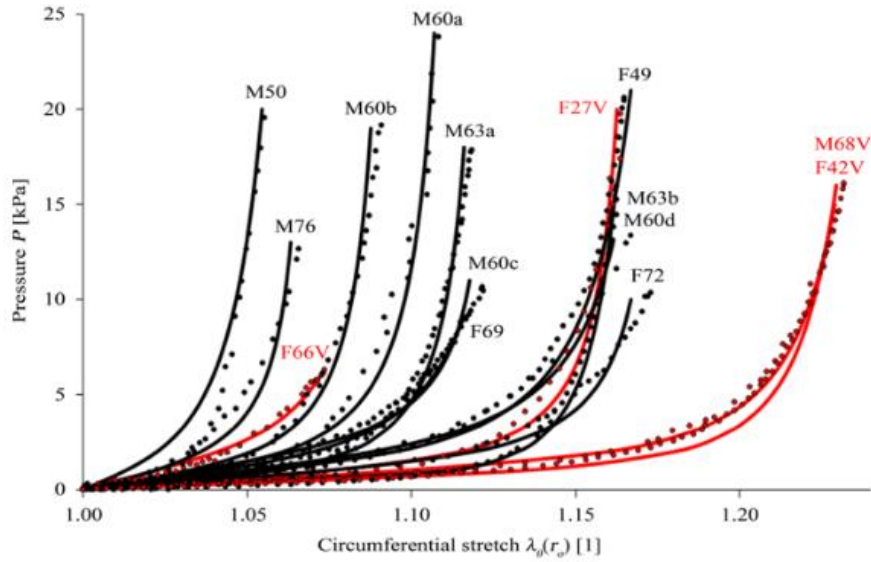
$$W = W_{isotropic} + W_{anisotropic} = \frac{\mu}{2}(I_1 - 3) + \frac{k_1}{2k_2} \sum_{i=4,6} (e^{k_2(I_i-1)^2} - 1) \quad (2)$$

kde k_2 je bezrozměrný parametr, k_1 je napěťový parametr, I_1 je první invariant Cauchy – Greenova tenzoru $\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F}$. I_4 a I_6 jsou invarianty popisující anizotropii [35].

$$I_1 = \lambda_r^2 + \lambda_\theta^2 + \lambda_z^2 \quad (3)$$

$$I_4 = I_6 = \lambda_\theta^2 \cos^2 \beta + \lambda_z^2 \sin^2 \beta \quad (4)$$

kde úhel β definuje preferovaný směr v materiálu měřený od obvodové osy [34]. Tento model byl uplatněn v [35], kde byl proveden inflačně – extenzní experiment pro 15 nativních vzorků *vena saphena magna*. Data byla proložena modelem HGO a z Obrázku 22 lze vidět, že naměřená data se téměř shodují s modelem.



Obrázek 22: Závislost tlaku na streči [35].

V mé práci budu používat GOH (Gasser – Ogden – Holzapfel) model, který rozšiřuje HGO model o disperzi vláken.

$$W = W_{isotropic} + W_{anisotropic} = \frac{\mu}{2}(I_1 - 3) + \frac{k_1}{k_2} \sum_{i=4,6} (e^{k_2(I_i^* - 1)^2} - 1) \quad (5)$$

Invarianty I_4^* a I_6^* jsou si rovny.

$$I_4^* = \kappa I_1 + (1 - 3\kappa)I_4 \quad (6)$$

Váhový koeficient κ se pohybuje v rozmezí $0 \leq \kappa \leq \frac{1}{3}$. Pokud by se $\kappa = 0$ jsou vlákna rovnoběžně uspořádaná. Pokud $\kappa = \frac{1}{3}$ jsou vlákna uspořádaná do všech směrů.

Nakonec můžeme psát konstitutivní rovnici pro nestlačitelný hyperelastický materiál ve tvaru (5). Kde $\boldsymbol{\sigma}$ označuje Cauchyho tenzor napětí a p je multiplikátor indukovaný omezením nestlačitelnosti [35].

$$\boldsymbol{\sigma} = 2\mathbf{F} \frac{\partial W}{\partial \mathbf{C}} \mathbf{F}^T - \mathbf{I}p \quad (7)$$

6. INFLAČNĚ EXTENZNÍ EXPERIMENT

6.1. Experimentální vzorky

Pro inflačně extenzní experiment bylo použito 12 kryoprezervovaných vzorků a 6 nativních vzorků VSM získaných při operacích aortokoronárních bypassů. Z toho 6 bylo rozmrazeno standardním protokolem užívaným v České republice tzn. pomalu. Rozmrazení probíhalo 120 minut (viz. Kapitola 4.2.). Zbýlých 6 bylo z kryoprezervovaného stavu rozmrazeno rychle za 5 minut. V Tabulce 3 je přehled všech vzorků.

Vzorek	Označení	H_s [mm]	R_i [mm]	R_o [mm]	Věk dárce	Pohlaví	Rychlost rozmražení
VSM_1_CV_0633414_A	V2	0,218	1,795	1,978	44	M	R
VSM_2_CV_0533114_A	V4	0,221	1,661	1,882	18	M	
VSM_8_CV_0262314_A	V10	0,288	1,984	2,272	28	M	
VSM_9_CV_0171814_A	V12	0,464	2,254	2,718	61	M	
VSM_14_CV_0040316_A	V22	0,346	1,728	2,074	52	M	
VSM_15_CV_0523114_A	V24	0,303	1,894	2,196	18	M	
VSM_3_CV_0201914_A	V6	0,335	1,812	2,147	21	F	S
VSM_4_CV_0181814_A	V8	0,459	1,998	2,456	51	M	
VSM_10_CV_0212014_A	V14	0,285	1,847	2,131	47	M	
VSM_11_CV_0543114_A	V16	0,248	1,966	2,214	17	M	
VSM_12_CV_0101414_A	V18	0,258	1,796	2,054	41	F	
VSM_13_CV_0030816_A	V20	0,241	1,769	2,009	52	F	
VSM_M1949_1A	V2n	0,219	1,737	1,956	69	M	-
VSM_M1956_1A	V4n	0,256	1,348	1,604	62	M	
VSM_Z1948_1A	V6n	0,295	1,154	1,449	70	F	
VSM_Z21948_1A	V8n	0,319	1,532	1,851	70	F	
VSM_Z21948_2A	V10n	0,262	1,369	1,631	70	F	
VSM_Z1951_1A	V13n	0,201	0,996	1,197	67	F	

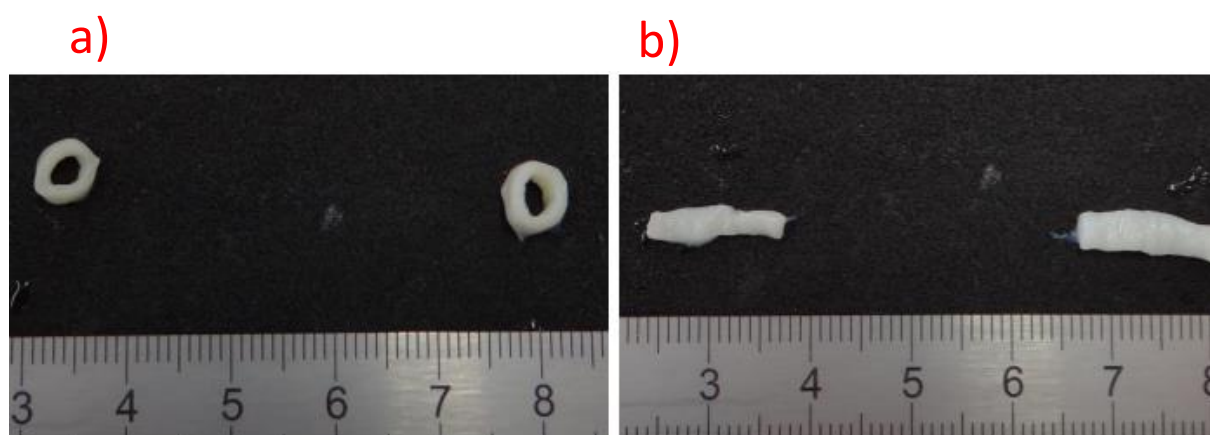
Tabulka 3: Tabulka nativních a kryoprezervovaných vzorků, pohlaví: M=male, F=female, rychlost rozmražení: R=rapid, S=slow.

Všechny vzorky byly odebrané ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze a ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové. Testovaným vzorkem byla *Vena saphena magna*, která byla zbavena tukové tkáně a očištěna.



Obrázek 23: Kryoprezervovaná VSM s vyznačením řezů pro dělení experimentálních vzorků a vzorků pro rozměrovou analýzu, upraveno z [6].

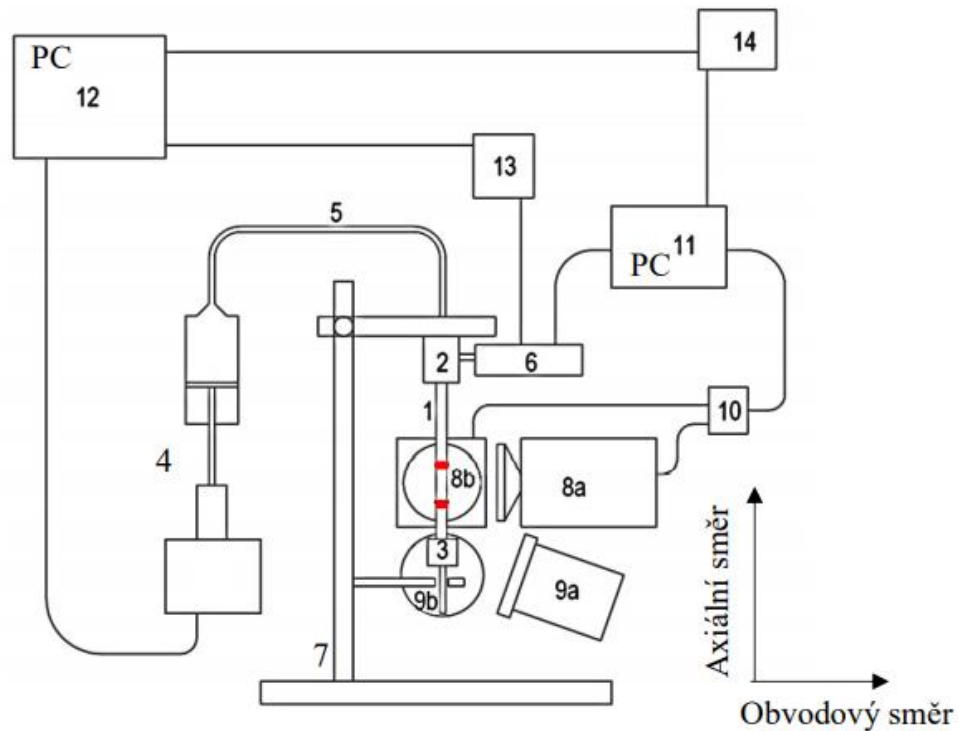
Na Obrázku 23 jsou vyznačená místa řezů. Vzniklé kroužky byly poté rozvinuty viz. Obrázek 24 a byla změřena tloušťka stěny pomocí mikrometru s přítlačnou silou 0,5 N a obvod.



Obrázek 24: Kroužky experimentálních vzorků VSM pro rozměrovou analýzu, a) vyříznuté kroužky, b) rozvinuté kroužky [6].

6.2. Průběh experimentu

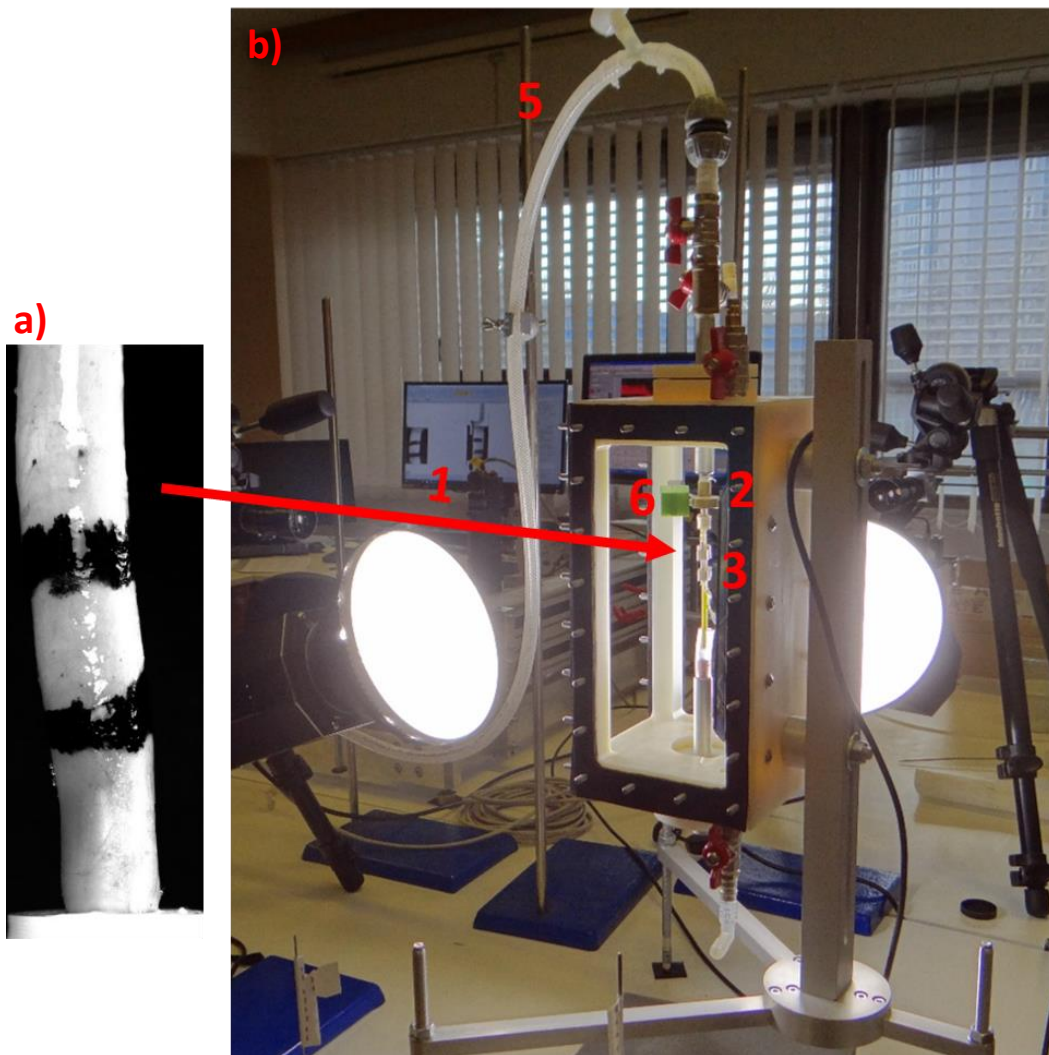
Při inflačně extenzním experimentu je vzorek nafukován a natahován. Ziskem jsou axiální a obvodové deformace měřené ze dvou kamer, které jsou natočené pod určitým úhlem.



Obrázek 25: Měřicí aparatura: 1 - vzorek se značkami, 2 - pevný upínací trn, 3 - pohyblivý upínací trn, 4 - stříkačka, 5 - trubice, 6 - senzor pro měření tlaku, 7 - stojan, 8a,b - kamery, 9a,b - světla, 10 - synchrobox, 11,12 – PC, 13 – A/D převodník, 14 – triggerovací tlačítko [6].

Schéma měřicí aparatury ukazuje Obrázek 25. Na vzorek, který byl měřen byly nakresleny černé markery, poté byl upnut mezi dva trny. Mezi horní pevný trn a dolní pohyblivý trn, který umožňuje axiální pohyb a natočení. Reálné uspořádání experimentu je pak na Obrázku 26.

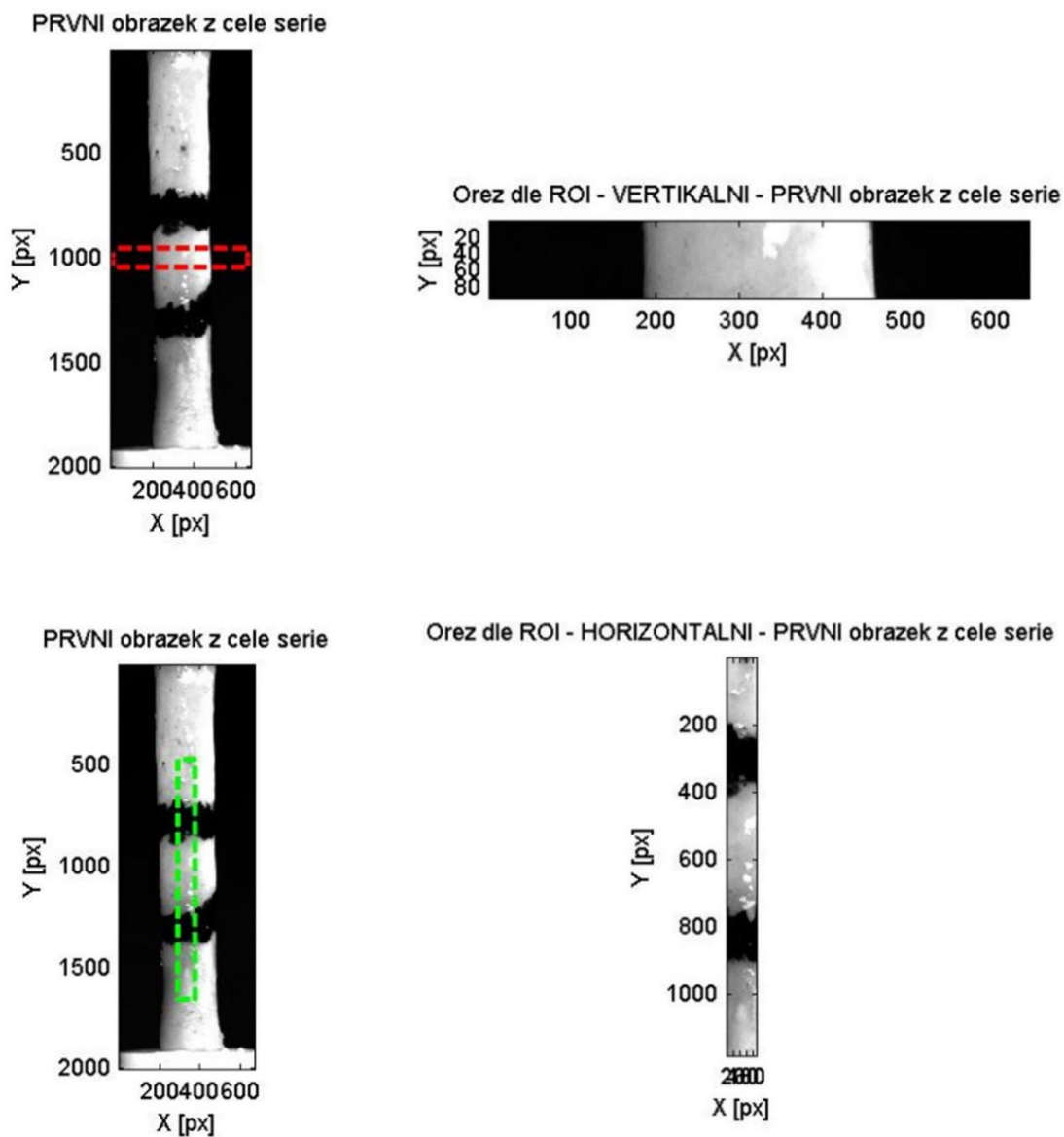
Horním trnem byla stříkačkou přivedena tekutina, která slouží ke tlakování vzorku. Píst u stříkačky je poháněn motorem. Vzorek byl nasvícen pomocí dvou světel a deformace byla snímána dvěma kamerami. Kamery svíraly úhel 90° , což je z důvodu toho, že ve všech směrech není obvodová a axiální deformace stejná. Z těchto dvou kamer se získají deformace, které se zprůměrují a poté se používá zprůměrovaná hodnota. Trigger tlačítkem se spustí celý experiment.



Obrázek 26: a) vzorek VSM s vyznačenými markery, b) reálné uspořádání experimentu: 1-vzorek se značkami, 2-pevný upínací trn, 3-pohyblivý trn, 5-trubice, 6-senzor pro měření tlaku.

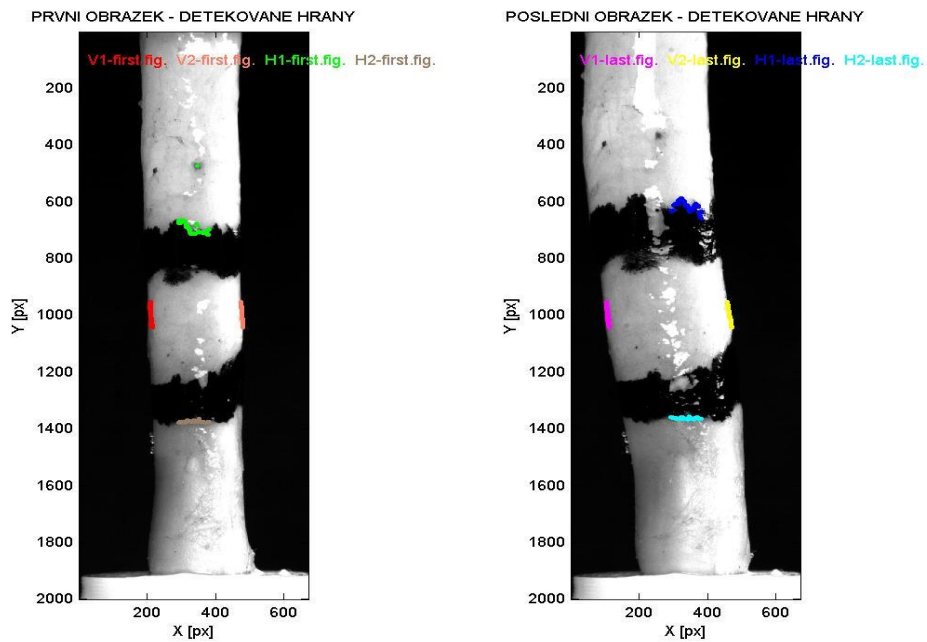
6.3. Zpracování experimentálních dat

Pro zpracování dat byl pořízen referenční snímek. Pro další vyhodnocení byl použit dostupný Matlab skript. Snímky z kamer byly zpracovány tak, že byla použita metoda ROI (region of interest). V tomto procesu dochází k detekci horizontálních a vertikálních hran viz Obrázek 27.



Obrázek 27: Ukázka vytknutých oblastí pro detekci obvodových hran a markerů.

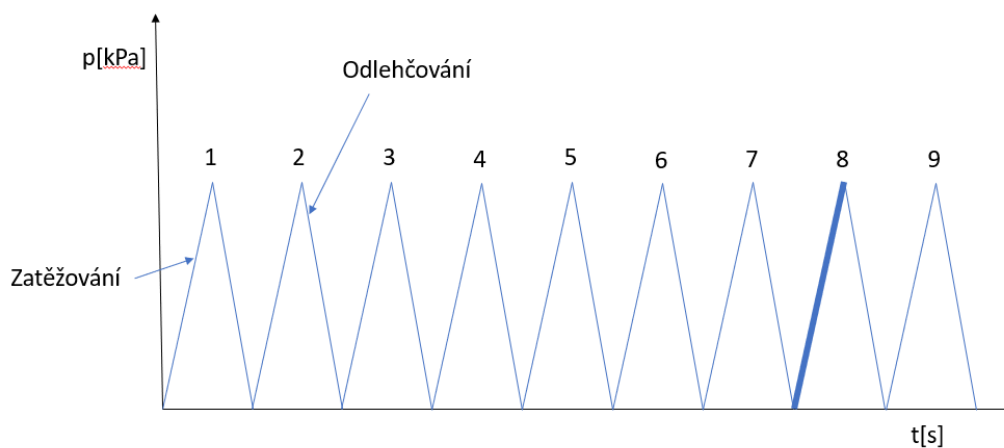
Poté se musí fotka převést na binární fotku, což ve výsledku znamená, že se fotka skládá pouze z černé a bílé barvy.



Obrázek 28: Metoda zpracování obrazu, detekované hrany.

Ve vybraném úseku ROI byly detekované hrany na obvodu, z jejich posuvů byly vypočteny obvodové deformace a ROI bylo aplikované i na značky v horizontální úrovni viz. Obrázek 28, z pohybu těchto markerů se určovaly axiální deformace.

Vzorky byly cyklicky zatěžovány. Pro vyhodnocování byl zvolen osmý cyklus zatěžování viz. Obrázek 29. Musí totiž dojít k předcyklování, aby došlo k ustálení vnitřních a vnějších vazeb v materiálu. Já jsem dostala data z experimentů již předpřipravené po zpracování metody obrazu v textovém souboru Excel, kde byly již známé hodnoty obvodové a axiální deformace.



Obrázek 29: Schéma cyklického zatěžování při inflačně extenzním testu s vyznačením zpracovávané části průběhu zatěžování.

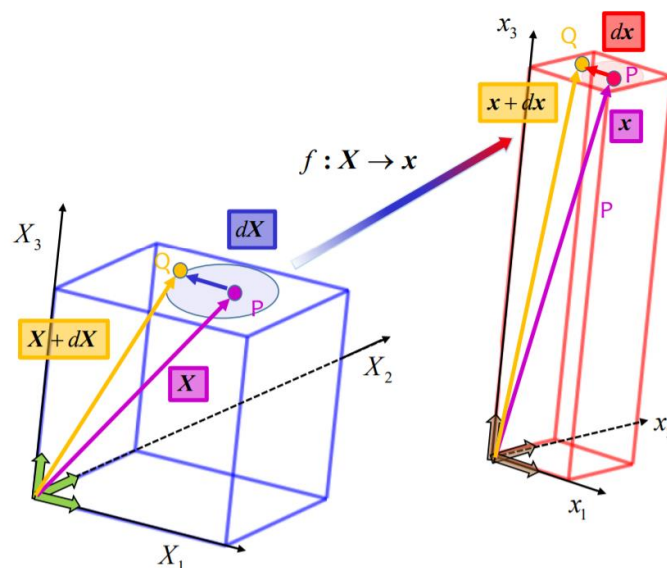
7. VÝPOČET DEFORMACÍ, NAPJATOSTI A MATERIÁLOVÝCH PARAMETRŮ

Při výpočtu se pohybujeme v oblasti nelineární mechaniky. To znamená, že pozorujeme nelineární závislost napětí na deformaci. V této oblasti je třeba si definovat dva základní souřadné systémy: prostorové (Eulerovy) souřadnice x , které nám určují polohu bodu v prostoru a materiálové (Lagrangeovy) souřadnice X , které označují bod tělesa. Potom je možné definovat posunutí bodu v prostoru pomocí vztahu [38]:

$$u(X) = x - X \quad (8)$$

7.1. Deformace

Deformace = zobrazení. Zobrazení $f: X \rightarrow x$, jak znázorňuje Obrázek 30, kde X je původní vektor před deformací a x je polohový vektor v tělese, které se zdeformovalo. Pokud dojde ke změně vzdálenosti alespoň dvou bodů tělesa, pak můžeme říci, že se těleso zdeformovalo [23].



Obrázek 30: Zobrazení referenční a deformované konfigurace [23].

Deformaci vyjadřujeme pomocí deformačního gradientu. Stav před deformací a po ní vyjadřuje deformační gradient F , který je tenzor druhého řádu.

Deformační gradient můžeme vyjádřit rovnicí:

$$dx = FdX \quad (9)$$

Kde dx a dX jsou vektory:

$$dx = \begin{pmatrix} dx_1 \\ dx_2 \\ dx_3 \end{pmatrix} \quad (10)$$

$$dX = \begin{pmatrix} dX_1 \\ dX_2 \\ dX_3 \end{pmatrix} \quad (11)$$

\mathbf{F} vlastně představuje zobrazení mezi dvěma vektorovými prostory.

Deformační gradient \mathbf{F} má 9 nezávislých složek. Při zobrazení $f: \mathbf{X} \rightarrow \mathbf{x}$ je zde i přítomnost rotace \mathbf{R} , f totiž obsahuje informaci o rotaci, translaci i deformaci. Pokud bychom chtěli vyjádřit čistě deformaci či rotaci lze použít rozklad: [23].

$$\mathbf{F} = \mathbf{R}\mathbf{U} = \mathbf{v}\mathbf{R} \quad (12)$$

Kde \mathbf{R} je tenzor vlastní rotace, \mathbf{U} je pravý tenzor strečů a \mathbf{v} je levý tenzor strečů. \mathbf{U} a \mathbf{v} jsou symetrické a pozitivně definitní a \mathbf{R} je ortogonální [38].

Determinant deformačního gradientu \mathbf{F} označujeme J , což můžeme označit jako změnu objemu.

$$\det(\mathbf{F}) = J = \lambda_1 \lambda_2 \lambda_3 \quad (13)$$

Mezi další tenzory deformace, které jsou definovány pomocí tenzorů strečů patří:

Pravý Cauchyův-Greenův tenzor:

$$\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F} = \mathbf{U}^2 \quad (14)$$

Levý Cauchyův-Greenův tenzor:

$$\mathbf{b} = \mathbf{F}\mathbf{F}^T = \mathbf{v}^2 \quad (15)$$

V rovnicích (14) a (15) T znamená transpozici tenzoru druhého řádu. Hlavní invarianty tenzorů \mathbf{C} a \mathbf{b} můžeme získat pomocí:

$$I_1 = \text{tr}(\mathbf{C}) = \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2 \quad (16)$$

$$I_2 = \frac{1}{2} [I_1^2 - \text{tr}(\mathbf{C}^2)] = \lambda_1^2 \lambda_2^2 + \lambda_2^2 \lambda_3^2 + \lambda_3^2 \lambda_1^2 \quad (17)$$

$$I_3 = \det(\mathbf{C}) = \lambda_1^2 \lambda_2^2 \lambda_3^2 \quad (18)$$

V rovnicích (16) a (17) tr označuje stopu tenzoru druhého řádu. Deformace měkkých tkání se často modelují jako isochorické děje a platí:

$$J = \det(\mathbf{F}) = 1 = \lambda_1 \lambda_2 \lambda_3 \quad (19)$$

O těchto materiálech pro které platí rovnice (19) mluvíme jako o nestlačitelných.

7.2. Napjatost

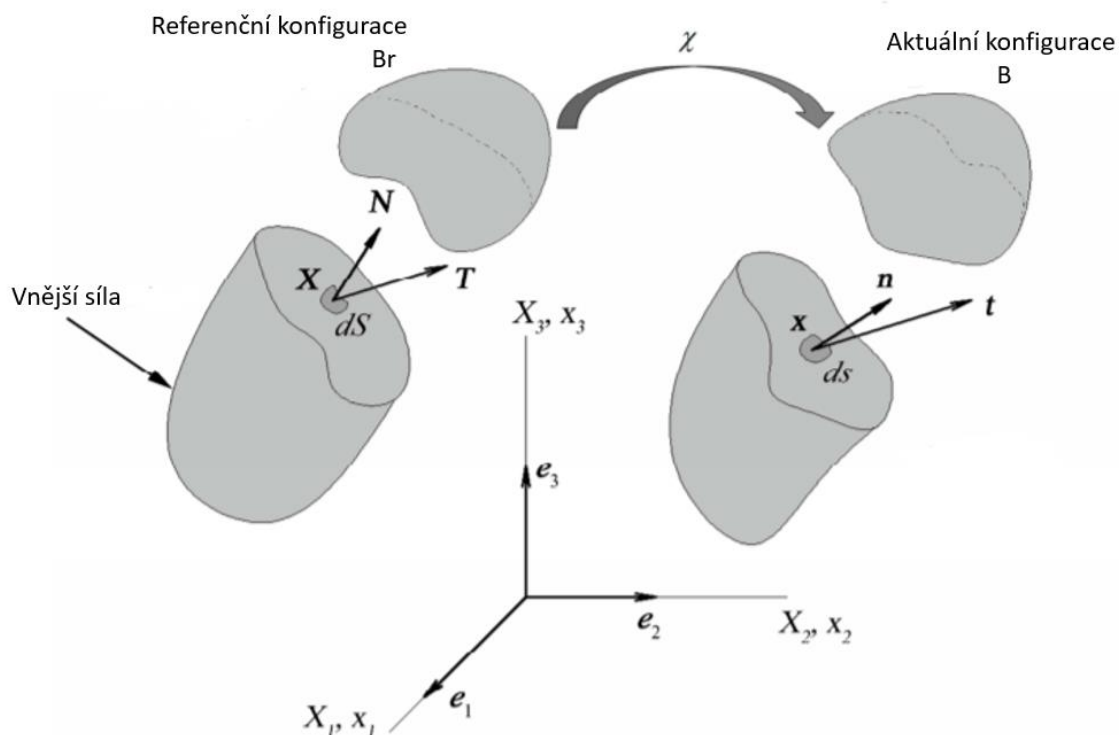
Napjatost je lokální vlastnost v bodě, pokud chci určit napětí v bodě je třeba vést pomyslný řez skrze těleso, který těleso rozděljuje na dvě části. V bodě x je vedena normála \mathbf{n} k rovině řezu. Vše je znázorněno na Obrázku 31. Aby těleso bylo v rovnováze musí se zavést vektor intenzity vnitřních sil \mathbf{t} , který nazýváme napěťový vektor a platí pro něj:

$$d\mathbf{f} = \mathbf{t}ds = \mathbf{T}dS \quad (20)$$

kde ds je elementární okolí bodu x a $d\mathbf{f}$ je vektor vnitřní síly, díky němu je řez v rovnováze.

Předpokladem je, že vektor intenzity vnitřních sil závisí pouze na čase, poloze a normále řezu a proto můžeme psát:

$$\mathbf{t} = \mathbf{t}(x, t, \mathbf{n}) \quad \mathbf{T} = \mathbf{T}(X, t, \mathbf{N}) \quad (21)$$



Obrázek 31: Schéma referenční a aktuální konfigurace [41].

Tensor napětí σ (Cauchyovo neboli skutečné) je zobrazení $\sigma : \mathbf{n} \rightarrow \mathbf{t}$ a transformace \mathbf{P} se nazývá tensor prvního Piolova - Kirchhoffova napětí. A platí:

$$\mathbf{t}_i = \sigma_{ij} \mathbf{n}_j \quad (22)$$

$$\begin{pmatrix} t_1 \\ t_2 \\ t_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} n_1 \\ n_2 \\ n_3 \end{pmatrix} \quad (23)$$

$$\mathbf{T}_i = \mathbf{P}_{ij} \mathbf{N}_j \quad (24)$$

Pomocí Nansonovy věty, která ukazuje jak souvisí vektorový prvek nekonečně malé oblasti ds a dS v aktuální a referenční oblasti, můžeme získat vztah mezi σ a \mathbf{P} .

$$\begin{aligned} \mathbf{P} &= J \sigma \mathbf{F}^{-T} & \sigma &= J^{-1} \mathbf{P} \mathbf{F}^T \\ P_{iK} &= J \sigma_{ij} F_{Kj}^{-1} & \sigma_{ij} &= J^{-1} P_{iK} F_{jK} \end{aligned} \quad (25)$$

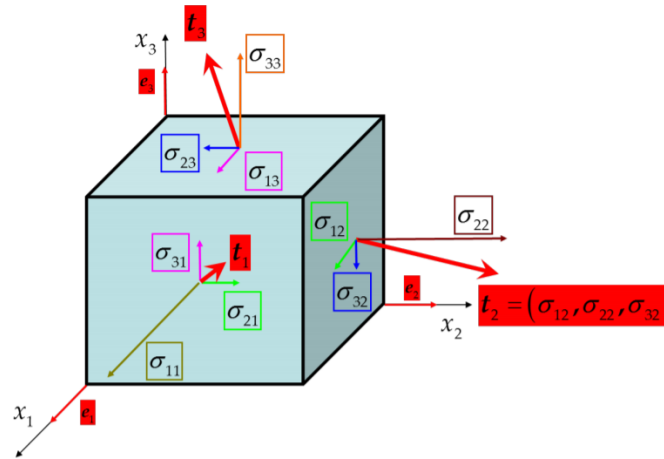
Jednotlivé složky Cauchyho tenzoru napětí σ získám projekcí podél bázových vektorů \mathbf{e}_i . Díky vztahu $\mathbf{t}_1 = \sigma \mathbf{e}_1$ získám:

$$\mathbf{t}_1 = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{21} \\ \sigma_{31} \end{pmatrix} \quad (26)$$

$$\mathbf{t}_2 = \sigma_{22}\mathbf{e}_1 + \sigma_{22}\mathbf{e}_2 + \sigma_{32}\mathbf{e}_3$$

$$\mathbf{t}_3 = \sigma_{13}\mathbf{e}_1 + \sigma_{23}\mathbf{e}_2 + \sigma_{33}\mathbf{e}_3$$

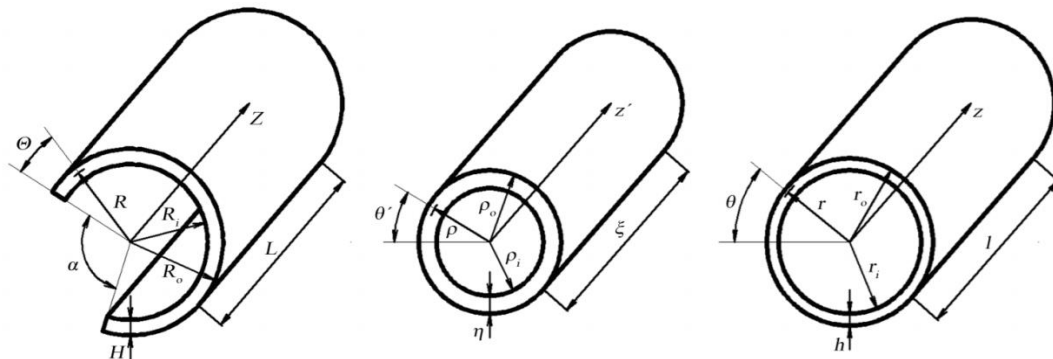
Složky na diagonále nazýváme normálové napětí a složky, které jsou mimo diagonálu pak smyková napětí. Rozložení napětí je na Obrázku 32.



Obrázek 32: Rozložení napětí [23].

7.3. Popis kinematiky

Žílu považují za homogenní, nestlačitelnou válcovou silnostěnnou trubku s uzavřenými konci a s obvodovým zbytkovým napětím. Předpokladem je, že zbytková napětí se uvolní radiálním řezem skrze prstýnek viz. Obrázek 33. Prstýnek se poté rozevře o úhel, který nazýváme úhlem rozevření.



Obrázek 33: Přechod z referenční konfigurace do zdeformované konfigurace [34].

Nejprve chci převést rozevřený prstýnek na zavřené mezikruží. Mám polohový vektor před deformací, který se převede na $f_1: \xi \rightarrow X$, vektory mají složky $f_1: (\rho, \phi, \zeta) \rightarrow (R, \Theta, Z)$. Zdeformovaný poloměr závisí na původním poloměru ρ . $R = R(\rho)$

$$R = R(\rho) \quad (27)$$

Obvodový úhel Θ po deformaci je vyjádřen jako:

$$\Theta = \frac{2\pi}{2\pi - 2\alpha} \phi \quad (28)$$

Dále předpokládám, že během zavírání prstýnku může dojít ke změně souřadnice Z :

$$Z = \delta\zeta \quad (29)$$

$$\mathbf{F}_1 = \frac{df_1(\xi)}{d\xi} = \begin{pmatrix} \frac{\partial R}{\partial \rho} & \frac{1}{\rho} \frac{\partial R}{\partial \phi} & \frac{\partial R}{\partial \zeta} \\ R \frac{\partial \Theta}{\partial \rho} & R \frac{\partial \Theta}{\partial \phi} & R \frac{\partial \Theta}{\partial \zeta} \\ \frac{\partial Z}{\partial \rho} & \frac{1}{\rho} \frac{\partial Z}{\partial \phi} & \frac{\partial Z}{\partial \zeta} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\partial R(\rho)}{\partial \rho} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{R(\rho)}{\rho} \frac{\pi}{\pi - \alpha} & 0 \\ 0 & 0 & \delta \end{pmatrix} \quad (30)$$

$$= \begin{pmatrix} \lambda_{R\rho} & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_{\Theta\phi} & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_{Z\zeta} \end{pmatrix}$$

Poté následuje kinematika nafouknutí, natažení. Polohový vektor $f_2: \mathbf{X} \rightarrow \mathbf{x}$, jehož složky jsou $f_2: (R, \Theta, Z) \rightarrow (r, \theta, z)$.

Platí:

$$\begin{aligned} r &= r(R) \\ \theta &= \Theta \\ z &= \lambda Z \end{aligned} \quad (31)$$

$$\mathbf{F}_2 = \frac{df_2(\mathbf{X})}{d\mathbf{X}} = \begin{pmatrix} \frac{\partial r}{\partial R} & \frac{1}{R} \frac{\partial r}{\partial \Theta} & \frac{\partial r}{\partial Z} \\ r \frac{\partial \theta}{\partial R} & r \frac{\partial \theta}{\partial \Theta} & r \frac{\partial \theta}{\partial Z} \\ \frac{\partial z}{\partial R} & \frac{1}{R} \frac{\partial z}{\partial \Theta} & \frac{\partial z}{\partial Z} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\partial r(R)}{\partial R} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{r(R)}{R} & 0 \\ 0 & 0 & \lambda \end{pmatrix} \quad (32)$$

$$= \begin{pmatrix} \lambda_{rR} & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_{\theta\theta} & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_{zz} \end{pmatrix}$$

Výsledný provozní stav:

$$\mathbf{F} = \mathbf{F}_2 \mathbf{F}_1 = \begin{pmatrix} \frac{\partial r(\rho)}{\partial \rho} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\pi}{\pi - \alpha} \frac{r}{\rho} & 0 \\ 0 & 0 & \lambda \delta \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \lambda_{r\rho} & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_{\theta\phi} & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_{z\zeta} \end{pmatrix} \quad (33)$$

7.3.1. Popis napjatosti

Rovnice rovnováhy: Pro kvazistatiku jsme zanedbali objemové síly a setrvačnost.

$$\begin{aligned} \frac{\partial \sigma_{rr}}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial \sigma_{r\theta}}{\partial \theta} + \frac{\partial \sigma_{rz}}{\partial z} + \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{r} &= 0 \\ \frac{\partial \sigma_{r\theta}}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial \sigma_{\theta\theta}}{\partial \theta} + \frac{\partial \sigma_{\theta z}}{\partial z} + 2 \frac{\sigma_{r\theta}}{r} &= 0 \\ \frac{\partial \sigma_{rz}}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial \sigma_{\theta z}}{\partial \theta} + \frac{\partial \sigma_{zz}}{\partial z} + \frac{\sigma_{rz}}{r} &= 0 \end{aligned} \quad (34)$$

Deformační gradient má diagonální tvar, tím pádem budou deformace diagonální. Smykové složky jsou nulové. Předpokládám i diagonální složky napjatosti. Tím pádem zanedbávám existenci smykových složek napětí. Po zanedbání získám rovnici (35):

$$\begin{aligned} \frac{\partial \sigma_{rr}}{\partial r} + \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{r} &= 0 \\ \frac{1}{r} \frac{\partial \sigma_{\theta\theta}}{\partial \theta} &= 0 \\ \frac{\partial \sigma_{zz}}{\partial z} &= 0 \end{aligned} \quad (35)$$

Dále přijmu předpoklad, že složky napjatosti budou záviset pouze na poloměru. Tímto předpokladem získám:

$$\frac{\partial \sigma_{rr}}{\partial r} + \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{r} = 0 \quad (36)$$

Tuto diferenciální rovnici (36) převedu do jednoduchého tvaru:

$$d\sigma_{rr} = \frac{-\sigma_{rr} + \sigma_{\theta\theta}}{r} dr \quad (37)$$

Uvážím okrajové podmínky a to, že $\sigma_{rr}(r_i) = -P$ a $\sigma_{rr}(r_o) = 0$. Integrací získám:

$$\int_{\sigma_{rr}(r_i)}^{\sigma_{rr}(r_o)} d\sigma_{rr} = \sigma_{rr}(r_o) - \sigma_{rr}(r_i) = 0 + P = P \quad (38)$$

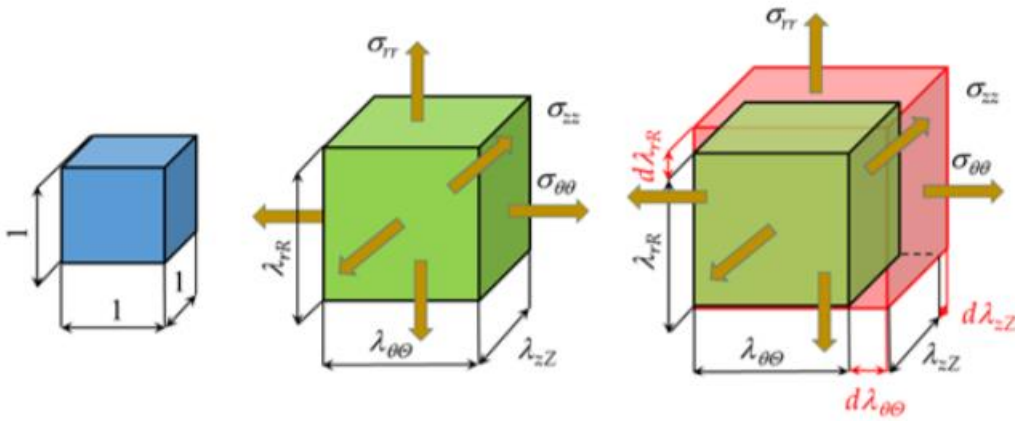
Dosažením rovnice (38) do rovnice (37) vznikne vztah:

$$P = \int_{r_i}^{r_o} \frac{\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr}}{r} dr \quad (39)$$

Deformační energie je funkce tří proměnných $W = W(\lambda_{rR}, \lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zZ})$. A cílem je jí zredukovat na funkci dvou proměnných $\hat{W} = (\lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zZ})$. K tomu využiji podmínku nestlačitelnosti $\lambda_{rR}\lambda_{\theta\theta}\lambda_{zZ} = 1$. Odvození:

$$\begin{aligned} \lambda_{\theta\theta}\lambda_{zZ}d\lambda_{rR} + \lambda_{rR}\lambda_{zZ}d\lambda_{\theta\theta} + \lambda_{rR}\lambda_{\theta\theta}d\lambda_{zZ} &= 0 \Rightarrow \\ \lambda_{\theta\theta}\lambda_{zZ}d\lambda_{rR} &= -\lambda_{rR}\lambda_{zZ}d\lambda_{\theta\theta} - \lambda_{rR}\lambda_{\theta\theta}d\lambda_{zZ} \end{aligned} \quad (40)$$

Vztah (35) porovnám s úvahou o změně napjatosti:



Obrázek 34: Vytknutý element, který ukazuje změnu napjatosti [39].

Přírůstek hustoty deformační energie je dán vztahem:

$$dW = \lambda_{\theta\theta}\lambda_{zZ}\sigma_{rr}d\lambda_{rR} + \lambda_{rR}\lambda_{zZ}\sigma_{\theta\theta}d\lambda_{\theta\theta} + \lambda_{rR}\lambda_{\theta\theta}\sigma_{zZ}d\lambda_{zZ} \quad (41)$$

Dosažením rovnice (40) do rovnice (41) mohu poté vyjádřit dW jako:

$$dW = \lambda_{rR}\lambda_{zZ}(\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr})d\lambda_{\theta\theta} + \lambda_{rR}\lambda_{\theta\theta}(\sigma_{zZ} - \sigma_{rr})d\lambda_{zZ} \quad (42)$$

Pro deformační energii $\widehat{W} = (\lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zz})$ pak můžu psát:

$$d\widehat{W} = \frac{\partial\widehat{W}}{\partial\lambda_{\theta\theta}}d\lambda_{\theta\theta} + \frac{\partial\widehat{W}}{\partial\lambda_{zz}}d\lambda_{zz} \quad (43)$$

A jelikož se vztahy (42) a (43) rovnají a odpovídají si člen po členu tak dostávám:

$$\begin{aligned} \lambda_{rR}\lambda_{zz}(\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr}) &= \frac{\partial\widehat{W}}{\partial\lambda_{\theta\theta}} \\ \lambda_{rR}\lambda_{\theta\theta}(\sigma_{zz} - \sigma_{rr}) &= \frac{\partial\widehat{W}}{\partial\lambda_{zz}} \end{aligned} \quad (44)$$

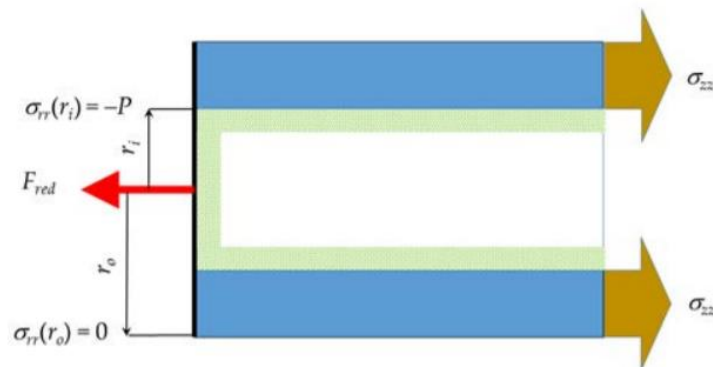
Pokud opět aplikuji podmínku nestlačitelnosti následně získám:

$$\begin{aligned} \sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr} &= \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial\widehat{W}}{\partial\lambda_{\theta\theta}} \\ \sigma_{zz} - \sigma_{rr} &= \lambda_{zz} \frac{\partial\widehat{W}}{\partial\lambda_{zz}} \end{aligned} \quad (45)$$

Rovnici (45) dosadím do (39). Tím jsem odvodila radiální rovnováhu.

$$P = \int_{r_i}^{r_o} \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial\widehat{W}}{\partial\lambda_{\theta\theta}} \frac{dr}{r} \quad (46)$$

Pro axiální rovnováhu platí:



Obrázek 35: Axiální rovnováha [41].

$$F_{red} = -\pi r_i^2 P + 2\pi \int_{r_i}^{r_o} \sigma_{zz} r dr \quad (47)$$

Konečný tvar axiální rovnováhy je:

$$F_{red} = -\pi \int_{r_i}^{r_o} \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial \widehat{W}}{\partial \lambda_{\theta\theta}} r dr + 2\pi \int_{r_i}^{r_o} \lambda_{zz} \frac{\partial \widehat{W}}{\partial \lambda_{zz}} r dr \quad (48)$$

$$= \pi \int_{r_i}^{r_o} \left(2\lambda_{zz} \frac{\partial \widehat{W}}{\partial \lambda_{zz}} - \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial \widehat{W}}{\partial \lambda_{\theta\theta}} \right) r dr$$

7.4. Materiálové parametry

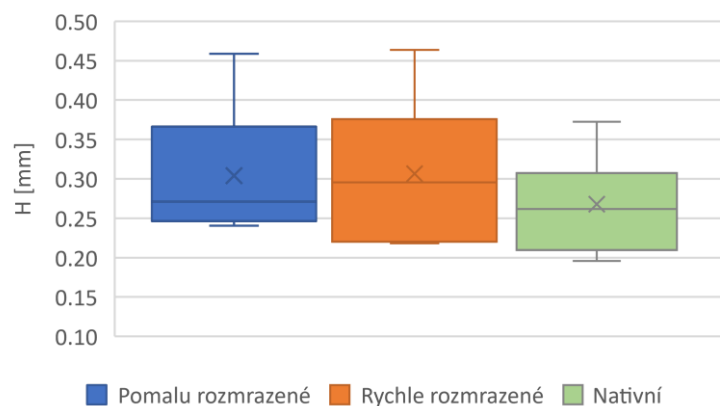
Materiálové parametry $\alpha, \mu, \beta, k_1, k_2, \kappa$ konstitutivního modelu byly stanoveny přizpůsobením predikcí modelu na základě (46) a (48) experimentálními údaji. Objektivní funkce Q byla minimalizována v programu Maple 2020. P^{mod} a P^{exp} označují vnitřní tlak predikovaný a vnitřní tlak získaný z experimentu. To samé platí pro axiální sílu F^{mod} a F^{exp} . F_{redj}^{exp} je díky nízké hmotnosti zátky považována za nulovou. w_P a w_F jsou váhové koeficienty a n je počet pozorování.

$$Q = \sum_{j=1}^n \left\{ [w_P (P_j^{mod} - P_j^{exp})]^2 + [w_F (F_{redj}^{mod} - F_{redj}^{exp})]^2 \right\} \quad (49)$$

8. VÝSLEDKY

8.1. Rozměrová analýza vzorků

Jako první jsem pomocí krabicových grafů porovnála tloušťky stěn H viz. Obrázek 36, průřez S a také vnitřní poloměr. Ten je důležitý pro lékaře, určuje světlost a podle toho si lékaři vybírají štěpy pro transplantaci.



Obrázek 36: Porovnání tloušťky stěn experimentálních vzorků.

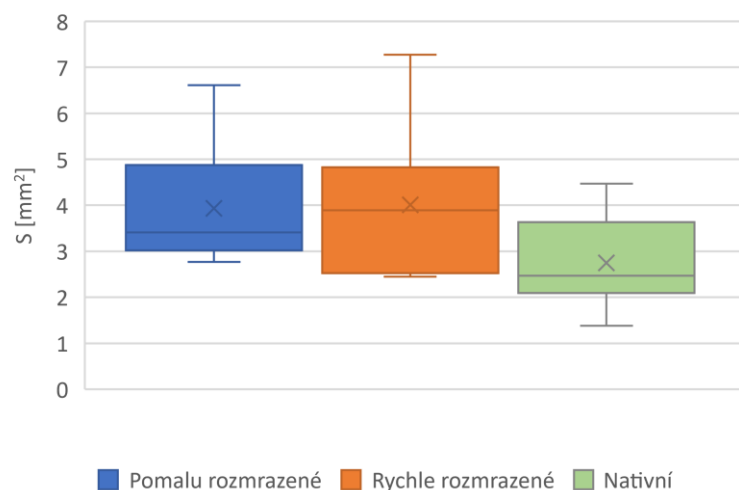
Dále jsem provedla t-test v Excelu abych zjistila zda se jednotlivé tloušťky liší. Použila jsem dvou výběrový t-test s nerovností rozptylů na hladině významnosti 95%, kde hodnota

pravděpodobnosti $p = 0,05$. Hodnota p při porovnání tloušťky mezi skupinami nativních žil vs. rychle rozmrazených a pomalu rozmrazených vs. rychle rozmrazených žil vyšla vyšší než 0,05 což znamená, že se jednotlivé tloušťky signifikantně neliší. Při porovnání nativních a pomalu rozmrazených vyšlo $p < 0,05$, což znamená, že se jednotlivé tloušťky od sebe signifikantně liší viz Tabulka 4. Při porovnávání nativních vs. rychle rozmrazených se pohybujeme na hranici hodnoty p .

	p
Nativní vs. pomalu rozmrazené	0,019
Nativní vs. rychle rozmrazené	0,054
Pomalou rozmrazené vs. rychle rozmrazené	0,963

Tabulka 4: Tabulka porovnání tlouštěk nativních žil, pomalu rozmrazených a rychle rozmrazených.

To samé jsem provedla i pro průřez S viz. Obrázek 37.

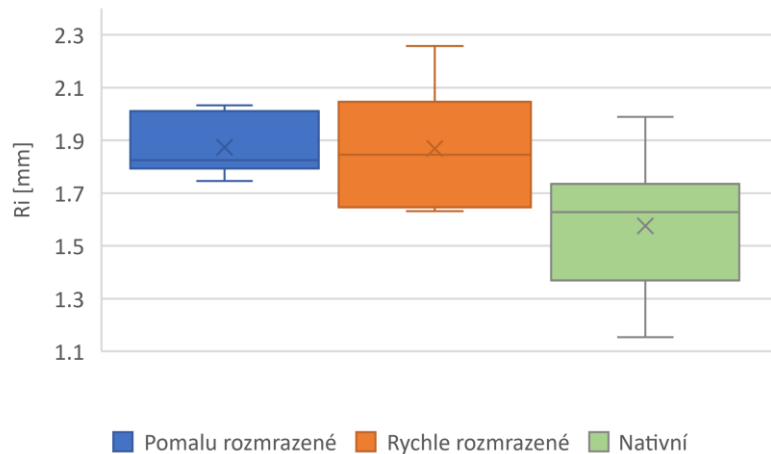


Obrázek 37: Porovnání průřezů experimentálních vzorků.

	p
Nativní vs. pomalu rozmrazené	0,111
Nativní vs. rychle rozmrazené	0,151
Pomalou rozmrazené vs. rychle rozmrazené	0,933

Tabulka 5: Porovnání průřezů nativních žil, pomalu rozmrazených a rychle rozmrazených.

Pro průřez už jsem dostala odlišné výsledky. Všechna $p > 0,05$ viz Tabulka. Díky čemuž mohu říci, že se jednotlivé průřezy od sebe signifikantně neliší.



Obrázek 38: Porovnání vnitřních poloměrů experimentálních vzorků.

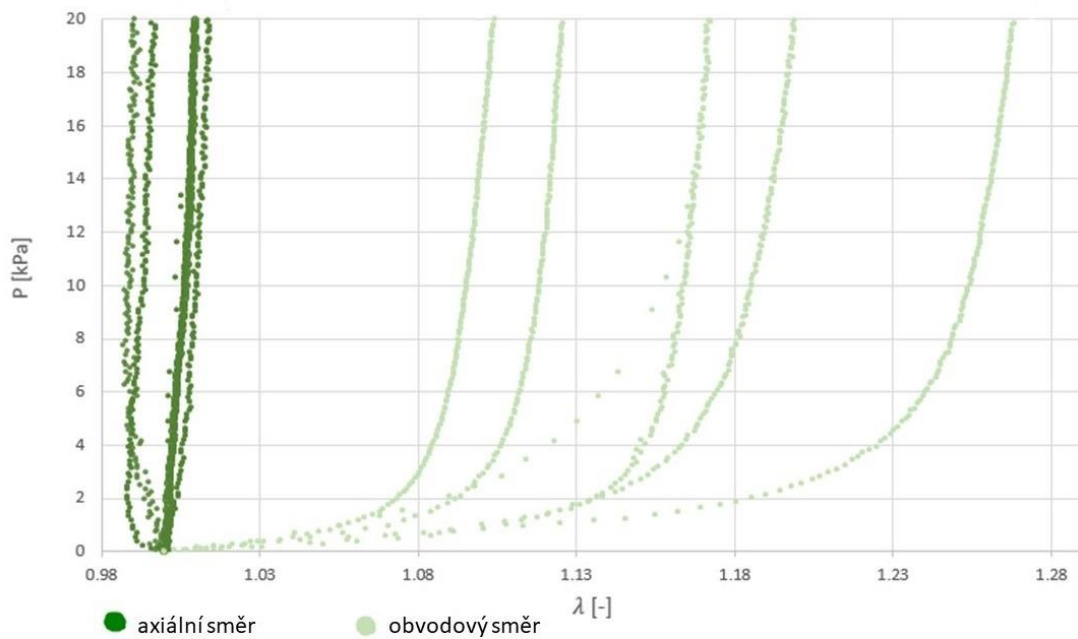
	p
Nativní vs. pomalu rozmrazené	0,018
Nativní vs. rychle rozmrazené	0,054
Pomalu rozmrazené vs. rychle rozmrazené	0,963

Tabulka 6: Porovnání vnitřních poloměrů nativních žil, pomalu rozmrazených a rychle rozmrazených.

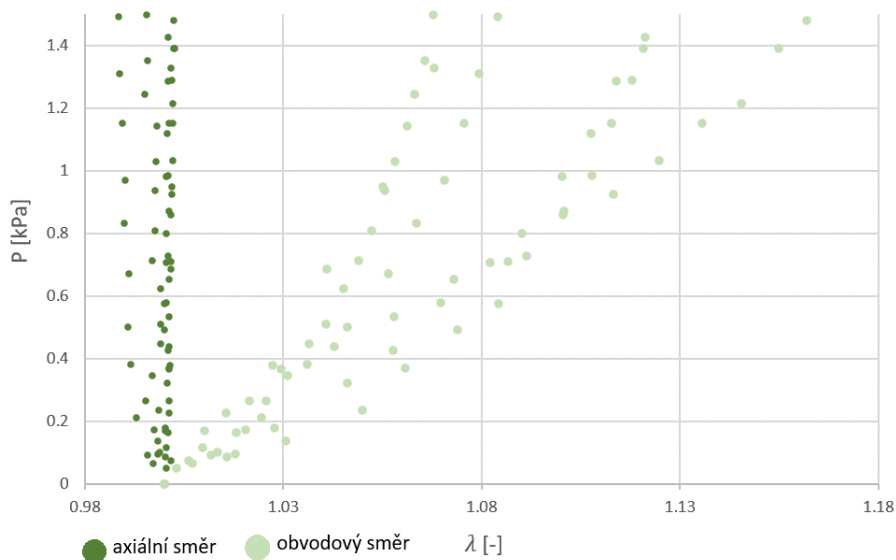
Jako poslední jsem porovnála vnitřní poloměr viz. Obrázek 38. Dle výsledků t- testu v Tabulce 6 můžu říci, že se významně liší pouze vnitřní poloměry pokud porovnáme nativní žíly a pomalu rozmrazené. Stejně jako u porovnání tloušťky stěn se u nativních vs. rychle rozmrazených dostáváme na hranici hodnoty p .

8.2. Materiálové charakteristiky tlak deformace

Naměřená data z experimentu jsem vykreslila v grafu na Obrázku 39. Závislost tlaku na protažení pro nativní žíly. Data ukazují nelineární závislost. Tmavá barva znázorňuje axiální směr a světlá barva obvodový směr. Na Obrázku 40 jsem vykreslila také závislost tlaku na protažení ale pouze v oblasti žilního zatížení.

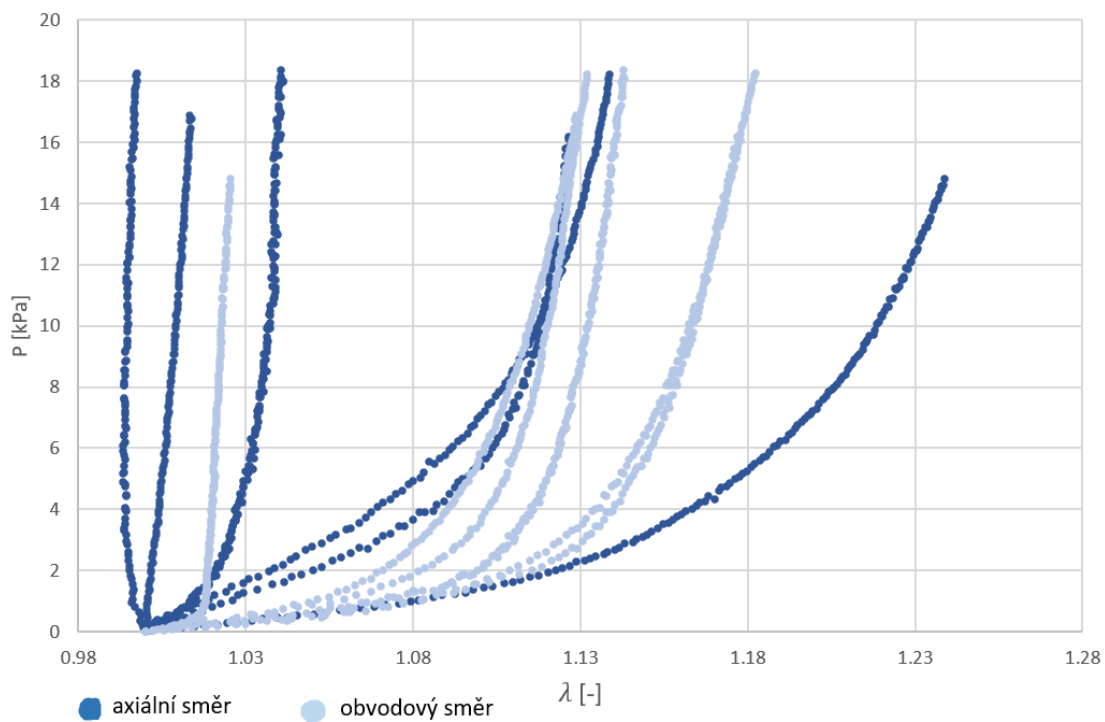


Obrázek 39: Závislost tlaku na protažení pro nativní žíly.

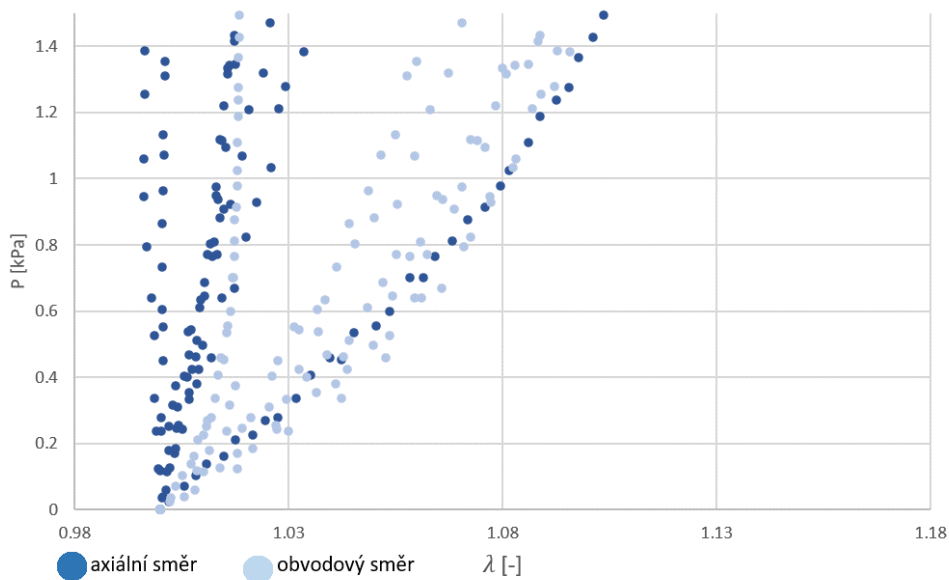


Obrázek 40: Závislost tlaku na streči pro nativní vzorky v žilním zatížení.

Totéž jsem udělala i pro žíly, které byly kryoprezervované a následně rozmrazeny pomalu viz Obrázek 41 a Obrázek 42. U pomalu rozmrazených vzorků se křivky pro vzorky v axiálním a obvodovém směru prolínají.

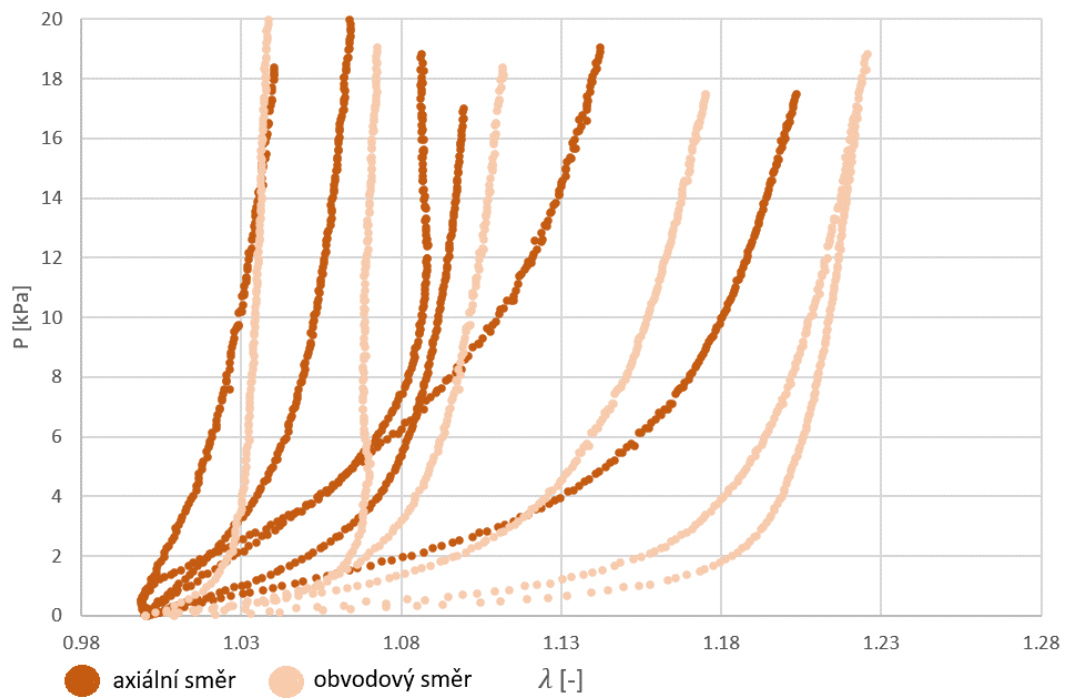


Obrázek 41: Závislost tlaku na protažení pro kryoprezervované žíly pomalu rozmražené.

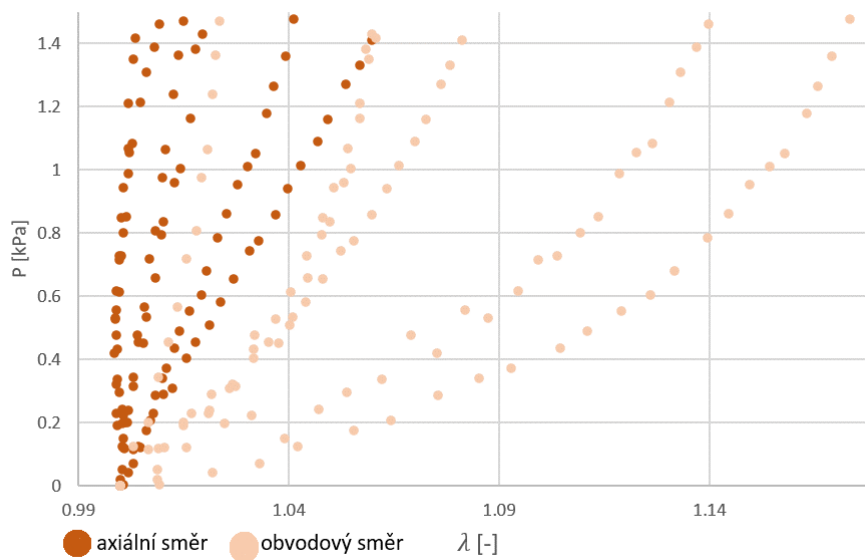


Obrázek 42: Závislost tlaku na streči pro pomalu rozmrazené vzorky v žilním zatížení.

Na Obrázku 43 a Obrázku 44 je vykreslena závislost tlaku na protažení pro kryoprezervované žíly, které byly rozmrazeny rychle.



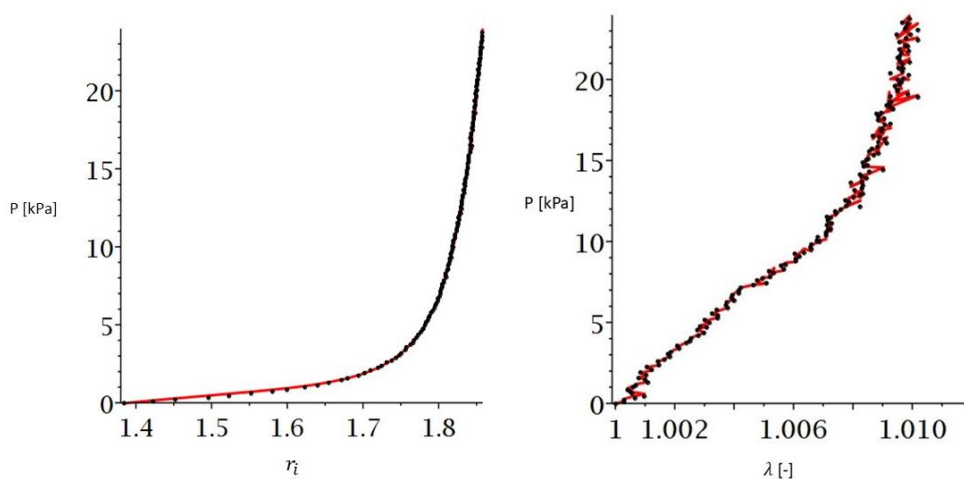
Obrázek 43: Závislost tlaku na protažení pro kryoprezervované žíly rychle rozmražené.



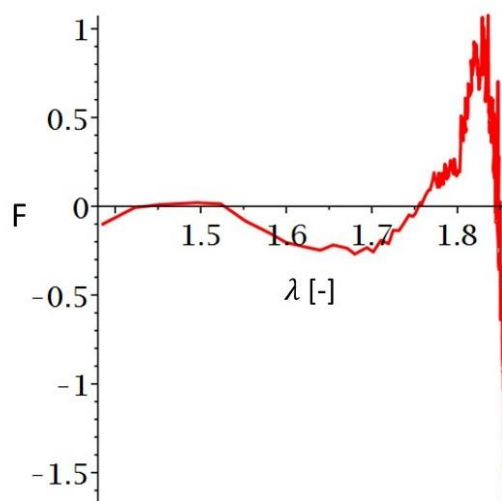
Obrázek 44: Závislost tlaku na streči pro pomalu rozmražené vzorky v žilním zatížení.

8.3. Regresní analýza

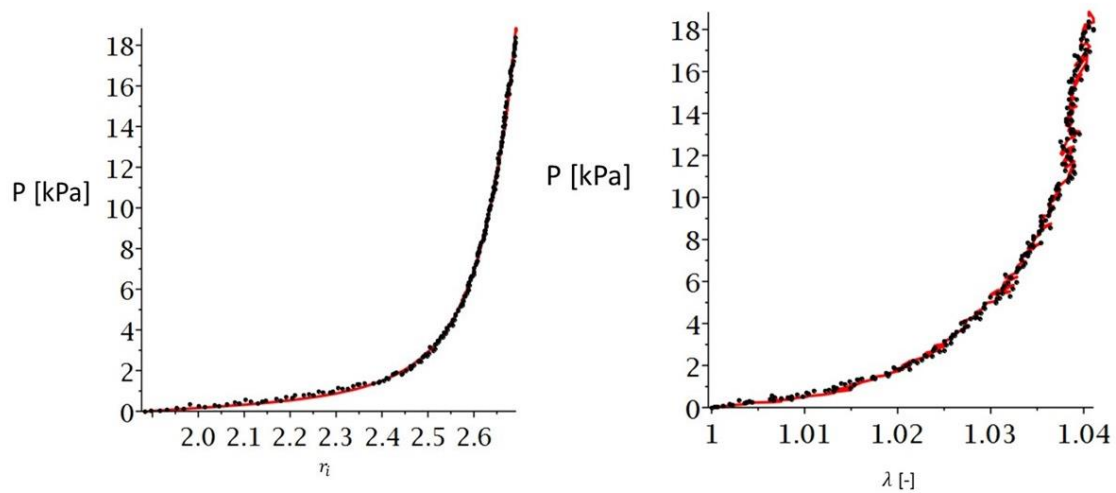
Pro ukázkou regresní analýzy, kdy jsem proložila experimentální data modelem GOH, jsem vybrala tři vzorky a to vzorek nativní žíly, žíly kryoprezervované pomalu rozmražené a žíly kryoprezervované rychle rozmražené. K řešení jsem využila program Maple 2020 a funkci NLP Solve. Tato funkce hledá minimum nelineárních systémů. Ukázky jsou na Obrázku 45 a 46 pro nativní vzorek. Na Obrázku 47 a 48 pro vzorek pomalu rozmražený a na Obrázku 49 a 50 je vzorek rychle rozmražený.



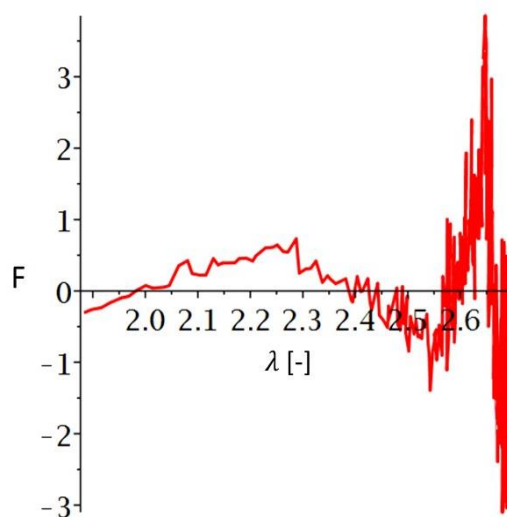
Obrázek 45: Regresní analýza nativního vzorku V4n, závislost tlaku na vnitřním poloměru a závislost tlaku na axiálním streči, černá barva – experimentální data, červená- model.



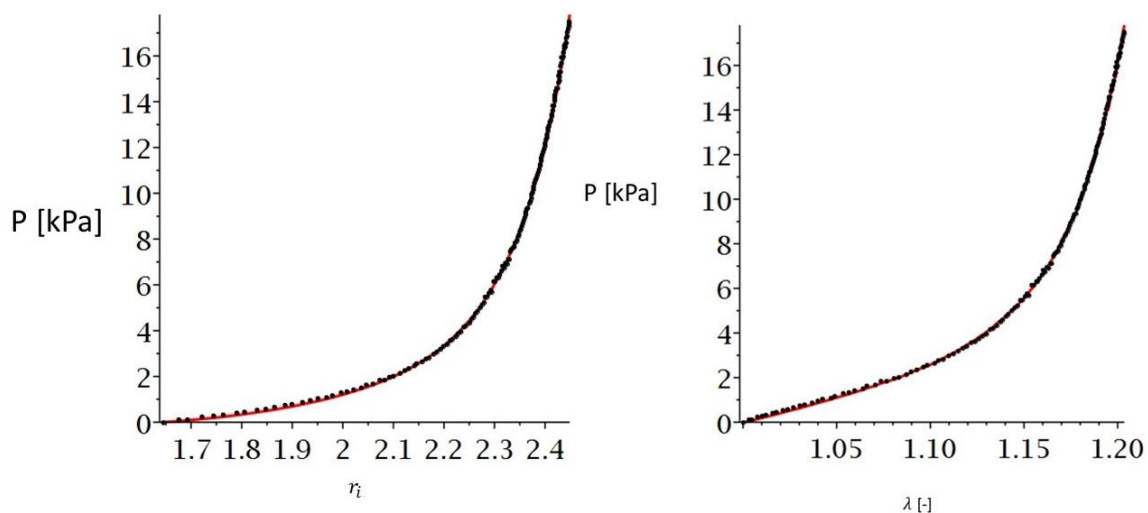
Obrázek 46: Regresní analýza nativního vzorku V4n, závislost síly na streči.



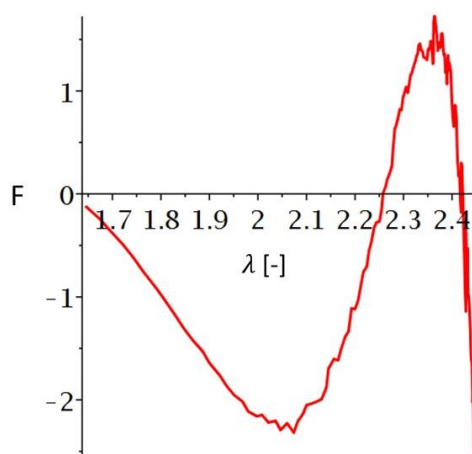
Obrázek 47: Regresní analýza pro kryoprezervovaný vzorek rozmražený pomalu V8. Závislost tlaku na vnitřním poloměru a závislost tlaku na axiálním streči, černá barva – experimentální data, červená model.



Obrázek 48: Regresní analýza kryoprezervovaného vzorku pomalu rozmraženého V8, závislost síly na streči.



Obrázek 49: Regresní analýza pro kryoprezervovaný vzorek rozmražený rychle V24. Závislost tlaku na vnitřním poloměru a závislost tlaku na axiálním streči, černá barva – experimentální data, červená – model.



Obrázek 50: Regresní analýza kryoprezervovaného vzorku rychle rozmraženého V24, závislost síly na streči.

Získané parametry:

	α	β	k_1	k_2	κ	μ
Nativní	1,471	0,738	2,870	83,752	0,141	6,437
Pomalu rozmražený	1,397	0,696	22,334	233,148	0,300	1,241
Rychle rozmražený	0,462	0,432	23,564	13,713	0,267	0,794

Tabulka 7: Získané parametry pro nativní vzorek, pomalu rozmražený vzorek a rychle rozmražený vzorek.

Regresní analýzu jsem provedla pro každý vzorek abych získala ke každému vzorku materiálové parametry. Pouze vzorek V13n se nepovedlo namodelovat, protože vykazoval artefakt

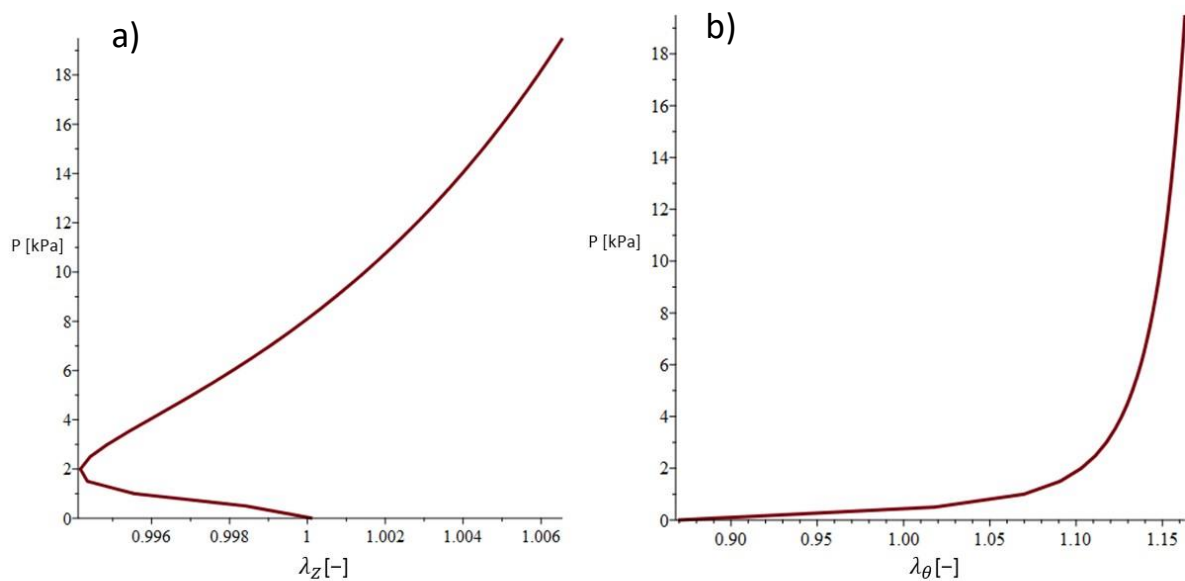
v experimentálních datech. Při regresní analýze je výsledek závislý na počátečním bodu iterace, který jsem si zvolila. Proto je možné, že existuje jiné řešení, které by bylo lepší.

Mým úkolem bylo též získat jednotlivé materiálové parametry. Do Tabulky jsem shrnula průměrné hodnoty materiálových parametrů a jejich směrodatné odchylky.

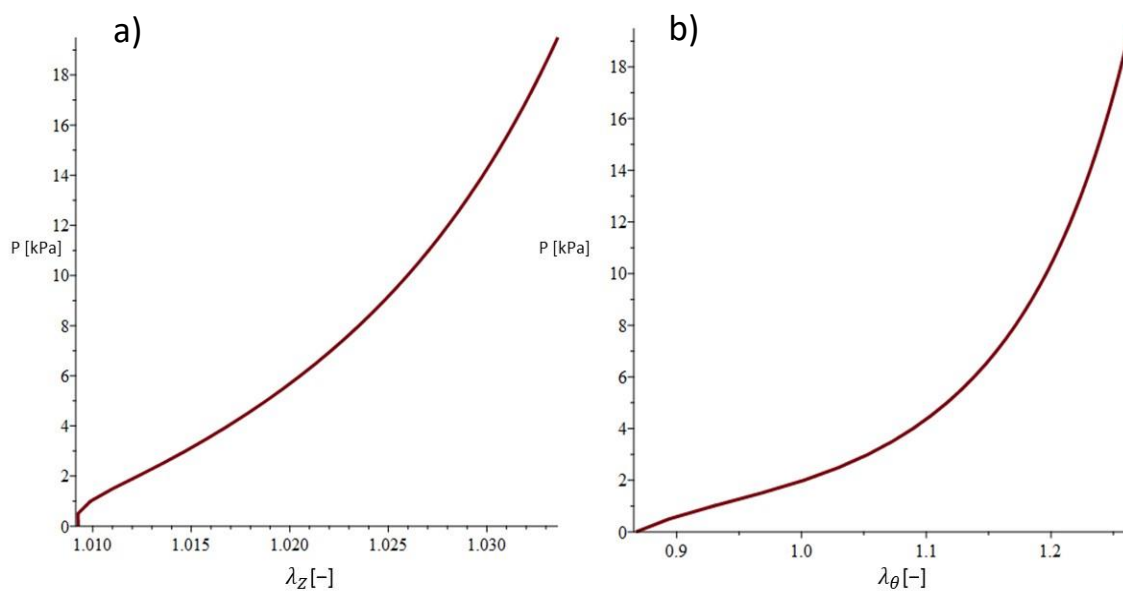
	α	SD	β	SD	k_1	SD	k_2	SD	κ	SD	μ	SD
Nativní	1,14	1,30	0,76	0,04	3,75	2,22	91,93	16,79	0,17	0,04	4,09	4,48
Pomalu rozmrazené	1,30	0,73	0,65	0,24	103,91	141,82	142,20	112,45	0,26	0,08	1,31	1,50
Rychle rozmrazené	0,54	0,57	0,50	0,26	24,29	13,47	60	29,77	0,26	0,06	1,37	2,33

Tabulka 8: Tabulka získaných průměrných parametrů pro žíly nativní, pomalu rozmrazené a rychle rozmrazené.

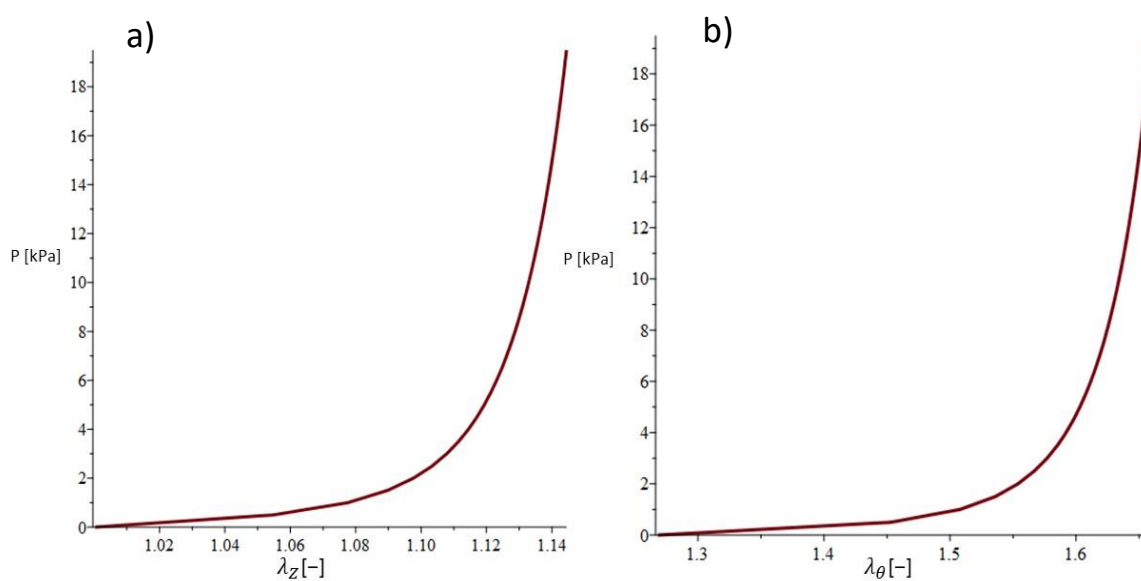
Ze středních hodnot parametrů jsem vykreslila křivku pro žíly nativní, pomalu rozmrazené a rychle rozmrazené viz. Obrázek 51, 52, 53.



Obrázek 51: Křivky z průměrných parametrů pro nativní žíly, a) axiální směr b) obvodový směr.



Obrázek 52: Křivky z průměrných parametrů pro žíly pomalu rozmrazené, a) axiální směr b) obvodový směr.

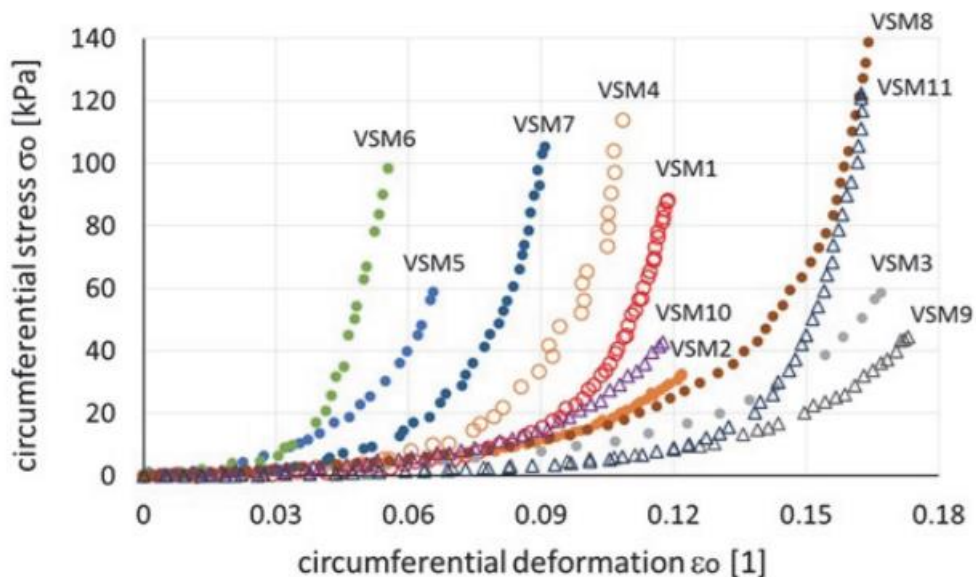


Obrázek 53: Křivky z průměrných parametrů pro žíly rychle rozmrazené, a) axiální směr b) obvodový směr.

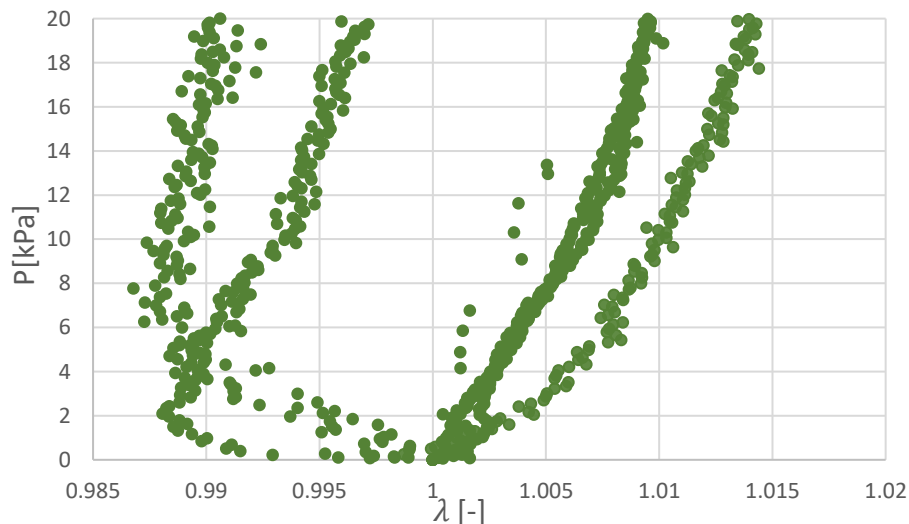
9. DISKUZE

Na Obrázku 39, 41 a 43 můžeme vidět značný rozdíl v závislosti tlaku na streči u žil nativních, pomalu rozmrazených a rychle rozmrazených. U nativních žil vidíme, že většího protažení dosahují žíly ve směru obvodovém než ve směru axiálním viz. Obrázek 39 a Obrázek 55.

Dle Obrázku 54 můžeme říci, že všechny nativní žíly se v obvodovém směru protahují a dochází zde v počátku experimentu k rychlému nárůstu deformace.

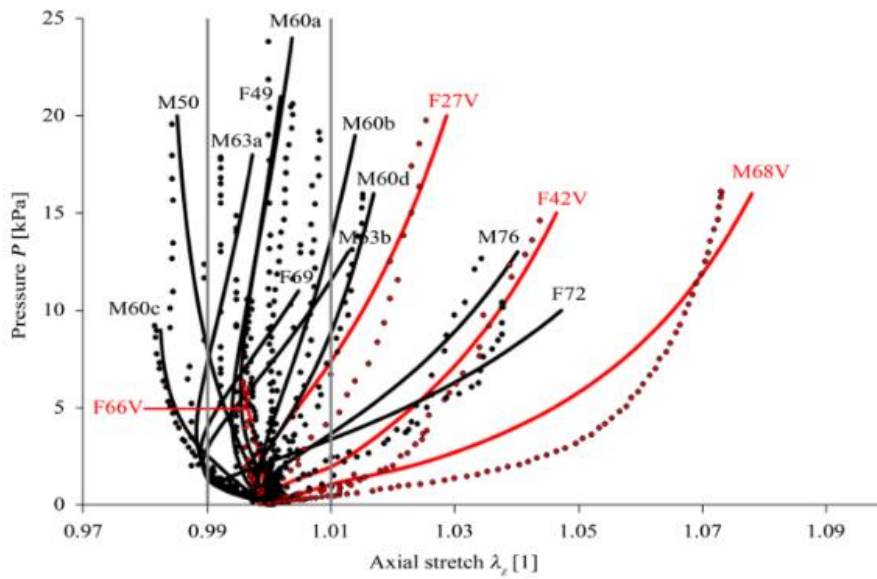


Obrázek 54: Závislost obvodového napětí na obvodové deformaci [27].

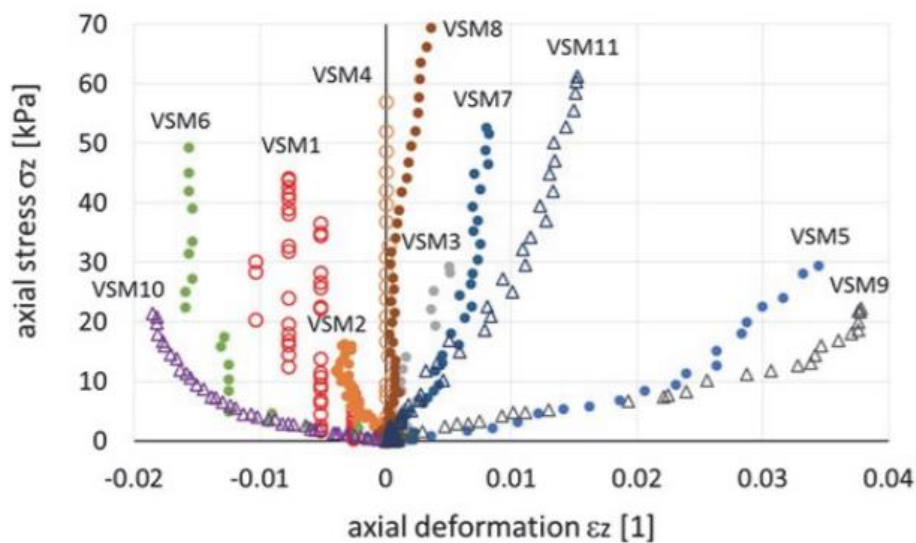


Obrázek 55: Závislost tlaku na axiálním streči pro žíly nativní (detail grafu Obrázek 39).

Z grafu na Obrázku 55 je vidět, že ve směru axiálním se žíly nedeformují jednoznačně. Některé vzorky se protáhly a jiné zase zkrátily. Což můžeme porovnat i s výsledky z literatury viz. Obrázek 56 a Obrázek 57 kde bylo dosaženo velmi podobných výsledků též pro nativní žílu *vena saphena magna*.



Obrázek 56: Závislost tlaku na axiálním streči [35].



Obrázek 57: Závislost axiálního napětí na axiální deformaci [27].

V článku [29] kryoprezervované vzorky vykazují vyšší deformace při zatížení jak ve směru obvodovém tak i ve směru radiálním jak bylo ukázáno na Obrázku 17 a Obrázku 18. Trendově se mé výsledky shodují.

Dále jsem porovnávala výsledky pro žilní zatížení, které je zhruba do 1 kPa a pro tepenné zatížení, které je od 10 do 16 kPa. Fyziologické zatížení pro *venu saphenu magnu* je v oblasti žilního tlaku. Proto pokud bychom ji například našly na tepnu, začne žíla snášet vyšší tlak než původní fyziologický tlak a dochází zde k remodelaci stěny žíly. Může dojít k jejímu zesílení, ale také může dojít ke změnám, které vedou k selhání náhrady.

V tomto případě jde o to, že žíly mají chlopně a těmi se vrací odkysličená krev směrem do srdce. V žilách není takový tlak, protože krev se pohybuje přes chlopně, když sval semkne žílu. Kdežto krev v tepnách pohání srdce a krev je rozváděna po celém těle, proto je zde i velký tlak, aby se krev dostala všude tam, kam má. Grafy v oblasti žilního tlaku jsou znázorněny na Obrázku 40, 42, 44. U nativních vzorků na Obrázku 40 je vidět směrový rozdíl mezi axiálním a obvodovým strečem. Anizotropie je vidět již při nízkém zatížení. U pomalu rozmrazených Obrázek 42 a rychle rozmrazených Obrázek 44 už při nízkém žilním zatížení se obvodové a axiální křivky k sobě přibližují a prolínají se.

Také jsem zjistila průměrné parametry pro vzorky nativní, pomalu rozmrazené a rychle rozmrazené. Z nich jsem vykreslila závislost tlaku na obvodovém streči a závislost tlaku na axiálním streči, aby mi dvě křivky reprezentovaly celou skupinu. Pro nativní vzorky na Obrázku 51 je patrné, že v axiálním směru dochází i ke zkracování vzorků. V axiálním směru se vzorky téměř nedeformují. Deformace se pohybuje v rozmezí $\pm 0,6$ %. V obvodovém směru je dosaženo deformace ± 15 %. U nativních vzorků se dosahuje maximálního obvodového streče kolem 1,15.

Pro pomalu rozmrazené vzorky viz. Obrázek 52 je dosaženo v axiálním směru streče 1,035 což je výrazný rozdíl oproti nativním vzorkům. Vzorky pomalu rozmrazené jsou poddajnější. V obvodovém směru dosahuje streč 1,25 což není tak velký rozdíl oproti nativním vzorkům.

Křivky na Obrázku 53 dokazují, že při deformaci kryoprezervovaných vzorků rychle rozmrazených docházelo k největším hodnotám deformace. Maximálního streče bylo dosaženo ve směru obvodovém což bylo kolem 1,65. Díky tomu mohu říci, že vzorky, které byly rychle rozmrazeny se deformují výrazně více oproti nativním.

10.ZÁVĚR

V této práci byly testovány vzorky *VSM* pomocí inflačně extenzního testu a byly to vzorky nativní, pomalu rozmrazené a rychle rozmrazené. Získaná experimentální data byla proložena hyperelastickým nelineárním anizotropním GOH modelem. V potaz jsem též brala úhel rozevření α , který značí, že céva je zbytkově napjatá.

Tloušťky stěn a vnitřní poloměry se liší mezi nativními a pomalu rozmrazenými vzorky kdežto průřezy se neliší. Nativní vzorky se při deformaci v axiálním směru zkracují nebo protahují, ale vzorky kryoprezervované se vždy protahují.

Cílem práce bylo zjistit, zda má kryoprezervace vliv na mechanické vlastnosti žíly *VSM*. Bylo dosaženo výsledku, že kryoprezervace a následné rozmrazení mají vliv na mechanické vlastnosti. Konkrétně hlavně rychlost rozmrazení má vliv na mechanické vlastnosti při kvazistatickém zatěžování vnitřním tlakem. Toto tvrzení je nejlépe vidět ve směru axiálním. Vykazují to jak experimentální data tak i reprezentativní modelové křivky, které jsem získala pomocí modelování.

Závěry z bakalářské práce [6] jsou velmi podobné mým závěrům. Tedy z toho plyne, že pro modelování žil bylo dosaženo obdobných výsledků pokud se céva uvažovala jako tenkostěnná válcová skořepina nebo silnostěnná válcová nádoba.

Jelikož se u nás kryoprezervované vzorky používají od roku 2011, je potřeba nadále zkoumat jejich vlastnosti a rozšířit pozorování o další vzorky.

11.ZDROJE

- [1] MERKUNOVÁ, Alena a Miroslav OREL. *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory*. Praha: Grada, 2008. Psyché (Grada). ISBN 978-80-247-1521-6.
- [2] Čihák, R., 2016. *Anatomie 3*. Praha: Grada.
- [3] HANZLOVÁ, Jitka a Jan HEMZA. *Základy anatomie soustavy dýchací, srdečně cévní, lymfatického systému, kůže a jejich derivátů III*. Brno: Masarykova univerzita, 2007. ISBN 978-80-210-4360-2.
- [4] ČAPEK, Lukáš, Petr HÁJEK a Petr HENYŠ. *Biomechanika člověka*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0367-6.
- [5] Cévy – WikiSkripta. [online].[cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/C%C3%A9vy>
- [6] Vimrová, Anežka. *Vliv kryogenního skladování na mechanické vlastnosti cévních štěpů při kvazistatickém zatěžování*. České vysoké učení technické v Praze. Praha, 2019. Bakalářská práce.
- [7] Horný, L., 2016. *Biomechanika I - Krevní oběh a mechanika cév* [online]. [cit. 2021-01-28] Dostupné z : <http://users.fs.cvut.cz/~hornyluk/files/Biomechanika-krevniho-obehu-a-nahrada-aortalni-chlopne.pdf>
- [8] LÜLLMANN-RAUCH, Renate. *Histologie*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3729-4.
- [9] VESELKA, Josef. *Ischemická choroba srdeční: základní informace pro pacienty*. Brno: Facta Medica, 2009. ISBN 978-80-904260-4-7.
- [10] ZEMAN, Miroslav a Zdeněk KRŠKA. *Speciální chirurgie*. 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2014. ISBN 978-80-7492-128-5.
- [11] VYHNÁNEK, František. *Chirurgie III: pro střední zdravotnické školy*. 2., přeprac. vyd. Praha: Informatorium, 2003. ISBN 80-7333-009-1.
- [12] KRAJÍČEK, Milan. *Chirurgická a intervenční léčba cévních onemocnění*. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-0607-8.
- [13] Špaček M, Měřička P, Janoušek L, Štádl P, Adamec M, Vlachovský R, Guňka I, Navrátil P, Thieme F, Špunda R, Burkert J, Staffa R, Němec P, Lindner J. *Current vascular allograft procurement, cryopreservation and transplantation techniques in the Czech Republic*. Adv Clin Exp Med. 2019 Apr;28(4):529-534. doi: 10.17219/acem/90037. PMID: 30684317.
- [14] Špaček, M., Měřička, P., Janoušek, L. et al. *Organization model for allotransplantations of cryopreserved vascular grafts in Czech Republic*. Cell Tissue Bank **19**, 437–445 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10561-018-9691-4>.
- [15] David E. Pegg, Monica C. Wusteman, Serena Boylan, *Fractures in Cryopreserved Elastic Arteries*, Cryobiology, Volume 34, Issue 2, 1997, Pages 183-192, ISSN 0011-2240, <https://doi.org/10.1006/cryo.1996.1997>.

- [16] Hughes, J.. "The study of cardiovascular tissue processing in the United Kingdom." (2008).
- [17] Novotný, Róbert & Slízová, Dasa & Hlubocký, Jaroslav & Krs, Otakar & Spatenka, Jaroslav & Burkert, Jan & Fiala, Radovan & Mitas, Petr & Měřicka, Pavel & Spacek, Miroslav & Hlubocka, Zuzana & Lindner, Jaroslav. (2017). *Cryopreserved human aortic root allografts arterial wall: Structural changes occurring during thawing*. PLOS ONE. 12. e0175007. 10.1371/journal.pone.0175007.
- [18] D. Lukáš, *Lékařské textilie 2. díl*, Praha 1, 2009.
- [19] Chlupac, Jaroslav & Filová, Elena. (2009). *Blood Vessel Replacement: 50 years of Development and Tissue Engineering Paradigms in Vascular Surgery*. Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca. 58 Suppl 2. S119-39.
- [20] *Cévy dolní končetiny* – WikiSkripta. [online].[cit. 2021-02-27]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/C%C3%A9vy_doln%C3%AD_kon%C4%8Detiny
- [21] Spacek, Miroslav & Měřicka, Pavel & Janoušek, Libor & Dalecka, Marketa & Benda, Aleš & Krs, Otakar & Slízová, Dasa & Špunda, Rudolf & Hrubý, Jan & Matia, Ivan & Honegrová, Barbora & Lindner, Jaroslav. (2019). *Comparison of Different Thawing Protocols in Human Cryopreserved Venous Grafts*. Annals of Vascular Surgery. 64. 10.1016/j.avsg.2019.11.026.
- [22] KONVIČKOVÁ, Svatava a Jaroslav VALENTA. *Biomechanika srdečně cévního systému člověka*. Vyd. 2. Praha: Česká technika - nakladatelství ČVUT, 2006, c1997. ISBN 80-01-03425-9.
- [23] Horný, L., 2019. *Úvod do nelineární pružnosti* [online]. [cit. 2021-02-13] Dostupné z: <http://users.fs.cvut.cz/~hornyluk/files/Nelinearni-pruznost-projekt-I.pdf>
- [24] *Zkouška tahem – Tensile testing* [online]. [cit. 2021-02-17] Dostupné z: https://cs.qaz.wiki/wiki/Tensile_testing
- [25] Fukui, Tomohiro & Matsumoto, Takeo & Tanaka, Toshihiro & Ohashi, Toshiro & Kumagai, Kiichiro & Akimoto, Hiroji & Tabayashi, Koichi & Sato, Masaaki. (2005). *In vivo mechanical properties of thoracic aortic aneurysmal wall estimated from in vitro biaxial tensile test*. Bio-medical materials and engineering. 15. 295-305.
- [26] Horný, Lukáš & Adamek, Tomas & Gultova, Eva & Žitný, Rudolf & Vesely, Jan & Chlup, Hynek & Konvickova, Svatava. (2011). *Correlations between age, prestrain, diameter and atherosclerosis in the male abdominal aorta*. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. 4. 2128-32. 10.1016/j.jmbbm.2011.07.011.
- [27] Špaček M, Chlup H, Mitáš P, Veselý J, Lambert L, Mlček M, et al.. *Three-layer collagen-based vascular graft designed for low-flow peripheral vascular reconstructions*. J Appl Biomed. 2019;17(1):52. doi: 10.32725/jab.2019.002
- [28] Venkatasubramanian, R.T., Grassl, E.D., Barocas, V.H. et al. *Effects of Freezing and Cryopreservation on the Mechanical Properties of Arteries*. Ann Biomed Eng 34, 823–832 (2006). <https://doi.org/10.1007/s10439-005-9044-x>.

- [29] BLONDEL, Walter CPM, et al. *Rheological properties of fresh and cryopreserved human arteries tested in vitro*. *Rheologica Acta*, 2000, 39.5: 461-468.
- [30] Li, Wenguang. (2017). *Biomechanical property and modelling of venous wall*. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 133. 10.1016/j.pbiomolbio.2017.11.004.
- [31] Veselý, J. & Horný, Lukáš & Chlup, Hynek & Žitný, Rudolf. (2014). *Inflation Tests of Vena Saphena Mangna for Different Loading Rates*. *IFMBE Proceedings*. 41. 1041-1044. 10.1007/978-3-319-00846-2_258.
- [32] NĚMEC, Ivan, Miroslav TRCALA a Václav REK. *Nelineární mechanika*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, nakladatelství VUTIUM, 2018. ISBN 978-80-214-5519-1.
- [33] Ing. Novák Kamil. *Analýza vlivu uspořádání kolagenu na mechanické vlastnosti tepen*. [online]. [cit. 2021-03-22]. Dostupné z: <https://dspace.vutbr.cz/xmlui/bitstream/handle/11012/84050/final-thesis.pdf?sequence=15&isAllowed=y> VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ.
- [34] Vesely, Jan & Horný, Lukáš & Chlup, Hynek & Krajicek, Milan & Žitný, Rudolf. (2015). *The Influence of the Opening Angle on the Stress Distribution through the Saphenous Vein Wall*. *IFMBE Proceedings*. 45. 399-402. 10.1007/978-3-319-11128-5_100.
- [35] Veselý, Jan & Horný, Lukáš & Chlup, Hynek & Adamek, Tomas & Krajíček, Milan & Žitný, Rudolf. (2015). *Constitutive Modeling of Human saphenous veins at overloading Pressures*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 45. 101-108. 10.1016/j.jmbbm.2015.01.023.
- [36] Zemřelí 2018. [online]. [cit. 2021-03-28]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/res/f/008309/demozem2018.pdf>
- [37] Bossi M, Tozzi M, Franchin M, et al. *Cryopreserved Human Allografts for the Reconstruction of Aortic and Peripheral Prosthetic Graft Infection*. *Ann Vasc Dis*. 2017;10(4):391-397. doi:10.3400/avd.oa.17-00068
- [38] Němec, I., 2006. *Nelineární mechanika* [online]. [cit. 2021-06-10] Dostupné z: http://lences.cz/domains/lences.cz/skola/subory/Skripta/CD02-Nelinearni_mechanika/CD02%20-%20nelinearni_mechanika.pdf
- [39] Horný, L., 2016. *Biomechanika II*. [online]. [cit. 2021-06-10] Dostupné z: http://users.fs.cvut.cz/~hornyluk/files/Biomechanika_II_2016.pdf
- [40] HORNÝ, L. *PATOBIOMECHANIKA SRDEČNĚCÉVNÍHO SYSTÉMU I. DÍL* [online]. České vysoké učení technické v Praze. Praha, 2014 [cit. 2021-06-13]. Dostupné z: <http://users.fs.cvut.cz/~hornyluk/files/Patobiomechanika-srdecnecevnih-systemu-I.pdf>
- [41] VESELÝ, Jan. *CONSTITUTIVE MODELING OF HUMAN SAPHENOUS VEINS UNDER 3D STRESS STATE*. Disertace. České vysoké učení technické v Praze. Praha, 2017

12. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Porovnání příčin úmrtí, upraveno z [36].	9
Obrázek 2: Schéma anatomie hrudní aorty s navazujícími tepnami, a) horní část aorty, b) břišní část aorty a bifurkace, upraveno z [2] [7].	11
Obrázek 3: Stavba cévní stěny, upraveno z [2].	13
Obrázek 4: Schématické znázornění porovnání tloušťky stěn u tepny a u žíly [5].	14
Obrázek 5: Žíly dolní končetiny, upraveno z [20].	14
Obrázek 6: Časový průběh aterosklerózy [9].	15
Obrázek 7: Schématické znázornění aneurysmat: A - pravé aneurysma, B - nepravé aneurysma, C - disekující aneurysma [10].	15
Obrázek 8: Základní typy rekonstrukcí, a - arteriotomie prostá, b - arteriotomie se záplatou, c - přímá náhrada, d - bypass [12].	16
Obrázek 9: Pletené polyesterové protézy [12].	18
Obrázek 10: Použití čerstvých (fresh) a kryoprezervovaných štěpů v ČR během let 2010-2016 [14].	20
Obrázek 11: První transplantace kryoprezervovaného štěpu, iliofemorální bypass [13].	20
Obrázek 12: Mikroskopická struktura cévní stěny: a - po rozmrazování při pokojové teplotě: ztráta endotelu a poškození subendoteliálních vrstev s náhodně rozptýlenými defekty a mikrotrhlinami. b - po rozmrazování ve vodní lázni: ztráta endotelu z lumenálního povrchu, podélné zvlnění způsobené kontrakcí buněk hladkého svalstva v medii [17].	23
Obrázek 13: Závislost napětí na deformaci, upraveno z [7].	24
Obrázek 14: Ukázka rozevření vytknutého kroužku cévy při uvolnění zbytkového napětí [7].	25
Obrázek 15: Experimentální data – závislost napětí na streči, vzorky podélné (longitudinal) a obvodové (circumferential) a) VSM b) vena umbilicalis [30].	25
Obrázek 16: a) křivky napětí - deformace pro vzorky čerstvé (fresh) zmrazené (frozen) a zmrazené a následně rozmrazené po dobu 24 hodin b) také křivky napětí - deformace, ale pro nižší hodnoty napětí [28].	27
Obrázek 17: Mechanická odezva v obvodovém směru z inflačně extenzního experimentu nativních a kryoprezervovaných cév, plná křivka představuje čerstvé vzorky tečkovaná křivka představuje kryoprezervované vzorky [29].	28
Obrázek 18: Mechanická odezva v radiálním směru z inflačně extenzního experimentu, tečkovaná křivka představuje kryoprezervované vzorky, a plná křivka představuje čerstvé vzorky [29].	28
Obrázek 19: Hodnota deformační energie pro čerstvé a kryoprezervované vzorky [29].	29
Obrázek 20: Jednoosá tahová zkouška [23].	30
Obrázek 21: Dvouosá tahová zkouška [25].	30
Obrázek 22: Závislost tlaku na streči [35].	32
Obrázek 23: Kryoprezervovaná VSM s vyznačením řezů pro dělení experimentálních vzorků a vzorků pro rozměrovou analýzu, upraveno z [6].	34
Obrázek 24: Kroužky experimentálních vzorků VSM pro rozměrovou analýzu, a) vyříznuté kroužky, b) rozvinuté kroužky [6].	34

Obrázek 25: Měřicí aparatura: 1 - vzorek se značkami, 2 - pevný upínací trn, 3 - pohyblivý upínací trn, 4 - stříkačka, 5 - trubice, 6 - senzor pro měření tlaku, 7 - stojan, 8a,b - kamery, 9a,b - světla, 10 - synchrobox, 11,12 – PC, 13 – A/D převodník, 14 – triggerovací tlačítko [6].	35
Obrázek 26: a) vzorek VSM s vyznačenými markery, b) reálné uspořádání experimentu: 1- vzorek se značkami, 2-pevný upínací trn, 3-pohyblivý trn, 5-trubice, 6-senzor pro měření tlaku.....	36
Obrázek 27: Ukázka vytknutých oblastí pro detekci obvodových hran a markerů.	37
Obrázek 28: Metoda zpracování obrazu, detekované hrany.....	38
Obrázek 29: Schéma cyklického zatěžování při inflačně extenzním testu s vyznačením zpracovávané části průběhu zatěžování.	38
Obrázek 30: Zobrazení referenční a deformované konfigurace [23].....	39
Obrázek 31: Schéma referenční a aktuální konfigurace [41].	42
Obrázek 32: Rozložení napětí [23].	43
Obrázek 33: Přejít z referenční konfigurace do zdeformované konfigurace [34].	43
Obrázek 34: Vytknutý element, který ukazuje změnu napjatosti [39].	46
Obrázek 35: Axiální rovnováha [41].	47
Obrázek 36: Porovnání tloušťky stěn experimentálních vzorků.	48
Obrázek 37: Porovnání průřezů experimentálních vzorků.	49
Obrázek 38: Porovnání vnitřních poloměrů experimentálních vzorků.....	50
Obrázek 39: Závislost tlaku na protažení pro nativní žíly.....	51
Obrázek 40: Závislost tlaku na streči pro nativní vzorky v žilním zatížení.	51
Obrázek 41: Závislost tlaku na protažení pro kryoprezervované žíly pomalu rozmražené.	52
Obrázek 42: Závislost tlaku na streči pro pomalu rozmražené vzorky v žilním zatížení.	52
Obrázek 43: Závislost tlaku na protažení pro kryoprezervované žíly rychle rozmražené.	53
Obrázek 44: Závislost tlaku na streči pro pomalu rozmražené vzorky v žilním zatížení.	53
Obrázek 45: Regresní analýza nativního vzorku V4n, závislost tlaku na vnitřním poloměru a závislost tlaku na axiálním streči, černá barva – experimentální data, červená- model.	54
Obrázek 46: Regresní analýza nativního vzorku V4n, závislost síly na streči.....	54
Obrázek 47: Regresní analýza pro kryoprezervovaný vzorek rozmražený pomalu V8. Závislost tlaku na vnitřním poloměru a závislost tlaku na axiálním streči, černá barva – experimentální data, červená model.....	55
Obrázek 48: Regresní analýza kryoprezervovaného vzorku pomalu rozmraženého V8, závislost síly na streči.	55
Obrázek 49: Regresní analýza pro kryoprezervovaný vzorek rozmražený rychle V24. Závislost tlaku na vnitřním poloměru a závislost tlaku na axiálním streči, černá barva – experimentální data, červená- model.	56
Obrázek 50: Regresní analýza kryoprezervovaného vzorku rychle rozmraženého V24, závislost síly na streči.	56
Obrázek 51: Křivky z průměrných parametrů pro nativní žíly, a) axiální směr b) obvodový směr.....	57
Obrázek 52: Křivky z průměrných parametrů pro žíly pomalu rozmražené,a) axiální směr b) obvodový směr.....	58

Obrázek 53: Křivky z průměrných parametrů pro žíly rychle rozmrazené, a) axiální směr b) obvodový směr.	58
Obrázek 54: Závislost obvodového napětí na obvodové deformaci [27].	59
Obrázek 55: Závislost tlaku na axiálnímu streči pro žíly nativní.	59
Obrázek 56: Závislost tlaku na axiálnímu streči [35].	60
Obrázek 57: Závislost axiálního napětí na axiální deformaci [27].	60

13. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Porovnání výhod a nevýhod materiálů a způsobů výroby upraveno z [19].	19
Tabulka 2: Mez pevnosti ve směru podélném a ve směru obvodovém v závislosti na věku [22].	26
Tabulka 3: Tabulka nativních a kryoprezervovaných vzorků, pohlaví: M=male, F=female, rychlost rozmražení: R=rapid, S=slow.	33
Tabulka 4: Tabulka porovnání tlouštěk nativních žil, pomalu rozmrazených a rychle rozmrazených.	49
Tabulka 5: Porovnání průřezů nativních žil, pomalu rozmrazených a rychle rozmrazených...	49
Tabulka 6: Porovnání vnitřních poloměrů nativních žil, pomalu rozmrazených a rychle rozmrazených.	50
Tabulka 7: Získané parametry pro nativní vzorek, pomalu rozmrazený vzorek a rychle rozmrazený vzorek.	56
Tabulka 8: Tabulka získaných průměrných parametrů pro žíly nativní, pomalu rozmrazené a rychle rozmrazené.	57

14. PŘÍLOHY

Tabulka parametrů pro nativní vzorky:

VZOREK	α	β	k_1	k_2	κ	μ
V2n	3,14	0,77	0,78	121,61	0,15	0,1
V4n	1,47	0,74	2,87	83,75	0,14	6,44
V6n	0	0,82	6,83	88,12	0,22	10,59
V8n	0	0,74	3,82	80,99	0,15	0,1
V10n	1,07	0,71	4,49	85,16	0,21	3,24

Tabulka parametrů pro pomalu rozmražené vzorky:

VZOREK	α	β	k_1	k_2	κ	μ
V6	0	0,53	10,77	17,22	0,13	0,1
V8	1,40	0,70	22,33	233,15	0,30	1,24
V14	1,03	0,78	346,89	272,13	0,31	0,1
V16	2,08	0,31	18,60	67,09	0,30	3,36
V18	1,43	0,56	15,54	40,70	0,20	2,94
V20	1,85	1,02	209,33	222,89	0,31	0,1

Tabulka parametrů pro rychle rozmrazené vzorky:

VZOREK	α	β	k_1	k_2	κ	μ
V2	0	0,57	30,88	40,14	0,17	0,1
V4	0,44	0	27,21	81,25	0,33	6,05
V10	1,53	0,69	2,38	56,75	0,28	1,06
V12	0,78	0,66	42,86	95,73	0,22	0,1
V22	0	0,63	18,81	72,42	0,28	0,1
V24	0,46	0,43	23,56	13,71	0,27	0,79