



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**

**Fakulta strojní**

## **Bakalářská práce**

Vliv scaffoldu z polyesterové pleteniny na mechanické vlastnosti  
kolagenní cévní náhrady

**2019**

**Zbyněk Sobotka**

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Sobotka** Jméno: **Zbyněk** Osobní číslo: **466647**  
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**  
Zadávající katedra/ústav: **Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky**  
Studijní program: **Teoretický základ strojního inženýrství**  
Studijní obor: **bez oboru**

## II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

**Vliv scaffoldu z polyesterové pleteniny na mechanické vlastnosti kolagenní cévní náhrady**

Název bakalářské práce anglicky:

**Effect of polyester scaffold on the mechanical properties of collagenous vascular graft**

Pokyny pro vypracování:

Seznámení se s teorií vaskulární mechaniky a principy testování nativních cév a cévních náhrad.  
Prostudovat typy kompozitních cévních náhrad a limity jejich použití.  
Seznámit se s vlastnostmi kolagenní hmoty a s možnostmi úprav kolagenu, jako je např. fyzikální nebo chemické síťování.  
Provést inflačně-extenzní experimenty s cévními náhradami a s kolagenními trubicemi.  
Analyzovat vliv integrované polyesterové pleteniny (jako scaffoldu) a doby síťování na mechanickou odezvu čistě kolagenní trubice a kompozitní cévní náhrady.

Seznam doporučené literatury:

Špaček M, Chlup H, 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.  
Tomas Grus, Lukas Lambert, Mikulas Mlcek, et al., "In Vivo Evaluation of Short-Term Performance of New Three-Layer Collagen-Based Vascular Graft Designed for Low-Flow Peripheral Vascular Reconstructions," BioMed Research International, vol. 2018, Article ID 3519596, 7 pages, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3519596>.  
Vesely, J.; Horný, L.; Chlup, H.; Žitný, R. Inflation Tests of Vena Saphena Mangna for Different Loading Rates. In: XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013. Heidelberg: Springer, 2014, pp. 1041-1044. IFMBE Proceedings. ISSN 1680-0737. ISBN 978-3-319-00845-5.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) bakalářské práce:


**Ing. Hynek Chlup, Ph.D., ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky FS**

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

Datum zadání bakalářské práce: **25.04.2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **16.08.2019**

Platnost zadání bakalářské práce:

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

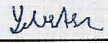
  
prof. Ing. Milan Růžička, CSc.  
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

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

## III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student bere na vědomí, že je povinen vypracovat bakalářskou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací.  
Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v bakalářské práci.

30.4.2019  
Datum převzetí zadání

  
Podpis studenta

## Anotační list

<b>Jméno autora</b>	Zbyněk Sobotka
<b>Název BP</b>	Vliv scaffoldu z polyesterové pleteniny na mechanické vlastnosti kolagenní cévní náhrady
<b>Anglický název</b>	Effect of polyester scaffold on the mechanical properties of collagenous vascular graft
<b>Rok</b>	2019
<b>Obor studia</b>	TZSI
<b>Ústav / Odbor</b>	Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky / Odbor biomechaniky člověka
<b>Vedoucí práce</b>	Ing. Hynek Chlup, Ph.D.
<b>Konzultant</b>	doc. MUDr. Tomáš Grus, Ph.D.
<b>Bibliografické údaje</b>	počet stran: 51 počet obrázků: 32 počet tabulek: 7 počet příloh: 0
<b>Klíčová slova</b>	Cévní náhrada, mechanické vlastnosti, rybí kolagen, scaffold, inflační test, síťování, rychlost zatěžování
<b>Keywords</b>	Vascular graft, mechanical properties, fish collagen, scaffold, inflation test, crosslinking, loading rate

### **Abstrakt:**

Tato bakalářská práce se zabývá cévními protézami s polyesterovým scaffoldem a maticí z kolagenu ze sladkovodních ryb. Pozornost je soustředěna na mechanickou odezvu protéz v závislosti na integraci polyesterové pleteniny, dobu síťování a rychlost zatěžování. K získání dat je využito inflačně-extenzních testů.

### **Abstract:**

This bachelor thesis deals with vascular grafts manufactured from a freshwater-fish collagenous matrix and reinforcing polyester mesh. Mechanical characterisation of the grafts is presented. Furthermore, effect of the polyester scaffold and different crosslinking times and loading rates is analyzed. Inflation-extension tests are used to acquire the data.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury.

V Praze, dne 6.6.2019

Zbyněk Sobotka

Za cenné rady, ochotu a věnovaný čas děkuji zejména vedoucímu práce Ing. Hynku Chlupovi, Ph.D.

Za pomoc děkuji školiteli specialistovi doc. MUDr. Tomáši Grusovi, Ph.D.

Za podporu děkuji své rodině.

## Obsah

1 Seznam použitých symbolů a zkratk.....	6
2 Úvod.....	7
3 Cíle práce a předpoklady .....	8
3.1 Cíle práce .....	8
3.2 Předpoklady .....	8
4 Nativní cévy .....	9
4.1 Kardiovaskulární systém člověka.....	9
4.2 Struktura nativních cév.....	10
4.3 Mechanické vlastnosti nativních cév .....	12
4.4 Kolagen .....	14
4.4.1 Původ kolagenu .....	14
4.4.2 Síťování kolagenu .....	14
5 Cévní náhrady .....	17
5.1. Biologické náhrady .....	17
5.2 Umělé cévní náhrady.....	19
5.3 Kombinované cévní náhrady .....	21
6 Vzorky .....	21
7 Výpočet napětí.....	23
8 Provedení experimentu .....	28
9 Výsledky .....	31
9.1 Analýza geometrie .....	31
9.2 Inflační testy .....	33
10 Diskuse.....	39
11 Závěr .....	44
12 Seznam obrázků.....	46
13 Seznam tabulek .....	48
14 Literatura .....	49

# 1 Seznam použitých symbolů a zkratek

Značka	Jednotka	Název
$a$	[Pa]	směrnice lineární regrese závislosti napětí-deformace
$dF$	[N]	nekonečně malá síla působící na element stěny skořepiny
$dk$	[mm]	vertikální délka elementu skořepiny
$dm$	[mm]	horizontální délka elementu skořepiny
$d\alpha_i$	[rad]	úhel zakřivení nekonečně malého elementu skořepiny
$d$	[mm]	střední průměr vzorku
$d_{CPRK}$	[mm]	průměrný střední průměr vzorků s pleteninou
$d_{CPbPRK}$	[mm]	průměrný střední průměr vzorků bez pleteniny
$E$	[MPa]	Youngův modul pružnosti
$h$	[mm]	okamžitá tloušťka stěny vzorku
$H$	[mm]	referenční tloušťka stěny vzorku
$H_{CPRK}$	[mm]	průměrná tloušťka stěny protéz s pleteninou
$H_{CPbPRK}$	[mm]	průměrná tloušťka stěny trubic bez pleteniny
$l$	[mm]	okamžitá délka vzorku
$L$	[mm]	referenční (volná) délka vzorku
$p$	[Pa]	vnitřní přetlak ve vzorku
$P$	[1]	statistická významnost parametru
$Q$	[N]	síla působící na dno nádoby
$r$	[mm]	okamžitý střední poloměr vzorku
$R$	[mm]	referenční střední poloměr vzorku
$R^2$	[1]	koeficient determinace
$R_i$	[mm]	poloměr křivosti nádoby
$S$	[mm <sup>2</sup> ]	plocha řezu stěny trubice
$SD$	[mm]	směrodatná odchylka měření geometrie vzorků
$\varepsilon$	[1]	poměrná deformace
$\lambda_a$	[1]	poměrné prodloužení v axiálním směru
$\lambda_o$	[1]	poměrné prodloužení v obvodovém směru
$\lambda_r$	[1]	poměrné prodloužení v radiálním směru
$\sigma$	[Pa]	napětí v jednom směru
$\sigma_i$	[Pa]	napětí v daném směru
$\sigma_a$	[Pa]	napětí v axiálním směru
$\sigma_o$	[Pa]	napětí v obvodovém směru
$\Delta d$	[mm]	rozdíl mezi středními průměry trubic s pleteninou a bez
$\Delta H$	[mm]	rozdíl mezi tloušťkami trubic s pleteninou a bez

ANOVA	analýza rozptylu
EDC	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid
PTFE	polytetrafluoretylenu
ROI	<i>region of interest</i> = oblast zájmu
VSM	vena saphena magna

## 2 Úvod

Kardiovaskulární onemocnění jsou nejčastějším důvodem smrti na světě a jejich podíl na celkové úmrtnosti stále vzrůstá. Ateroskleróza, varixy, stenóza či trombóza jsou nejčastější z mnoha onemocnění, která mohou postihovat cévní systém člověk. V současné době se většina takových onemocnění léčí medikamenty, v případě potřeby se pak přistupuje k angioplastice a zavádění stentů, které brání uzavření cévy. Jsou-li však tyto metody nedostačující, je nutné provést resekci jejího kritického úseku. K tomu je třeba využít některého druhu cévní náhrady.

Začátek vývoje cévních náhrad je možné datovat do počátku 20. století, kdy byly provedeny první pokusy o transplantaci částí tepen či žil nejprve na zvířatech, později na lidech. Velký pokrok ve využívání nativních cév jako náhrad byl poté zaznamenán především v období 2. světové války a krátce po ní, kdy byla např. zřízena první cévní banka.

Zásadním nedostatkem biologických náhrad je ovšem obtížný způsob jejich získávání v dostatečném množství. Dalším logickým následkem byl tedy vývoj průmyslově vyráběných náhrad. V 50. a 60. letech dvacátého století byly postupně vyvíjeny a uváděny do praxe náhrady tkané a zejména pak pletené z polytetrafluoretylenu (PTFE) či Dacronu, které se nadále užívají i v současných cévních náhradách.

Následující výzkum, který pokračuje i v současnosti, se zaměřuje především na využívání biologických materiálů a jejich kombinování pro dosažení mechanických vlastností, které se mají co nejvíce blížit mechanické odezvě nativní cévy.

I přesto, že vývoj umělých cévních náhrad probíhá více než 60 let, ještě nebyla vyvinuta taková protéza, která by bezproblémově fungovala jako náhrada cév o průměrech pod 6 mm, v kterých je průtok krve menší než 150 ml/min. Při pokusech o resekci takto malých cév dochází k velmi rychlému zneprůchodnění náhrady. Vývoj a výzkum cévní protetiky tedy není zdaleka ukončen. Cévní náhrady se stále zdokonalují a hledají se alternativní řešení pro dosažení co nejlepší mechanické odezvy.

Tato práce navazuje na dlouhodobý vývoj a výzkum v oblasti cévní biomechaniky, který probíhá na ČVUT v Praze. Konkrétně se v ní pojednává o mechanických vlastnostech cévních náhrad a jejich složek. Zkoumaná protéza je tvořena scaffoldem z polyesterových vláken integrovaných v matici z kolagenu ze sladkovodních ryb. Také jsou zkoumány mechanické vlastnosti čistě kolagenní trubice. Kolagen ze sladkovodních ryb představuje alternativu ke kolagenu bovinnímu, oproti kterému by měl být méně alergenní, a navíc by se jeho využitím bylo možné vyhnout nebezpečí přenosu zoonóz.

Na zkoumaných trubicích byly provedeny inflačně-extenzní testy pro zjištění jejich mechanické odezvy při cyklickém zatěžování. Testy byly provedeny na dvou skupinách trubic. První skupinou vzorků byly cévní protézy obsahující pleteninu v kolagenní matici. Druhá skupina vzorků představovala pouze kolagenní trubice bez pleteniny. Vzorky z každé skupiny se dále lišily dobou crosslinkování kolagenní matrice. Síťování probíhalo 10, 15, či 20 minut v glutaraldehydem. Každá trubice byla zatěžována vnitřním tlakem třemi různými rychlostmi zatěžování.

Práce se zabývá analýzou dat získaných z inflačně-extenzních testů. Pozornost je primárně věnována porovnání mechanické odezvy cévních protéz s ohledem na integraci polyesterové pleteniny. Sekundárně je sledována závislost mechanické odezvy na době crosslinkování a rychlosti zatěžování vzorků.



## 3 Cíle práce a předpoklady

### 3.1 Cíle práce

Cílem práce je získat mechanickou odezvu cévní náhrady a kolagenních trubic. Cíle budou realizovány provedením inflačně-extenzních experimentů se zkoumanými vzorky. Data získaná z těchto testů budou dále analyzována tak, aby bylo možné posoudit mechanickou odezvu vzorků v závislosti na:

- 1) integraci polyesterové pleteniny
- 2) době síťování
- 3) rychlosti zatěžování

### 3.2 Předpoklady

Pro biologické materiály je typická nelineární závislost napětí-deformace. Tento efekt je pozorován také u veny sapheny magny (VSM), která je považována za zlatý standard cévních náhrad [1, 2]. Je žádoucí, aby se mechanická odezva náhrad co nejvíce blížila právě VSM. Některé práce ukazují, že cévní náhrady podobné konstrukce často vykazují lineární mechanickou odezvu [3-5]. Lze tedy předpokládat, že mechanická odezva zkoušených vzorků se bude pohybovat někde mezi těmito dvěma charakteristikami.

Dále se očekává, že trubice bez pleteniny budou poddajnější, neboť pletenina tvoří scaffold náhrady, který má zabraňovat přílišné dilataci a zajišťovat dostatečnou pevnost.

Síťování kolagenní hmoty má za následek zvyšování její pevnosti a tuhosti [6]. Také předchozí výzkum ukazuje, že trubice jsou tím tužší, čím déle je kolagen síťován [4]. Obdobný účinek crosslinkování se očekává také u trubic zkoumaných v této práci.

Biologické tkáně, které jsou z velké části tvořeny kolagenem, vykazují větší poddajnost při nižší rychlosti zatěžování [6]. Stejná závislost mechanické odezvy na rychlosti zatěžování se očekává od zkoušených protéz, neboť jejich matrice je tvořena kolagenními vlákny.

## 4 Nativní cévy

Cévní systém umožňuje rozvod kyslíku a živin do těla a jeho nefunkčnost může mít pro tělo fatální důsledky. Mezi nejčastější onemocnění cév patří ateroskleróza, při níž dochází k ukládání tukových látek na vnitřní stěnu cévy, trombóza, tedy tvorba krevních sraženin v cévách, nebo varixy („křečové žíly“) [2]. Při zneprůchodnění cévy může být v krajním případě využito cévní protézy, jejíž mechanická charakteristika by se měla co nejvíce blížit chování nativních cév. Z toho důvodu je jejich mechanickým vlastnostem věnována část této práce.

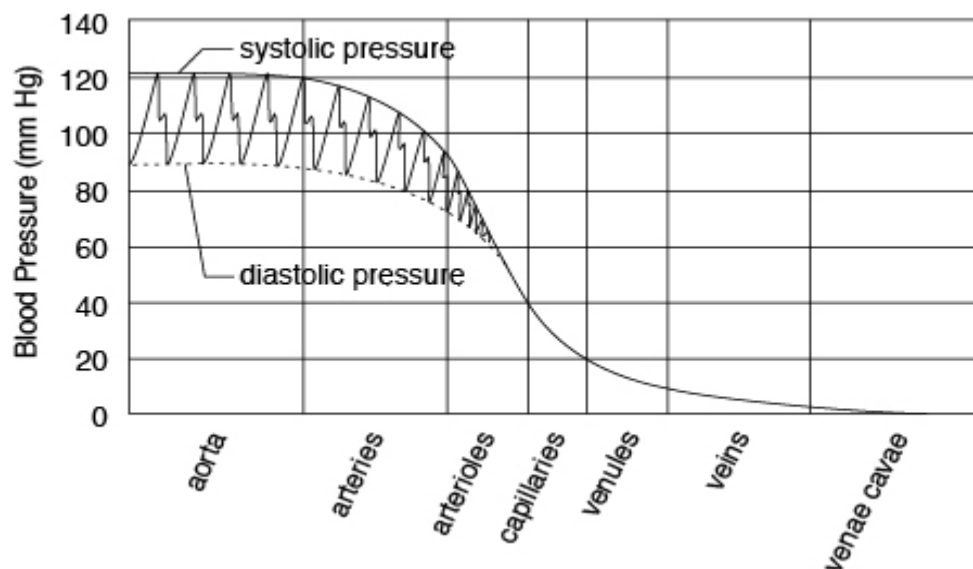
### 4.1 Kardiovaskulární systém člověka

Kardiovaskulární systém je oběhová soustava, zaručující rozvod živin a kyslíku v těle, jejímž médiem je krev. Skládá se ze srdce a cév. Cévy se rozdělují na tři skupiny: tepny, vedoucí krev směrem ze srdce, žíly, jimiž se krev do srdce vrací, a vlasečnice, spojující první dva typy a vyživující svaly a další orgány. Rozlišuje se velký a malý krevní oběh. Velký krevní oběh slouží k rozvodu krve, a tedy potřebných živin a kyslíku do orgánů. Malý krevní oběh je veden mezi srdcem a plicemi, kde se krev okysličuje [7].

Srdce je orgán, tvořený srdeční svalovinou (myokardem), který funguje v oběhu jako pumpa. Je děleno chlopněmi na čtyři části (dvě komory a dvě síně). Z pravé komory vytéká odkysličená krev do plicního kmene a dále do plic, kde se okysličuje a poté navrací do levé síně. Levá komora vypuzuje okysličenou krev do aorty, největší cévy v lidském těle, přes kterou se tato tělní tekutina dostává do menších tepen a vlasečnic, aby se nakonec navrátila přes cévy do pravé síně a ukončila tak velký krevní oběh [8].

Srdce svými stahy vysílá krev do oběhu a takto běžně pumpuje 4,5 až 6 l/min krve, při zátěži se průtok krve špičkově zvýší až na 25 l/min, u trénovaných jedinců až na 35 l/min [7]. Běžný tep srdce se u zdravé člověka v klidu pohybuje mezi 60 až 70 tep/min, při běžné zátěži pak okolo 80 tep/min, v extrémních případech může ovšem krátkodobě dosáhnout i frekvencí okolo 200 tep/min [7]. Při fyzické zátěži se také výrazně mění distribuce toku krve v těle. Zatímco v klidu jí spotřebují svaly přibližně jen 15 % a zbytek je veden do ostatních orgánů, při zátěži to může být až 75 % [8].

Další sledovanou veličinou kromě průtoku krve je krevní tlak. Dlouhodobá nesprávná hodnota krevního tlaku (a to jak vysoká, tak nízká) může způsobovat organismu zdravotní potíže a může být indikátorem jiných chorob a onemocnění. U zdravého člověka v klidu se hodnota krevního tlaku uvádí 120 mmHg (zhruba 16 kPa) při systole a 80 mmHg (zhruba 11,5 kPa) při diastole [7]. Jedná se ovšem o tlak v aortě a přilehlých tepnách, který je roven tlaku, jímž je krev pumpována srdcem. Krevní tlak se směrem od srdce snižuje. Rozdíly v krevním tlaku v různých částech kardiovaskulárního systému znázorňuje obrázek 1 [7].



Obrázek 1 - Průběh tlaku v krevním oběhu [9]

## 4.2 Struktura nativních cév

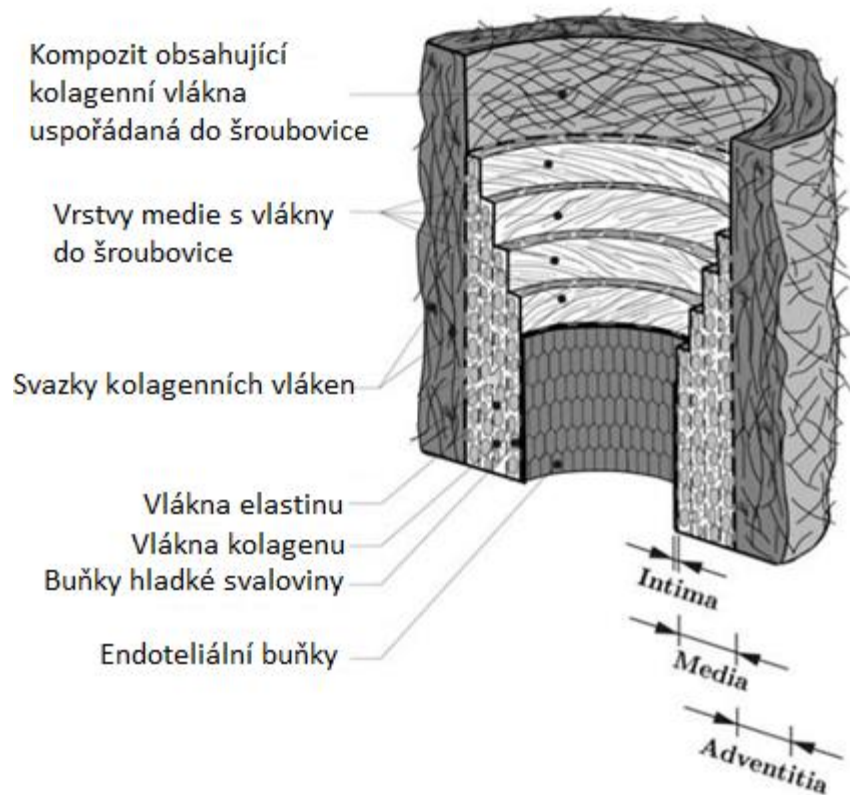
Podoba a vlastnosti cév se různí, obdobně jako se různí jejich funkce v oběhovém systému. Největší cévou v lidském těle je aorta, jejíž průsvit se pohybuje obvykle mezi 26 a 30 mm, oproti tomu nejmenší kapiláry mohou dosahovat průměru pouze 0,009 mm [2]. Podobně výrazně se liší i tloušťky jejich stěn. Přehled průměrů a tlouštěk stěn zobrazuje tabulka 1.

Céva	Lumen – průměr [mm]	Tloušťka stěny [mm]	Přibližný průtočný průřez [cm <sup>2</sup> ]	Část krevního objemu [%] *
Aorta	25	2	4,5	2
Arterie	4	1	20	8
Arteriola	0,03	0,02	400	1
Kapilára	0,005	0,001	4500	5
Venula	0,02	0,002	4000	54
Véna	5	0,5	40	
Vena Cava	20	1,5	18	

\* V systémových cévách. Dále 12 % v srdce a 18 % v plicní cirkulaci

Tabulka 1 - Charakteristika cév v krevním řečišti [10], upraveno

Stěny všech cév se skládají ze tří základních vrstev, které jsou zastoupeny v různém poměru a v různé složení s ohledem na potřebné vlastnosti konkrétních cév. Tyto tři vrstvy se nazývají intima, media a adventicia, graficky je znázorňuje obrázek 2.



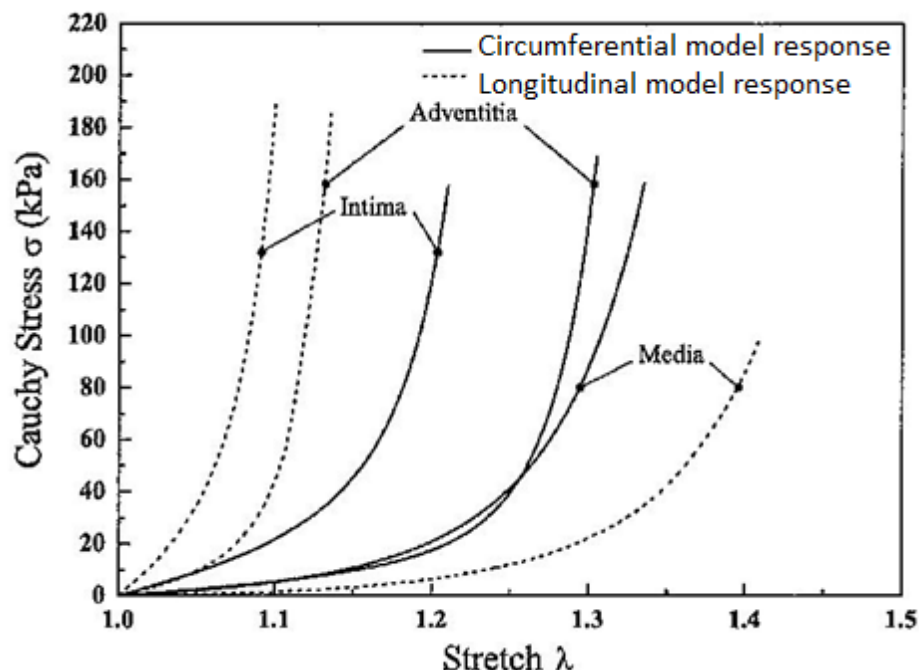
Obrázek 2 – Stavba cévní stěny [11], upraveno

Intima je nejtenčí z vrstev, skládá se z endoteliálních buněk, které tvoří vnitřní stěnu cév. U zdravých jedinců má intima z pevnostního hlediska poměrně malý až zanedbatelný význam, s věkem se ovšem vrstva stává tlustší a tužší, takže její význam může v tomto smyslu narůstat. Pro cévy je ovšem důležitá především z hlediska biologického, neboť zaručuje správný průtok krve cévou, a naopak patologické změny v intimě mohou způsobovat navazování tuků a jiných částic na tuto stěnu a tím způsobit aterosklerózu [11].

Prostřední vrstvou cév je media. Ta se skládá z komplexní sítě vláken fibrinu, kolagenu a hladké svaloviny, které tvoří šroubovici, jejíž stoupání je tak malé, že jsou vlákna orientována téměř v obvodovém směru. Tato struktura udává mechanické vlastnosti medie, která je nejpevnější ze tří vrstev a nejvíce ovlivňuje odezvu celé cévy na zatížení [11].

Adventicia tvoří vnější stěnu cév. Je složena z fibroblastů a fibrocytů, tedy buněk, které produkují kolagen a elastin. Její šířka se velmi liší v závislosti na typu cévy. Při malém vnitřním tlaku je adventicia výrazně poddajnější než media, ovšem při jeho nárůstu se kolagenní vlákna v adventicii zpevňují a zabraňují tak přílišnému prodloužení cévy a jejímu prasknutí [11]. Mechanická charakteristika jednotlivých vrstev cév je znázorněna na obrázku 3.

Jak bylo řečeno výše, přestože se všechny cévy skládají ze tří základních vrstev, poměrná šířka a složení těchto vrstev zásadně ovlivňuje jejich výsledné vlastnosti. Dle těchto vlastností se pak rozlišují cévy elastického a svalového typu [2].



Obrázek 3 - Mechanická odezva vrstev nativních cév získaná z jednoosých tahových zkoušek [6], upraveno

Jak název napovídá, převažující strukturální jednotkou elastických tepen je elastin, zaručující pružné chování těchto cév. Elastické tepny se nacházejí nejbližší srdci (aorta je jejich typickým příkladem). Jejich pružné vlastnosti jim umožňují dočasně zvětšit průsvit při diastolickém tlaku a při jeho postupném snižování poté svým smrštěním vypudit krev dál do krevního oběhu, a tak změnit pulzní proudění v proudění plynulé [2], jak je také zřejmé z obrázku 1.

Směrem od srdce se průsvit tepen zmenšuje a mění se stavba jejich stěny, jak jsou vlákna elastinu postupně nahrazována hladkým svalstvem [2]. To umožňuje především u kapilár aktivně zmenšovat jejich průsvit a tím ovlivňovat průtok nebo mu úplně zamezit. Je tak možné řídit distribuci krve v těle a v případě potřeby (při fyzické zátěži) posílat její většinu do svalů na úkor ostatních orgánů, které nejsou v tu chvíli pro chod těla zásadní [7].

Žíly svojí strukturou více připomínají tepny svalového typu, neboť právě hladká svalovina je jejich hlavní strukturální složkou. Oproti tepnám je v žilách výraznější adventicia na úkor medie, což je dáno také odlišnými tlaky uvnitř cévy (pohybuje se v řádech jednotek kPa, viz obrázek 1). Charakteristickým znakem žil dolních končetin je také přítomnost chlopní, tedy výchlípek intimy, které zabraňují krvi v proudění opačným směrem v důsledku ortostatického tlaku. Jedná se ve své podstatě o hydrostatický tlak způsobený rozdílem výšky mezi srdcem a dolními končetinami, který dosahuje hodnot okolo 16 kPa [2].

### 4.3 Mechanické vlastnosti nativních cév

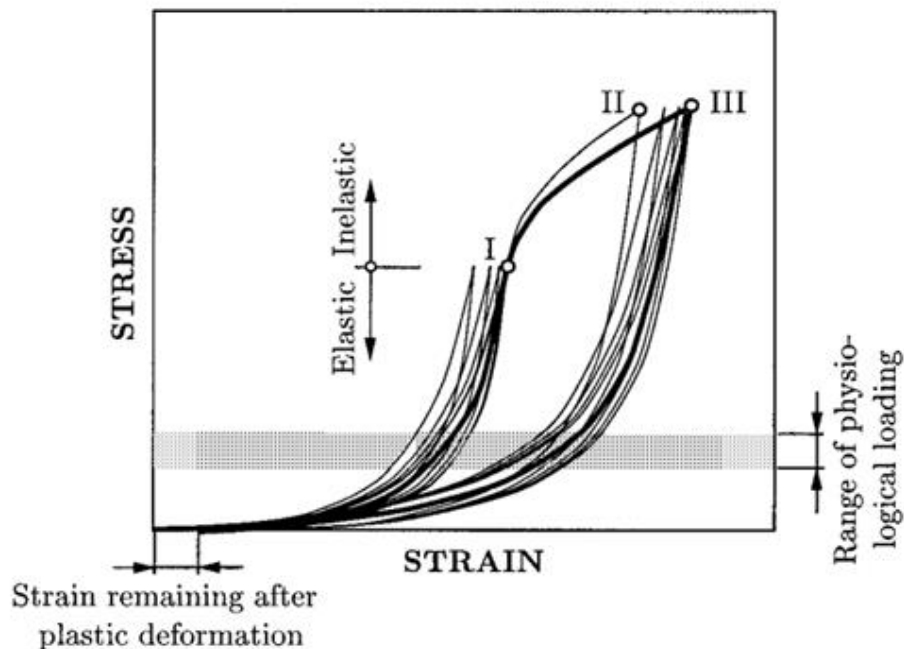
Ze zmíněné rozličnosti ve struktuře různých druhů cév vyplývá i odlišnost jejich mechanických vlastností. Pro všechny je ovšem typická hyperelastická a viskoelastická [6].

Hyperelastický materiál se chová elasticky, tedy při zatížení se protáhne (či smrští) ve směru napětí a při odlehčení se veškerá akumulovaná energie (na tahovém diagramu plocha pod tahovou křivkou) využije na nabytí původního tvaru [12]. Na tahovém diagramu se tato vlastnost

projeví tím, že křivka při zatížení a odlehčení je stejná. Nejjednodušším příkladem ideálně elastického materiálu je takový, u něhož je pro jednoosou napjatost možné vyjádřit závislost napětí na poměrném prodloužení jako  $\sigma = E\varepsilon$ , kde  $\sigma$  je napětí,  $E$  Youngův modul pružnosti a  $\varepsilon$  poměrná deformace. Takový materiál má tedy stále stejnou tuhost charakterizovanou Youngovým modulem pružnosti. Hovoří se o lineární elasticitě, kterou je možné pozorovat u většiny kovů před dosažením jejich meze kluzu. Oproti tomu průběh závislosti napětí-deformace hyperelastického materiálu je nelineární. Příkladem hyperelastického materiálu jsou různé druhy polymerů a pryží, ale také biologické materiály, jak je patrné z obrázku 4 [6].

Vlastnosti viskoelastického materiálu jsou kombinací dokonale elastických (jak byly popsány výše) a dokonale viskózních (vazkých) vlastností. Vazký materiál je takový, při jehož odlehčení se uložená energie nevyužije pro zpětnou deformaci a všechna se disipuje na teplo [13]. Následkem této vlastnosti se deformace viskózního materiálu harmonicky cyklicky zatěžovaného materiálu zpožďuje oproti napětí o čtvrt periody – deformace probíhá pouze ve chvíli, kdy je napětí nenulové [13]. Výslednou tahovou křivkou dokonale vazkého materiálu je hysterezní křivka ve formě elipsy, přičemž její obsah znázorňuje zmařenou energii při jednom cyklu. U viskoelastických materiálů se mísí charakteristiky obou druhů ideálních modelů a při harmonickém průběhu napětí je tahová křivka při zatěžování jiná (pro deformaci je třeba vyšší napětí) než při odlehčení.

Cévy spojují vlastnosti hyperelastické (ty se uplatňují zejména u elastických tepen) a viskoelastické (patrně především u tepen svalového typu) a charakteristický je pro ně tahový diagram připomínající tvar písmene J (J shape) [6]. Postupné zvětšování tuhosti v průběhu napětí je dané strukturou cév, neboť při malých napětích jsou zatěžována poddajná vlákna elastinu, a až při vyšších zatíženích začne působit také tužší složka kolagenní [11].



Obrázek 4 - Mechanická odezva tepenné stěny v obvodovém směru získaná z jednoosé tahové zkoušky při cyklickém zatěžování [11], upraveno: Lze pozorovat (visko)elastické chování až do překročení bodu I, kdy nastávají plastické deformace. Mechanická odezva se s každým cyklem změkčuje až k bodu III; poté se již nemění

Právě kolagen je hlavní složkou cév z hlediska pevnostního, navíc je hojně využíván jako součást cévních protéz, proto je jemu a jeho úpravě věnována zvláštní kapitola této práce.

Mechanické vlastnosti cév a cévních náhrad je obecně možné zjišťovat více druhy testů, které se liší způsobem, jakým jsou trubice namáhány. Ty mohou být zkoušeny jako planární, či tubulární vzorky [14].

Při planárních experimentech je trubice rozvinuta do co možná nejrovnějšího vzorku. Na něm pak mohou být provedeny jednoosé (vhodné pro izotropní materiál) či dvouosé (nutné pro anizotropní materiál) pevnostní zkoušky [14].

Při tubulárním testování se zkoumaná trubice namáhá vnitřním přetlakem, který simuluje skutečné zatěžování. Měří se poté deformace vzorků. Tyto zkoušky dávají zpravidla přesnější představu o chování trubic ve skutečné aplikaci. Jejich nevýhodou je ovšem relativní složitost realizace pokusu a získávání dat [14].

## 4.4 Kolagen

Kolagen je bílkovina, tvořící okolo 30 % všech proteinů v těle savců [6]. Jedná se o jednu ze základních strukturálních jednotek tkání a orgánů živočichů [6] a pro své chemické a mechanické vlastnosti nachází uplatnění v moderní medicíně, mimo jiné také jako komponenta cévních protéz [2]. Je známo okolo 30 druhů kolagenu, lišících se strukturou a funkcí. 90 % kolagenní hmoty v lidském těle tvoří kolagen ve formě vláken. Nejhojněji se v lidském těle vyskytuje kolagen typu I, který je možné nalézt především v kostech, šlachách nebo kůži [6]. V cévních náhradách bývá kolagen používán zejména jako součást sendvičových konstrukcí, kdy tvoří kolagenní matici, ve které je umístěn scaffold z jiného materiálu. V takovém případě kolagen slouží k lepšímu vstřebávání protézy do těla. Kolagen může být ovšem využit také jako scaffold.

### 4.4.1 Původ kolagenu

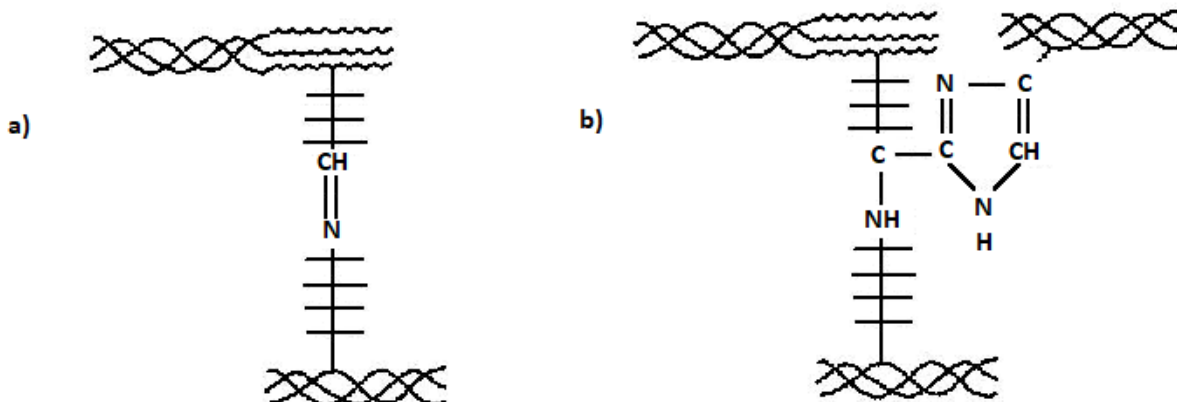
Kolagenní vlákno se skládá z aminokyselin glycinu, prolinu a lysinu. Ty se v lidském těle syntetizují v endoplazmatickém retikulu buněk na polypeptidy, které se poté formují do šroubovice tří řetězců – vzniká prokolagen [6]. V této formě je poté prokolagen transportován přes Golgiho komplex mimo buňku, kde se z něho nakonec po sérii dalších chemických reakcí stává kolagen v podobě vláken [6].

Kolagen je pro průmyslové využití možné získat například z kůže či kostí zvířat nebo šupin ryb. Materiál je třeba zbavit nekolagenních proteinů pomocí rozpouštědel a v případě kolagenu z kostí či šupin provést dekalifikaci. Poté lze extrahovat kolagenní materiál pomocí kyseliny octové a z ní jej následně vyfiltrovat. Z takto separované kolagenní hmoty je následně možné vytvořit konečný produkt ve formě kolagenních vláken např. elektrospinningem [6].

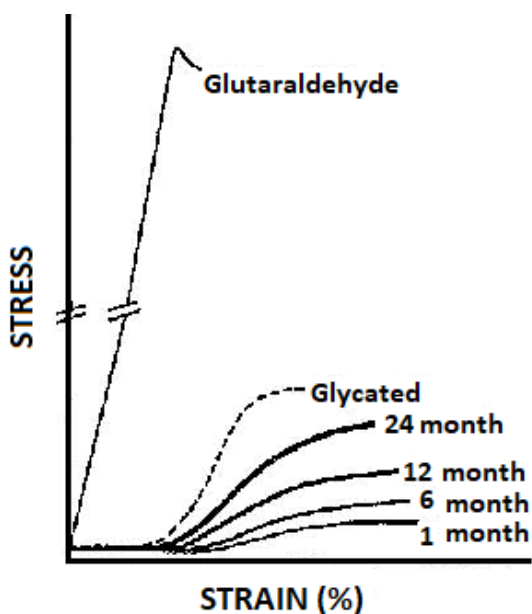
### 4.4.2 Sít'ování kolagenu

Mechanické vlastnosti kolagenu jsou zásadně závislé na vzniku mezimolekulárních vazeb – tzv. sít'ování (či z angličtiny crosslinkování) - mezi jednotlivými řetězci polypeptidů. V lidském těle se kolagen crosslinkuje pomocí dvou mechanismů. První z nich je enzymatický vznik crosslinků, kdy působí jako sít'ovací činidlo enzym lysyl oxidáza, která formuje mezi řetězci kolagenu Schiffovu bázi (spojení CH-N, viz obrázek 5 a). Po enzymatickém vzniku crosslinků následuje sít'ování neenzymatické, při němž v průběhu času dochází za přítomnosti glukózy a dalších

aldehydů k tzv. glykaci. Ta má za následek vznik stabilnější mezimolekulární vazby a z ní vyplývající změnu mechanických vlastností [5, 15], jak ukazuje obrázek 6.



Obrázek 5 - Schematické znázornění crosslinků v kolagenních vlaken - a) - Schiffova báze, b) Crosslink po působení glykace [6]



Obrázek 6 – Změny mechanických vlastností při glykaci a crosslinkování glutaraldehydem [6]

V bioinženýrských aplikacích se využívá umělá tvorba crosslinků pro dosažení žádaných vlastností kolagenního materiálu, zejména zvýšení jeho pevnosti a tuhosti (viz obrázek 6 a obrázek 7) a odolnosti proti degradaci [6, 15]. Umělého vzniku crosslinků může být dosaženo chemickými a fyzikálními prostředky.

Chemickým crosslinkování se rozumí vytvoření vazeb mezi molekulami kolagenu za pomoci chemických látek. Nejčastější formou těchto vazeb je vazba kovalentní, která vzniká např. při užití glutaraldehydu, spojení mohou ovšem vzniknout také přes karboxylové skupiny nebo pomocí vodíkových můstků (při použití genipinu) [15]. Existuje mnoho více či méně vhodných crosslinkovacích činidel, budou však uvedena jen ta nejčastěji používaná.



Dříve nejpoužívanějším crosslinkovacím činidlem byl glutaraldehyd, který vytváří vazby mezi aminoskupinami lysinu podobné Schiffově bázi v nativním kolagenu. Glutaraldehyd je hojně využíván zejména pro vysokou stabilitu vzniklých vazeb a rychlost jejich vzniku [15]. Jak bylo ovšem zjištěno, kolagen síťovaný glutaraldehydem má cytotoxické vlastnosti a může způsobovat záněty a kalcifikaci, což výrazně omezuje jeho využití v biomedicínských aplikacích [15]. Mezi nejpoužívanější méně cytotoxická crosslinkovací činidla patří karbodihamidy a genipin.

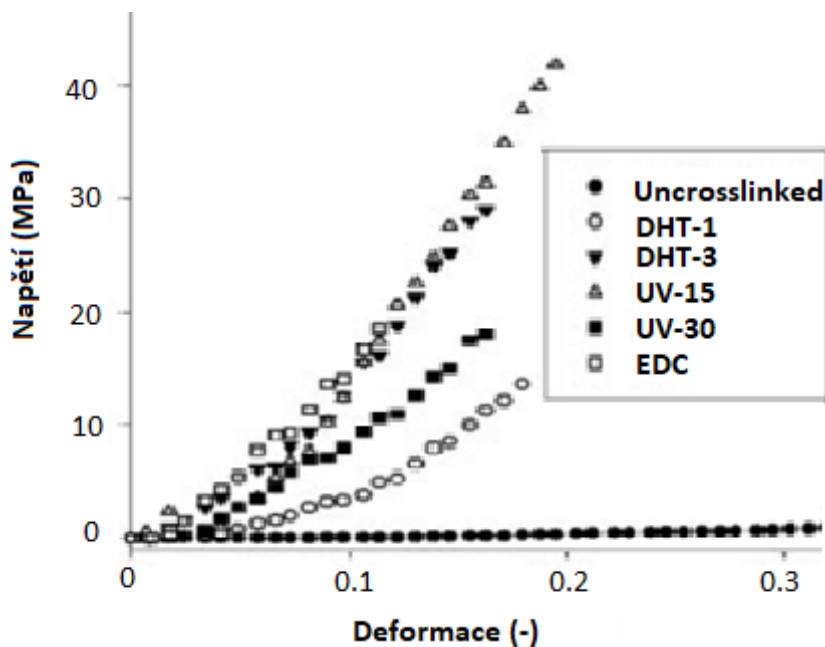
Pro crosslinkování bývá nejpoužívanějším karbodihamidem 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-1-karbodihamid (zkráceně z angličtiny EDC), jenž vytváří mezi molekulami kolagenu velmi stabilní amidové a C=O vazby. Literatura [16] uvádí, že výsledkem crosslinkování pomocí EDC je pevnost v tahu kolagenních scaffoldů okolo 680 MPa oproti přibližně 100 MPa těch necrosslinkovaných. Dle [15] byly také u kolagenu crosslinkovaného pomocí EDC zjištěny cytotoxické účinky, byly však zanedbatelné oproti těm běžným pro kolagen crosslinkovaný glutaraldehydem.

Genipin je přírodní a biokompatibilní crosslinkovací činidlo, obsažené v plodech gardénie jasmínovité; strukturou se řadí mezi polyfenoly. Mechanismus formování crosslinků genipinem není dosud zcela známý, tato látka reaguje ovšem s NH<sub>2</sub> skupinami obsaženými v lysinu a vytváří mezi nimi můstky [6]. Crosslinkováním pomocí genipinu může být dosaženo podobných mechanických vlastností jako při užití glutaraldehydu. Ty jsou závislé na koncentraci genipinu a obecně je možné tvrdit, že čím koncentrovanější roztok genipinu je použit, tím vyšší pevnosti je dosaženo, jak ukázal výzkum [17]. Neobvyklou vlastností kolagenního materiálu crosslinkovaného genipinem je fluorescence, které může být využito při sledování degradace kolagenu. Genipin se zdá být pro budoucí aplikace nejslibnějším chemickým crosslinkovacím činidlem [15].

Mimo crosslinkování chemické je množné vytvořit mezimolekulární vazby také užitím fyzikálních metod, a to UV, rentgenovým a gamma záření, dehydrotermálním proces či elektrický paprsek. Výhodou užití fyzikálních metod crosslinkování oproti těm chemickým je především jejich lepší regulace pomocí změny doby crosslinkování, případně intenzity dané metody [15].

Crosslinkování pomocí UV záření bývá v praxi často užívanou metodou. Kolagen je při ní ozařován z několika centimetrů po dobu řádově desítek minut. Vznik crosslinků je následkem modifikace aminoskupin lysinu a hydroxylisinu, způsobené záření [15]. Výsledné mechanické vlastnosti materiálu je možné regulovat pomocí doby, po kterou je kolagen ozařován, viz obrázek 7. Na podobném principu funguje také crosslinkování gamma a rentgenovým zářením. Zásadní roli přitom hraje hydratace crosslinkovaného materiálu a doba síťování, neboť ozařování příliš suchého vzorku může mít za následek jeho degradaci [15].

Tzv. dehydrotermální metoda je způsob crosslinkování využitím vysokých teplot a velmi nízkých tlaků. Variace použitých teplot a doby, po které je jim kolagenní materiál vystaven, má za následek různé mechanické vlastnosti [18]. Opět obvykle platí, že čím déle je kolagen crosslinkován, tím vyšší pevnosti je dosaženo. Řádově se používá teplot okolo 120 °C po dobu v řádu dnů, přičemž tlak se udržuje na hodnotách okolo jednotek až desítek Pascalů [19]. Porovnání mechanických vlastností kolagenu crosslinkovaného různými metodami a vliv doby fyzikálního crosslinkování ukazuje obrázek 7.



Obrázek 7 – Mechnická odezva svazků kolagenních vláken v závislosti na typu crosslinkovacího činidla [18]:

*Uncrosslinked - necrosslinkovaný*

*DHT - 1 - Dehydrotermální crosslinkování po dobu 1 den*

*DHT - 3- Dehydrotermální crosslinkování po dobu 3 dny*

*UV - 15- Croslinkování pomocí UV záření po dobu 15minut*

*UV -30 - Croslinkování pomocí UV záření po dobu 30 minut*

*EDC - Chemické crosslinkování pomocí EDC*

## 5 Cévní náhrady

Za cévní náhradu je považován jakýkoliv tělní implantát, který byl do těla voperován za cílem obnovení funkce cévního řečiště. V zásadě lze cévní náhrady rozdělit na biologické, umělé a kombinované [2].

### 5.1. Biologické náhrady

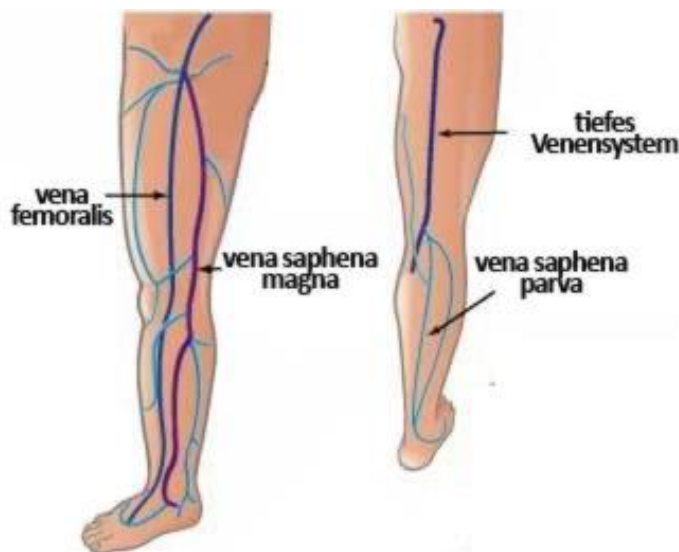
Nejstaršími používanými cévními náhradami jsou náhrady biologické. Jedná se o cévní transplantáty, které slouží k náhradě či bypassu nefunkční části krevního řečiště. Biologické náhrady mohou být získány přímo z těla příjemce (autotransplantáty), z jiného organismu stejného druhu (alotransplantáty), nebo organismu jiného druhu (xenotransplantáty) [2].

#### Autotransplantáty

Z biologického hlediska jsou tepenné autotransplantáty nejideálnější cévní náhradou. Při dobře provedeném odběru se implantovaná tepna téměř dokonale přizpůsobí vlastnostem původní, což je cílem pro každou náhradu. Zásadním nedostatkem tepenných autotransplantátů je omezená možnost jejich získávání v dostatečném množství, neboť naprostá většina tepen v těle je nepostradatelná pro jeho správné fungování. Značným omezením je také fakt, že je-li důvodem

rekonstrukce cévy ateroskleróza (která postihuje celý cévní systém), není možné jakýkoliv druh autotransplantátu, ať už tepenný nebo žilní, použít [2].

Žilní autotransplantáty jsou v praxi hojně využívány a představují jedinou možnost pro náhradu cév malých průsvitů (pod 6 mm) a průtoků (pod 150 ml/min). Téměř výhradně bývá jako transplantát užívána vena saphena magna (VSM), výjimečně pak vena saphena parva, vzhledem k jejich dobré přístupnosti (obě jsou zobrazeny na obrázku 8) [2]. Oproti tepnám je vrstva medie výrazně tenčí, naopak relativně nejsilnější je tunica adventicia, po transplantaci se ovšem histologické i mechanické vlastnosti žíly změní, a ta se postupně přizpůsobí vysokotlakému systému tepny [2]. Kromě této schopnosti přizpůsobit se místu užití patří mezi nesporné výhody žilních autotransplantátů dobrá přilnavost ke tkáni v místě implantace a odolnost vůči infekci, díky tomu že se jedná o tkáň tělu vlastní. Stinnou stránkou tohoto typu náhrad ovšem zůstává skutečnost, že pro získání autotransplátu je třeba dalšího operačního zákroku a podobně jako u tepenných autotransplátů, není možné využít žil pacientů postižených aterosklerózou či jinou chorobou postihující krevní řečiště. I přes tato značná omezení však zůstává VSM zlatým standardem cévních náhrad a dosud nebyla nalezena jiná alternativa pro použití v tepnách malých průsvitů [2].



Obrázek 8 - Žíly dolní končetiny [20]

### **Alotransplantáty**

Jednou z možností, jak se vyhnout nutnosti dalšího operačního zákroku na pacientovi za účelem získání autotransplátu, je využití alotransplátu, tedy tepny či cévy cizího dárce. Takový druh náhrady by měl podobné mechanické vlastnosti jako operovaná část cévního systému příjemce. Problémem takové náhrady je ovšem reakce imunitního systému, který náhradu odmítá, podobně jako je tomu při transplantaci jiných orgánů. Aby bylo tedy této reakci, jejímž následkem by byla postupná degradace transplantované tkáně, zabráněno, musí příjemce podstupovat imunosupresivní léčbu [2].

Přes tento nedostatek nacházejí tepenné alotranspláty v praxi uplatnění jako alternativní možnost, byla-li již využita jiná náhrada, která selhala. Tepny, které mohou být potenciálně využity jako náhrady, se buďto konzervují v roztocích a bývají použity do 48 hodin, nebo se

konzervují za nízkých teplot (-110 až -196 °C), a takto mohou být skladovány až desítky dní [2]. Životnost, jejíž délka se u tohoto druhu náhrad pohybuje v řádu let, bývá omezena vznikem trombózy a přílišným roztažením nebo dokonce rupturou náhrady, způsobenou imunologickou reakcí či infekcí [2].

Daleko méně využívaným druhem alotransplantátů jsou alotransplantáty žilní. Ty trpí stejnými nedostatky jako první typ, ale vzhledem k rozdílné struktuře stěny tepny a žíly je degradace tkáně rychlejší [2]. Obdobně jako je tomu u tepenných náhrad, i žíly potenciálně použitelné jako alotransplantáty, se uchovávají v hlubokém mrazu, bývají ovšem využívány pouze jako nouzová volba při nemožnosti použití tepenného alotransplantátu nebo cévního autotransplantátu [2].

## **Xenotransplantáty**

Relativně vzácně využívanou skupinou cévních náhrad jsou xenotransplantáty, tedy transplantáty z organismu jiného druhu. Důvodem pro jejich nepříliš časté využití v praxi je jejich imunologické omezení. Přestože se totiž po mechanické stránce jedná o vhodnou náhradu, tělo příjemce xenotransplantát odmítá, obdobně jako je tomu u alotransplantátů, a výsledkem je degradace implantátu až do úplného zániku [2].

V praxi využívaný xenotransplantát je např. Procol, distribuovaný společností Cryolife, který je vyroben z tepen hovězího dobytka. Ovšem jak sám výrobce udává, využívá se pouze v případě nutnosti, když předtím použitá umělá náhrada na pacientovi selhala [21]. Navíc, jak dokládá výzkum [22], většina těchto náhrad má krátkou životnost, způsobenou převážně vznikem trombu.

## **5.2 Umělé cévní náhrady**

Umělé cévní náhrady jsou průmyslově vyráběné protézy, které se různí konstrukčním provedením a použitými materiály. Použitím umělých protéz je možné se vyhnout mnohdy nesnadnému získávání cév a jejich výzkum je veden s vizí biologické transplantáty zcela nahradit. V současnosti bývají umělé náhrady běžně používány jako náhrady větších tepen, doposud se ovšem nepodařilo najít uspokojivé řešení náhrad cév s průsvitem menším 6 mm o průtoku pod 150 ml/min [2]. Protézy malých cév končí rychlým ucpáním náhrady zejména v důsledku tvorby trombu [1].

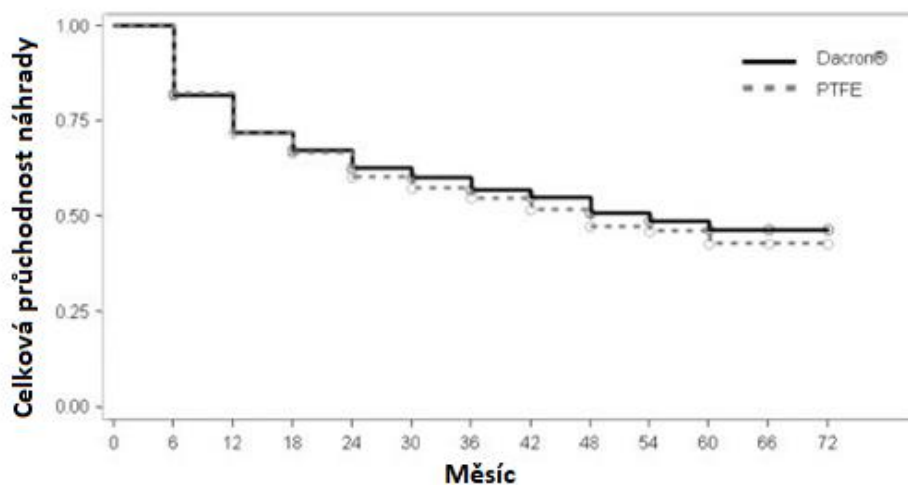
### **Požadavky na cévní protézy**

Je zřejmé, že z mechanického hlediska by měla být umělá céva co nejpodobnější té nativní, přičemž není problémem dosáhnout podobné pevnosti (ostatně i VSM je schopna vydržet vnitřní přetlak mnohonásobně vyšší, než je tlak krve v těle), ale především dosáhnout stejné odezvy na zatížení, aniž by přitom protéza trvale změnila svůj průsvit. Svoji strukturou pak musí být náhrada dostatečně porézní, aby umožnila prorůstání buněčných elementů. Porozita se v tomto smyslu definuje jako „množství vody v mililitrech, které pronikne čtverečním centimetrem stěny za minutu při tlaku 120 mmHg“ [2], přičemž ideální je v rozmezí 6000 – 7000 ml/min, a přijatelná 3000 – 4000 ml/min [2].

Z hlediska biologického je zcela zásadní, aby byla náhrada inertní, netoxická a nekancerogenní a ideálně také umožňovala tvorbu endotelu na své vnitřní straně, čímž by se snižovala rizika vzniku trombózy či aterosklerózy, a tím pádem snížení průchodnosti [1, 2]. Žádná dosud vyvinutá cévní protéza neoplývá všemi ideálními vlastnostmi.

## Materiál a technologie umělých náhrad

Zatímco první historicky zkoušené cévní protézy byly neporézní, záhy bylo zjištěno, že je porozita zásadní faktor pro dobré fungování náhrady, a v současnosti se vyrábí pouze náhrady typu porézního [2]. Jako nejvhodnější materiály pro výroby cévních protéz se ukázaly být různé druhy polyesterů. Byly to např. Nylon, Vinyon N (sloučenina vinylchloridu a akrylonitrilu) nebo Orlon (polyakrylová vlákna). Nejlépe se ovšem osvědčily dva materiály, kterými byl Dacron (tvořen polyethylentereftalátem) a Teflon (tedy polytetrafluoretylen, zkráceně PTFE), jež se užívají i v současných aplikacích [23]. Oba tyto materiály se používají ve formě vláken a jsou využívány pro svoji pevnost, odolnost proti tělním tekutinám a svoji netoxičnost. Cévní náhrady z obou materiálů vykazují podobné mechanické vlastnosti a jejich průchodnost je také srovnatelná (přestože výrazně nižší než při použití VSM), jak je znázorněno na obrázku 9 [24].



Obrázek 9 – Srovnání průchodnosti cévních protéz z Dacronu a PTFE v průběhu času u cév větších průměrů [24], upraveno

Z hlediska způsobu výroby je možné cévní protézy dělit na tkané, pletené a lité. Tkaný materiál vznikne příčným vetkáváním jednoho vlákna mezi ostatní, paralelně uložená. Tkané náhrady bývají minimálně porézní, což je sice vhodné při operaci, méně už pak pro správné fungování. Technologie tkaní se pro výrobu cévních náhrad v současnosti příliš nepoužívá, uplatnění nachází jen pro náhradu hrudní aorty, častější bývají náhrady pletené [2].

Při pletení se současně užívá dvou či více nití, které se splétají pomocí sady jehliček. Použitím rozličných vláken a jehliček lze měnit výslednou charakteristiku vzniknuvší náhrady. Výsledný materiál je poréznější, než je tomu u tkaní [2]. Z toho důvodu musí být pletené náhrady před implantací předsráženy krví, aby byla při operaci porozita snížena. Při výrobě pletených cévních náhrad se často využívá technologie zvané vrapování, tedy vytvoření zřasení podél stěny. Vrapování umožňuje podélné prodloužení protézy, a navíc zamezuje změně průsvitu při jejím ohnutí [2].

Mimo tkaní a pletení je možné vytvořit náhradu také litím, kdy je využito amorfního materiálu (nikoliv vláken) PTFE, který je lisován do formy trubice. Takto vytvořená protéza je sice porézní, její póry jsou ovšem příliš malé a nejsou propojeny, takže nesplňují čtenou funkci [2].

### 5.3 Kombinované cévní náhrady

V současnosti nejzkoumanějším a patrně nejnadějnějším typem cévních náhrad jsou náhrady využívající biologických materiálů jako svých komponent [1, 2]. Ty mohou mít různé formy a funkce.

V cévní protetice se biologické materiály používají pro zlepšení zejména biologických vlastností náhrad jako součásti tzv. sendvičových protéz. Ty se skládají ze tří vrstev. Prostřední vrstva se označuje za tzv. scaffold (anglicky „lešení“), který zpravidla zaručuje tuhost a zabraňuje dilataci protézy. Jako scaffoldy bývají využívány zejména polyestry [1]. Vnitřní a vnější část trubice je pak matrice, která bývá tvořena biologickým materiálem. Vnější část umožňuje růst buněk příjemce náhrady a tím zaručuje rychlejší vhojení náhrady [1]. Vnitřní část může být osazována endoteliálními buňkami, aby se zabránilo vzniku trombů.

Jako matrice bývají používány elastin, kolagen a nejnověji také chitosan (polysacharid) [1]. Elastinové trubice dosahují nejmenších pevností, jinak jsou ovšem jejich vlastnosti dobře ovladatelné pomocí různých druhů přípravy a v kombinaci s kolagenem vytváří materiál, jehož mechanické vlastnosti se velmi podobají vlastnostem nativních cév. Scaffoldy z chitosanu oproti tomu dosahují nejvyšších pevností [1].

## 6 Vzorky

Testované vzorky byly trubice používané jako cévní náhrady, lišící se svojí strukturou. Bylo zkoušeno celkem 18 vzorků. 9 z nich představovaly cévní protézy z polyesterového scaffoldu (pleteniny) v matrici z kolagenu ze sladkovodních ryb. Zbýlých 9 vzorků byly trubice bez polyesterové pleteniny, jednalo se tedy jen o kolagenní trubice. Kolagen byl v obou případech crosslinkován glutaraldehydem po dobu 10, 15, nebo 20 minut. Každá doba síťování byla zastoupena třemi vzorky každého typu trubic. Vzorky byly měkčeny glycerinem a sterilizovány zářením gamma o síle 28 kGy.

Experimentální tubulární vzorky byly zatěžovány vnitřním tlakem třemi rychlostmi zatěžování. Ty byly dány rychlostí posuvu pístu pulsátoru (stříkačky) a jeho zdvihem. Cyklické zatěžování probíhalo ve třech módech frekvencí A = 2,4, B = 72 a C = 144 cyklů/min. Frekvence 2,4 cyklů/min je výrazně nižší, než jaká se dá očekávat v lidském těle. Proto je tento typ zatěžování považován za kvazistatický. Frekvence 72 cyklů/min odpovídá tepové frekvenci srdce v klidu. Frekvence 144 tep/min odpovídá tepové frekvenci při zátěži.

Pro větší přehlednost bylo vytvořeno následující kódové značení vzorků:

CPRK\_10M\_A = Cévní Protéza s Pleteninou s matricí z Rybího Kolagenu, síťovaná 10 Minut, frekvence A = 2,4 cyklů/min

CPRK\_15M\_B = Cévní Protéza s Pleteninou s matricí z Rybího Kolagenu, síťovaná 15 Minut, frekvence B = 72 cyklů/min

CPbPRK\_20M\_C = Cévní Protéza Bez Pleteniny s matricí z Rybího Kolagenu, síťovaná 20 Minut, frekvence 144 C = cyklů/min

Pro tvorbu matrice byl využit 8% roztok kolagenu ve vodě. Kolagen byl získán z kůže sladkovodních ryb (kapra). Takto získaná kolagenní hmota je tvořena svazky kolagenních vláken,

kteřé jsou náhodně orientované. Díky výrobnímu procesu míchání neexistuje dominantní směr natočení vláken, hmota je tedy v makroskopickém měřítku izotropní [25, 26].

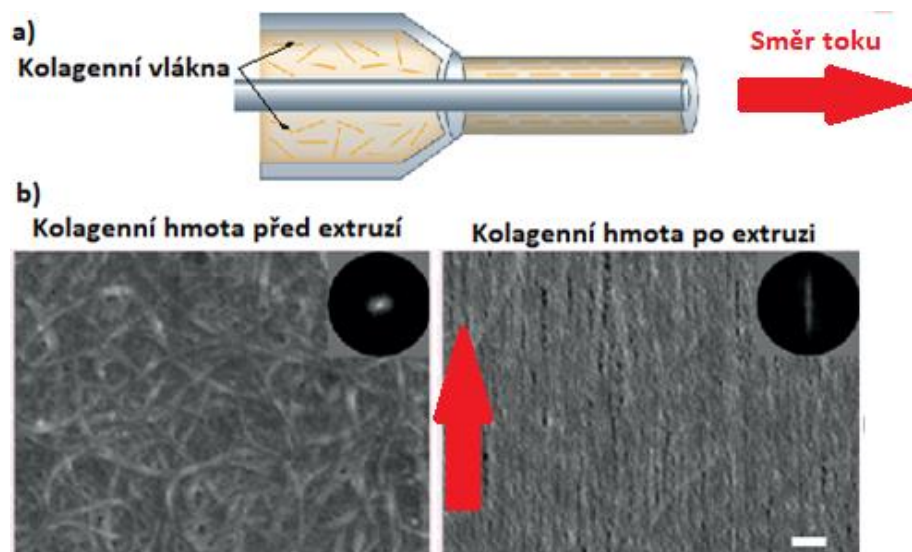
Zkoušené vzorky byly vyrobeny technologií extruze. Tento výrobní postup uspořádává vlákna ve směru toku kolagenní hmoty [27, 28], viz obrázek 11. Tím se izotropní kolagenní hmota stává materiálem ortotropním, jejíž vlastnosti ve směru extruze se liší od směru kolmého ke směru extruze. To umožňuje provádět výpočty v axiálním a obvodovém směru, jak je popisuje kapitola 7.

Cévní náhrady byly vyrobeny v délce 200 mm. Měřené vzorky vznikly separací úseků trubic o délce přibližně 50 mm. Z obou konců takto vzniklých vzorků byly ušříženy tenké proužky, viz obrázek 10. Tyto proužky byly rozšříženy a byly změřeny základní geometrické rozměry. Na každém proužku byla pomocí digitálního mikrometru na pěti různých místech změřena tloušťka. Průměrná hodnota těchto měření pak byla pokládána za referenční tloušťku vzorku. Dále byly tyto úšřížky rozvinuty do roviny a digitálním posuvným měřidlem byl změřen jejich obvod. Z obvodu byl vypočten střední průměr vzorků. Výsledky měření geometrie jsou prezentovány v tabulce 2.



Obrázek 10 - Vzorek protězy s úšřížky pro měření geometrie





Obrázek 11 - Usměrnění svazků kolagenních vláken při extruzi – a) – schéma extruze, b) – struktura kolagenní hmoty před a po extruzi. Snímky z elektronového mikroskopu (v pravém horním rohu znázorněn dominantní směr vláken) [27], upraveno

Vzorky	$H$ [mm]	$SD(H)$ [mm]	$d$ [mm]	$SD(d)$ [mm]
CPRK 10M	0,436	0,016	4,61	0,03
CPRK 15M	0,508	0,052	4,38	0,23
CPRK 20M	0,497	0,032	4,55	0,02
CPbPRK 10M	0,411	0,046	4,23	0,10
CPbPRK 15M	0,419	0,039	4,17	0,14
CPbPRK 20M	0,436	0,051	4,59	0,07

Tabulka 2 - Geometrie vzorků

## 7 Výpočet napětí

Pro výpočet obvodového a axiálního napjatosti ve stěně testovaných vzorků může být využito teorie tenkostěnných, či tlustostěnných válcových nádob. Pro použití tenkostěnné teorie musí nádoby (skořepiny) splňovat několik podmínek. Z geometrického hlediska musí být jeden jejich rozměr výrazně menší než ostatní rozměry. Z hlediska mechanického musí být skořepiny v tzv. membránovém stavu, tedy stavu, při kterém nepřenáší ohybové ani kroučící momenty, pouze síly [29]. Pro zachování membránového stavu musí skořepina splňovat následující podmínky: velikost spojitého zatížení stěny a její tloušťka se nesmí měnit náhle, poloměr křivosti a poloha středu křivosti se nesmí skokově měnit, vnější síly, které působí na skořepinu, musí mít směr tečny k povrchu skořepiny [29]. Poměr tloušťky stěny ku průměru trubic se pohybuje okolo 1/10, viz tabulka 2 Tento poměr lze dle [29] považovat za mezní, je tedy možné použít jak teorii skořepin, tak teorii tlustostěnných nádob. Teorie tenkostěnných nádob je ovšem výrazně jednodušší na použití a vzhledem k tomu, že hlavním cílem práce je zkoumané trubice porovnat, je teorie skořepin dostačující. Bude tedy využit tento výpočtový model.



Teorie tenkostěnných nádob může být odvozena z bilance napětí v nekonečně malém elementu stěny nádoby, viz obrázek 12. Na tento element působí síla  $dF$ , vyvolaná tlakem  $p$ , který působí uvnitř skořepiny. Vlivem této síly vznikají napětí  $\sigma_1$  a  $\sigma_2$ , která svírají s rovinou kolmou na směr působení síly úhly  $\frac{d\alpha_1}{2}$  a  $\frac{d\alpha_2}{2}$ . Napětí, které vzniká ve směru kolmém na stěnu (tedy ve směru síly  $dF$ ), se považuje za zanedbatelné pro malou tloušťku stěny  $H$ . Je pak možné sestavit rovnici rovnováhy ve tvaru:

$$\sigma_1 \sin \frac{d\alpha_1}{2} H dm + 2\sigma_2 \sin \frac{d\alpha_2}{2} H dk - dF = 0 \quad (1)$$

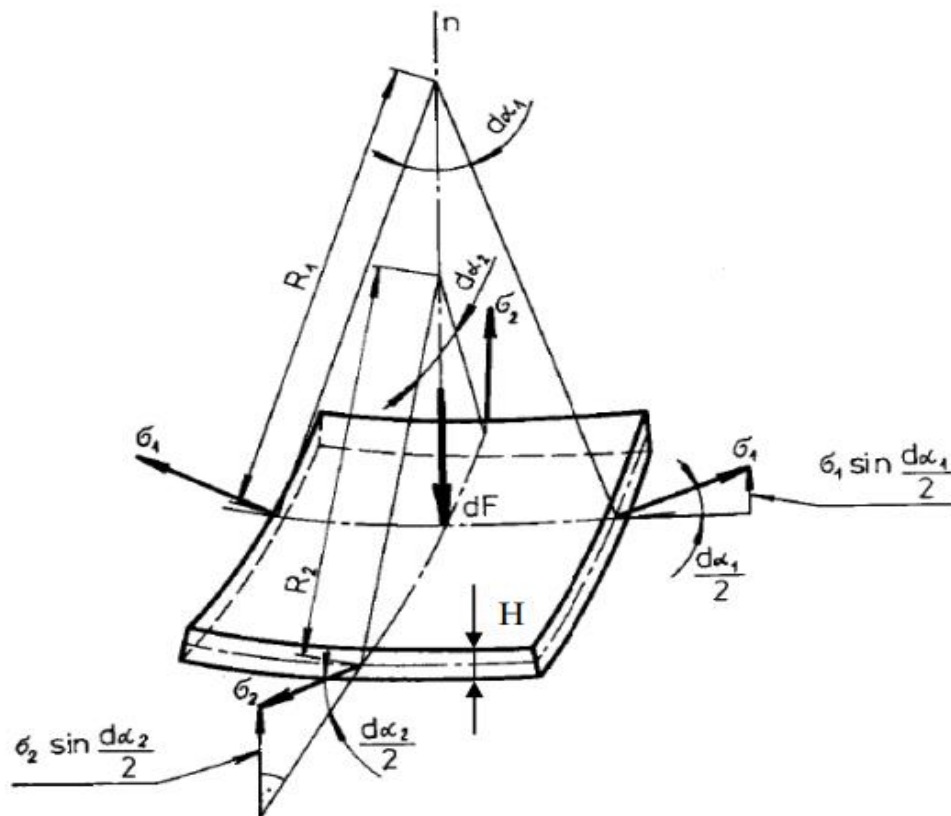
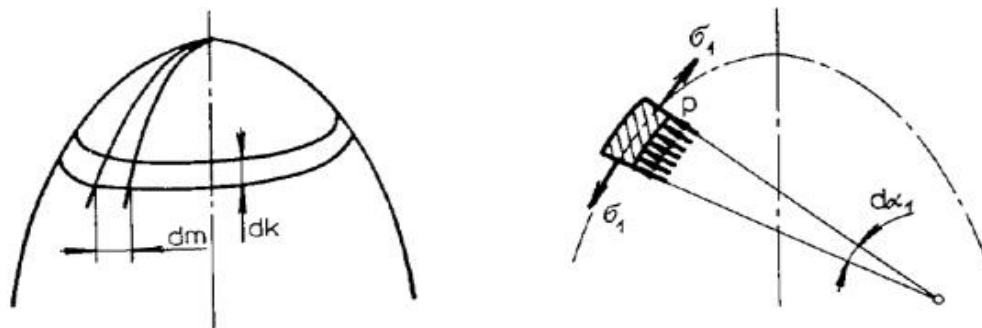
Pro malé úhly  $d\alpha_1$  a  $d\alpha_2$  je možné uvažovat zjednodušení:

$$\sin \frac{d\alpha_1}{2} \approx \frac{d\alpha_1}{2} \quad \text{a} \quad \sin \frac{d\alpha_2}{2} \approx \frac{d\alpha_2}{2} \quad (2)$$

Z geometrie lze také odvodit, že:

$$dk = R_1 d\alpha_1 \quad \text{a} \quad dm = R_2 d\alpha_2 \quad (3)$$

kde  $R_1$  a  $R_2$  jsou poloměry křivosti v jednotlivých směrech.



Obrázek 12 - Element skořepiny [29]

Pro sílu  $dF$ , která je důsledkem působení tlaku  $p$ , pak platí:

$$dF = p \, dk \, dm = p \cdot R_1 \, d\alpha_1 \cdot R_2 \, d\alpha_2 \quad (4)$$

Dosazením vztahů (2) a (4) do rovnice (1) pak vzniká vzorec (5), známý jako Laplaceův vztah [29].

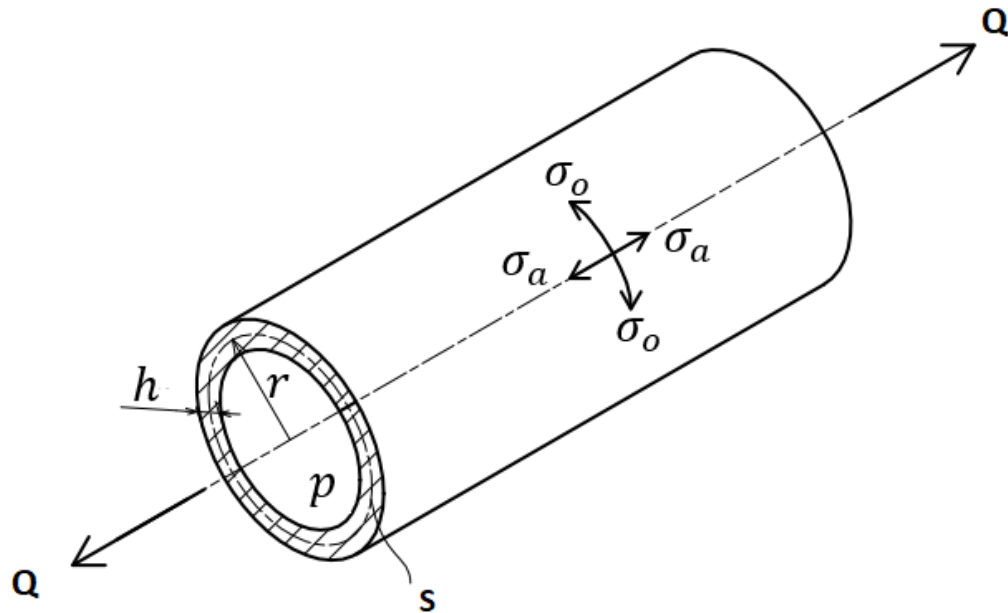
$$\frac{\sigma_1}{R_1} + \frac{\sigma_2}{R_2} = \frac{p}{H} \quad (5)$$

Pro výpočet napětí testovaných vzorků je vzhledem k jejich geometrii a orientaci kolagenních vláken vhodné definovat napětí do dvou směrů jako napětí axiální  $\sigma_a$  a napětí obvodové  $\sigma_o$ , kterým náleží poloměry křivosti  $R_a$  a  $R_o$ . Poloměr křivosti v axiálním směru je teoreticky nekonečný, neboť je trubice podél osy považována za rovnou, a  $R_o$  odpovídá okamžitému poloměru trubice  $r$ . Při dosazení do rovnice (5) potom vyplývají následující vztahy:

$$\frac{\sigma_a}{\infty} + \frac{\sigma_o}{r} = \frac{p}{h} \quad (6)$$

$$\sigma_o = r \frac{p}{h} \quad (7)$$

kde  $r$  a  $h$  jsou okamžitý poloměr trubice a okamžitá tloušťka její stěny. (Geometrie vzorku je znázorněna na obrázku 13.



Obrázek 13 - Geometrie testovaných trubic

Na pomyslné dno nádoby, tedy spodní (pohyblivý) upínací trn, působí síla  $Q$ , kterou způsobuje tlak  $p$  uvnitř trubice. Tato síla způsobuje ve stěně vzorku axiální napětí. Zjednodušeně lze uvažovat, že dno nádoby tvoří plochu kruhu o obsahu  $\pi r^2$  a axiální napětí vzniká v ploše  $S$ , pro kterou lze uvažovat, že je rovná součinu obvodu trubice a tloušťky její stěny:  $S = 2\pi r h$ . Potom lze pro axiální napětí ve vzorku určit následující vztah:

$$\sigma_a = \frac{Q}{S} = \frac{p\pi r^2}{2\pi r h} = \frac{rp}{2h} = \frac{\sigma_t}{2} \quad (8)$$

Okamžitý poloměr  $r$  je přitom získán ze snímků, které byly pořízeny při experimentu. Pro výpočet okamžité tloušťky stěny  $h$  se vychází z premisy nestlačitelnosti materiálu. Pro poměrná prodloužení  $\lambda_a$  v axiálním,  $\lambda_o$  v obvodovém a  $\lambda_r$  v radiálním směru platí následující rovnice:

$$\lambda_a \cdot \lambda_o \cdot \lambda_r = 1 \quad (9)$$

$$\lambda_o = \frac{r}{R} \quad (10)$$

$$\lambda_a = \frac{l}{L} \quad (11)$$

$$\lambda_r = \frac{h}{H} = \frac{1}{\lambda_a \cdot \lambda_o} \quad (12)$$

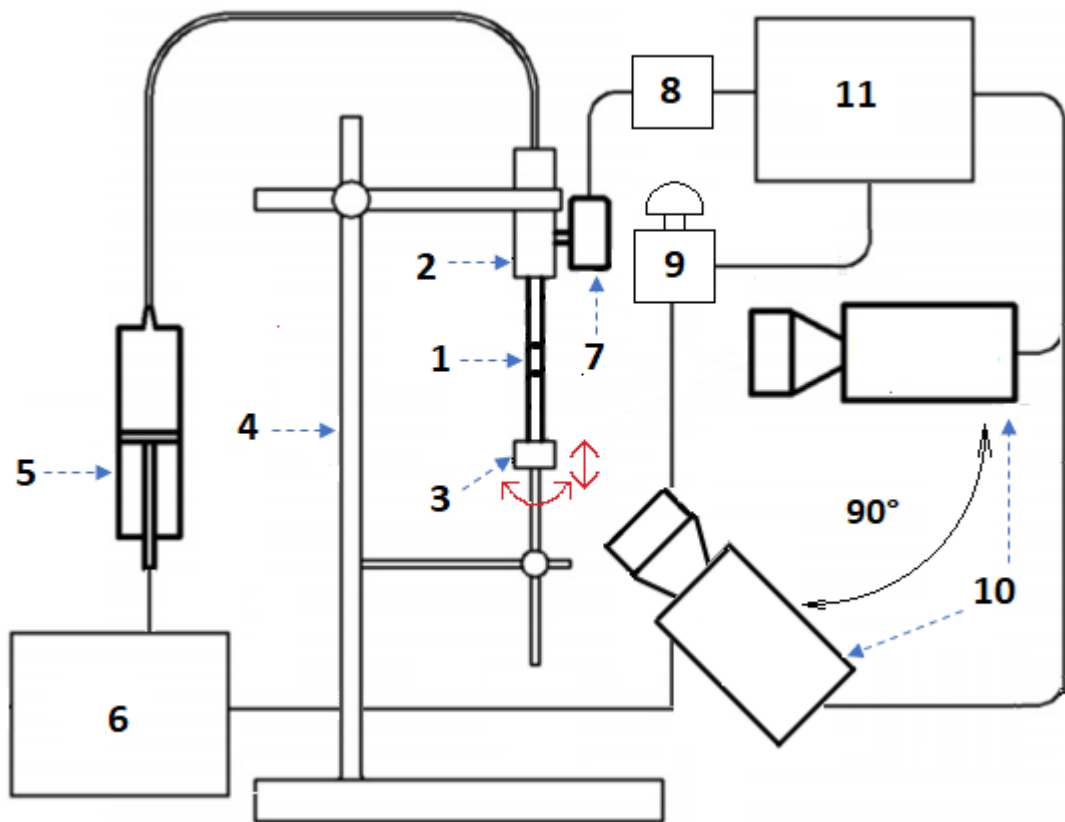
kde  $l$  a  $L$  je okamžitá a referenční délka vzorku (vzdálenost markerů) a  $h$  a  $H$  je okamžitá a referenční tloušťka stěny. Dosazením vztahů (10), (11) a (12) do rovnice (7) je pak možné vyjádřit jednotlivá napětí jako:

$$\sigma_o = Rp \frac{\lambda_o^2 \lambda_a}{H} = p \frac{r^2 l}{RHL} \quad (13)$$

kde tlak  $p$ , aktuální poloměr  $r$  a aktuální a referenční délka  $l$  a  $L$  jsou měřeny a zaznamenávány počítačem a referenční tloušťka stěny vzorku  $H$  a jeho referenční poloměr  $R$  byly změřeny, jak bylo popsáno v části 6.

## 8 Provedení experimentu

V rámci práce byly provedeny inflačně-extenzní testy vzorků cévních náhrad a tubulárních vzorků z kolagenní hmoty. Oba typy vzorků byly cyklicky zatěžovány vnitřním tlakem. Cyklické zatěžování bylo řízeno zdvihem a rychlostí posuvu pístu pulsátoru. Frekvence zatěžování byly: A = 2,4 cyklů/min, B = 72 cyklů/min, C = 144 cyklů/min. Schéma experimentálního systému je znázorněno na obrázku 14.



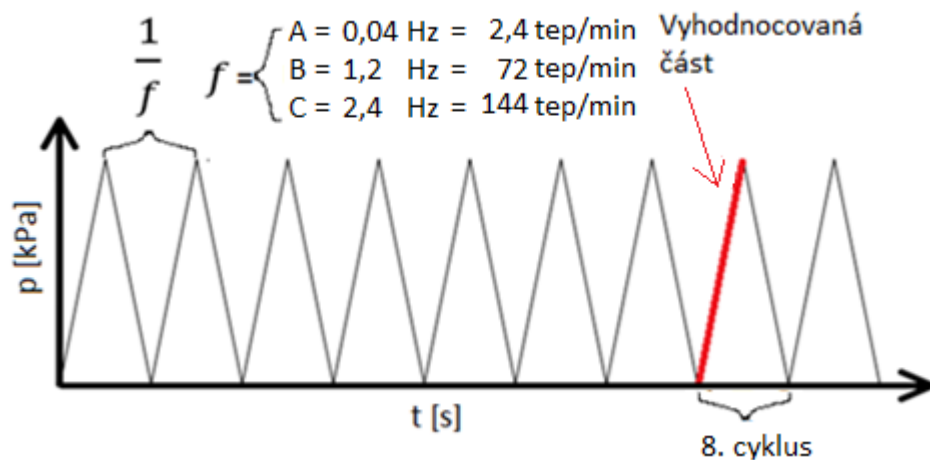
Obrázek 14 - Schéma měřícího systému pro inflačně-extenzní test, převzato z [32], upraveno:  
1 – Vzorek, 2 – Horní pevný upínací trn, 3 – Spodní pohyblivý upínací trn s vyznačením možnosti pohybu,  
4 – Stojan, 5 – Pulsátor, 6 – Řídící počítač pulsátoru, 7 – Tlakový senzor, 8 – Analogově-digitální převodník, 9 – Synchronizační tlačítko, 10 – Kamerový systém sloužící jako videoextenzometr, 11 – Měřící počítač

Vzorky (1) byly umístěny mezi dva trny na stojanu (4) před kontrastní pozadí, viz obrázek 16. Spodní pohyblivý trn (3) umožňoval natočení a axiální pohyb deformujícího se vzorku vůči pevnému trnu (2). Na vzorku byly vyznačeny značky pro měření axiální deformace. Do vzorků byla pulsátorem (5) cyklicky pumpována voda, viz obrázek 16. Tlak byl snímán tlakovým modulem KTS s rozsahem do 200 kPa (7). Záznam tlaku byl konvertován A/D převodníkem National Instruments USB-6289 (8) a ukládán do počítače (11) pomocí programu LabView.

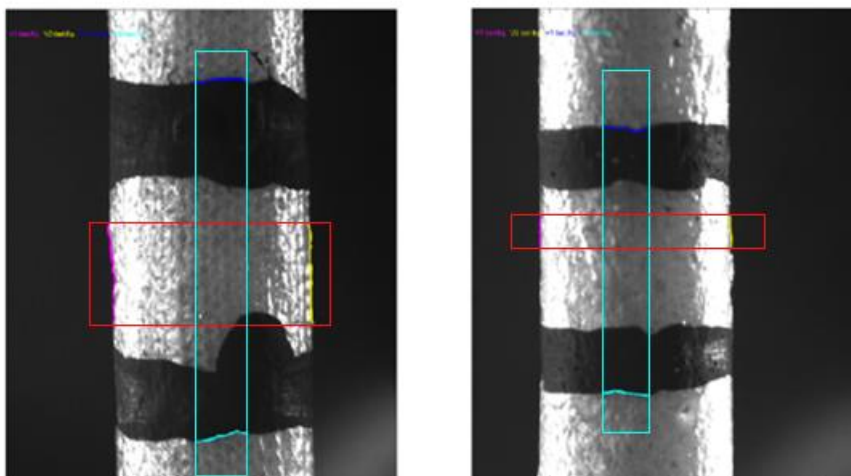
Pulsátor byl regulován počítačem (6). Deformace vzorků byla snímána dvěma kamerami Basler acA-2500 s rozlišením 5 MPx (10), které byly umístěny v úhlu 90° okolo vzorku a fungovaly jako videoextenzometry. Záznam tlaku a snímky kamer byly synchronizovány pomocí synchronizačního tlačítka (9) a ukládány do měřicího počítače (11). Při experimentu bylo využito osvětlení Helios Led 200.

Výstupem takto provedených měření byly snímky, zachycující vzorek v různých deformačních stavech, viz obrázek 16. Rozlišení těchto snímků bylo 0,01mm/pixel. Během každého měření bylo získáno cca 2500 snímků z každé kamery. Na těchto snímcích byly dále vyznačeny oblasti pro detekci vertikálních a horizontálních hran vzorků – *region of interest* (ROI), viz obrázek 16. Ze snímků každé kamery byly měřeny obvodová a axiální deformace. Jejich hodnoty byly v každém okamžiku zprůměrovány na výslednou hodnotu deformací. Využití dvou kamer umístěných v 90° okolo vzorku snižuje nepřesnosti, které mohou vzniknout např. jako následek nehomogenní tloušťky stěny podél obvodu. Nehomogenita může způsobovat nekruhové deformování tubulárního vzorku, které by nebylo při použití jedné kamery kompenzováno.

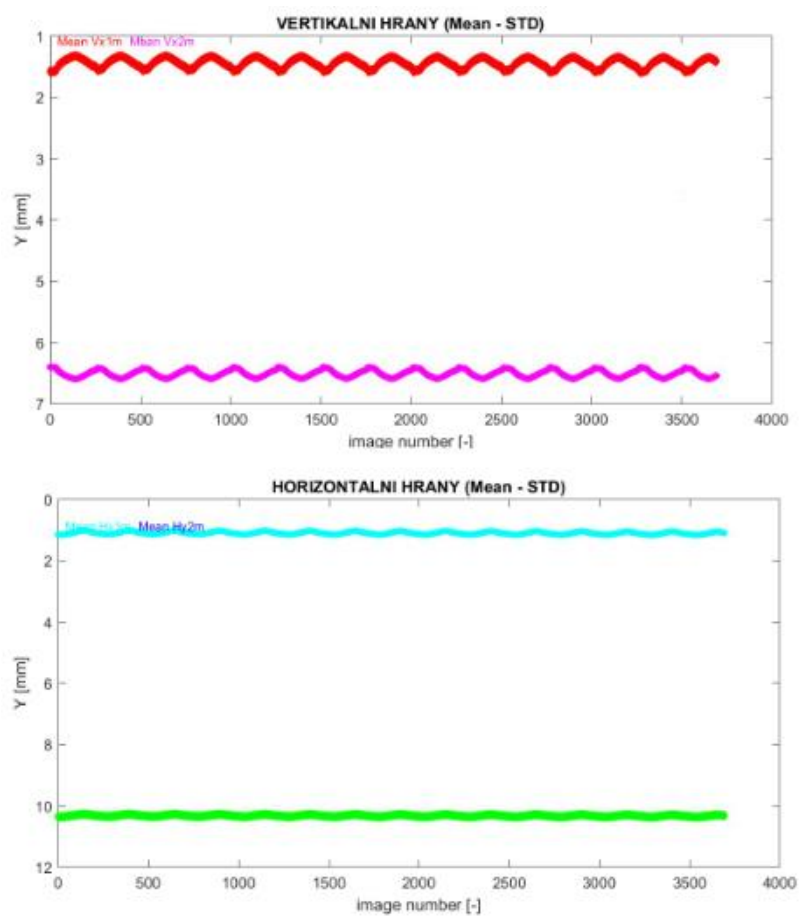
Tato měření byla provedena na všech 18 vzorcích pro tři rychlosti zatěžování, viz kapitola 6. Celkem tedy bylo vyhodnoceno 54 inflačně extenzních testů, což obnášelo detekci hran na přibližně 135 000 snímcích. Během každého měření byl vzorek zatížen minimálně 9 tlakovými cykly. Pro další vyhodnocování byla vybrána zatěžovací část 8. cyklu, viz obrázek 15. 8. cyklus byl vybrán, neboť předchozí cykly byly považovány za předcyklování, kdy docházelo k ustavování vnitřních a vnějších vazeb vzorku. Tento postup je ve shodě s testy provedenými při vyhodnocování mechanické odezvy VSM [3, 30-32].



Obrázek 15 - Schéma průběhu vnitřního tlaku



Obrázek 16 - Snímky vzorků s vyznačeným ROI – červeně ROI pro detekci vertikálních hran, modře ROI pro detekci horizontálních hran: vlevo trubice s pleteninou, vpravo trubice bez pleteniny



Obrázek 17 – Deformace vzorku v průběhu experimentu, získaná jako střední hodnota ze dvou extenzimetrů

Synchronně se záznamem deformací vzorku byl snímán také tlak uvnitř vzorků. Počátek snímání tlaku a záznam videoextenzometrů byl dán vzestupnou hranou TTL signálu synchronizačního tlačítka, viz obrázek 14. Synchronizace záznamů deformace trubic a vnitřního tlaku umožnila výpočet obvodového a axiálního napětí dle kapitoly 7. Vzorkovací frekvence tlakového senzoru byla 600 Hz. Vzorkovací frekvence videoextenzometrů byly voleny tak, aby jimi byla frekvence tlakového senzoru beze zbytku dělitelná, viz tabulka 3. Díky tomu odpovídala každému deformačnímu stavu právě jedna hodnota tlaku.

Značení rychlosti	Frekvence zatěžování	Snímací frekvence tlakového senzoru	Snímací frekvence videoextenzometrů
A	0,04 Hz = 2,4 tep/min	600 Hz	10 Hz
B	1,2 Hz = 72 tep/min	600 Hz	100 Hz
C	2,4 Hz = 144 tep/min	600 Hz	150 Hz

Tabulka 3 - Nastavení snímací techniky v různých módech zatěžování

Mechanické odezvy zkoumaných vzorků jsou v práci prezentovány prostřednictvím závislostmi napětí-deformace v obvodovém a axiálním směru.

## 9 Výsledky

Tubulární vzorky byly cyklicky zatěžovány vnitřním přetlakem. Byla provedena rozměrová analýza všech typů vzorků. Výstupem experimentu jsou závislosti napětí-deformace jednotlivých trubic pro různé rychlosti zatěžování. Bude použito kódové značení vzorků, jak je uvedeno v kapitole 6.

### 9.1 Analýza geometrie

Z konců vzorků byly separovány kroužky, na nichž byla změřena geometrie vzorků, jak bylo popsáno v kapitole 6. Tloušťka stěny vzorku  $H$  byla získána jako průměr z deset měření podél obvodu. Střední průměr vzorků byl vypočten z průměrné hodnoty dvou měření obvodu vzorku. Výsledky těchto měření byly statisticky zpracovány pomocí jednorozměrné analýzy rozptylu (ANOVA) bez opakování v programu MS Excel. Za hladinu významnosti se považuje hodnota  $P = 0,05$ , která odpovídá statistické pravděpodobnosti 95 %. Cílem analýzy bylo zjistit, zda doba síťování má vliv na geometrii vzorků. Výsledky analýzy jsou uvedeny v tabulkách 4 a 5.

Vzorky	$H$ [mm]	$d$ [mm]
CPRK 10M	0,436	4,61
CPRK 15M	0,508	4,38
CPRK 20M	0,497	4,55
$P$	$2,74 \cdot 10^{-11} *$	0,024*

Tabulka 4 - Geometrie protéz s pleteninou a hodnota statistické významnosti  $P$



Vzorky	$H$ [mm]	$d$ [mm]
CPbPRK 10M	0,411	4,23
CPbPRK 15M	0,419	4,17
CPbPRK 20M	0,436	4,59
$P$	0,081	0,42

Tabulka 5 - Geometrie trubic bez pleteniny a hodnota statistické významnosti  $P$

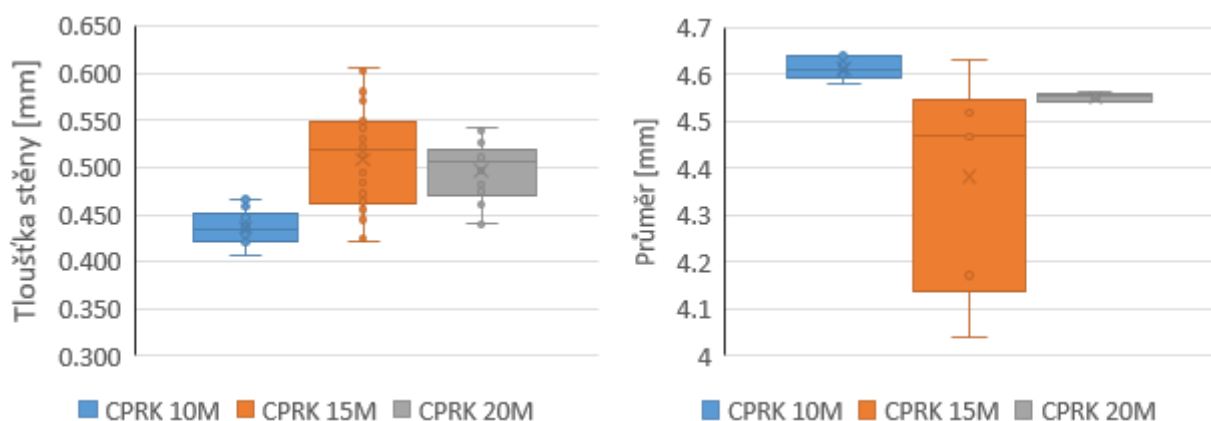
Statisticky významné rozdíly byly pozorovány u geometrie trubic s pleteninou. Pro přesnější analýzu byl proveden dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu mezi různě dlouho síťovanými protézami. Bylo zjištěno, že se významně liší pouze vzorky CPRK\_10M. Ty mají menší průměr a větší tloušťku stěny než zbylé dva typy vzorků s pleteninou, viz obrázek 18. Rozdíly mezi CPRK\_15M a CPRK\_20M nebyly významné. U vzorků bez pleteniny nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly ani v tloušťce stěny, ani v průměru. Z obrázku 19 je patrné, že rozptyl v tloušťce stěn vzorků CPbPRK je výraznější u déle crosslinkovaných trubic.

Mimo doby síťování ovlivňovala geometrii vzorků také přítomnost pleteniny. Rozdíly v tloušťkách stěn  $\Delta H = H_{CPRK} - H_{CPbPRK}$  a středních průměrech  $\Delta d = d_{CPRK} - d_{CPbPRK}$  jsou znázorněny v tabulce 6.

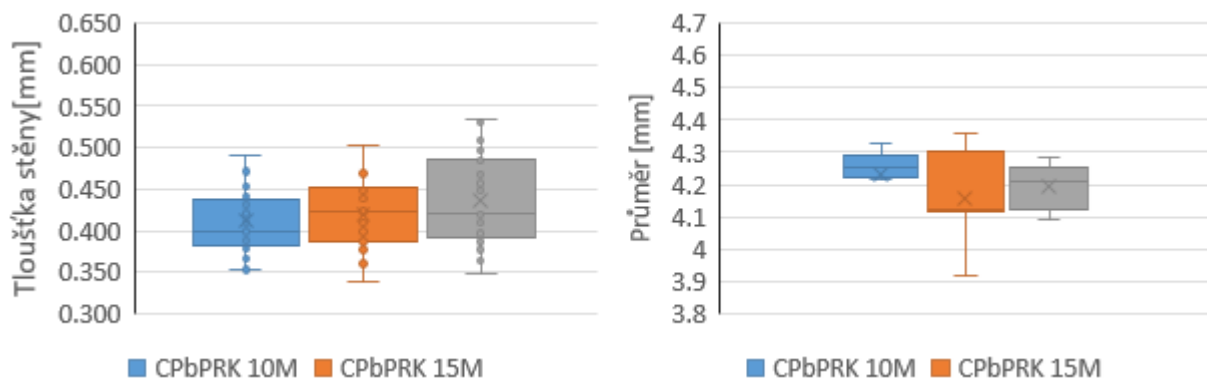
Doba síťování [min]	$\Delta H$ [mm]	$\Delta d$ [mm]
10	0,025	0,38
15	0,089	0,21
20	0,061	-0,04

Tabulka 6 - Rozdíly tlouštěk stěn a středních průměrů mezi trubicemi s pleteninou a bez ní

Z tabulky vyplývá, že stěny trubic s pleteninou jsou mohutnější než trubice. Trubice s pleteninou mají větší průměr v případě síťování 10 a 15 minut. Z trubic síťovaných 20 minut mají nepatrně větší průměr trubice bez pleteniny.



Obrázek 18 - Geometrie vzorků s pleteninou



19 - Geometrie vzorků bez pleteniny

## 9.2 Inflační testy

Inflační testy byly provedeny se dvěma typy trubic, které se lišily integrací polyesterové pleteniny jako scaffoldu. Bylo zkoušeno 9 vzorků cévních protéz tvořených touto pleteninou umístěnou v matrici z kolagenu ze sladkovodních ryb. Dalších 9 vzorků neobsahovalo pleteninu, jednalo se tedy pouze o kolagenové trubice. Vzorky byly dále rozděleny dle doby síťování kolagenu, který byl crosslinkován 10, 15, nebo 20 minut. Každá z těchto dob síťování byla zastoupena třemi vzorky z dané skupiny. Dohromady tedy bylo zkoušeno 18 vzorků. Každý z nich byl cyklicky namáhán třemi rychlostmi zatěžování (2,4, 72, nebo 144) pulzů/min. Celkem tak bylo provedeno 54 inflačně-extenzních testů.

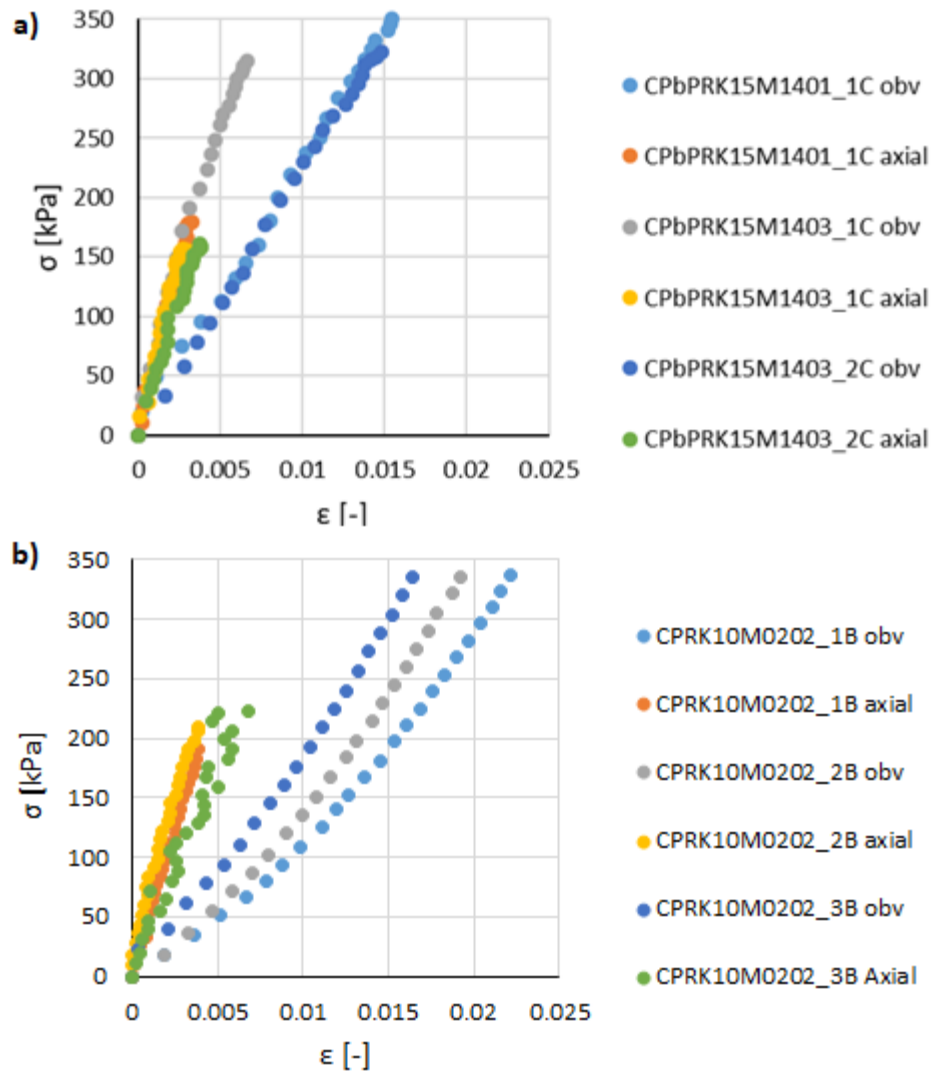
Trubice byly testovány obdobně, jako je tomu u nativních cév [3]. Byly tedy nejprve předcyklovány. K vyhodnocení byla vybrána zatěžovací část 8. cyklu.

Ze získaných dat byly vytvořeny grafy závislosti napětí na deformaci jednotlivých vzorků, jak je znázorněno na obrázku 20. Z něj je zřejmé, že některé vzorky se při testu chovaly výrazně jinak než ostatní vzorky stejné skupiny, viz obrázek 18 a). V takovém případě byla data odchylených pozorování vyřazena z další analýzy. Pokud se mechanická odezva jednotlivých vzorků stejné skupiny výrazně nelišila, byly analyzovány všechny vzorky, viz obrázek 20 b).

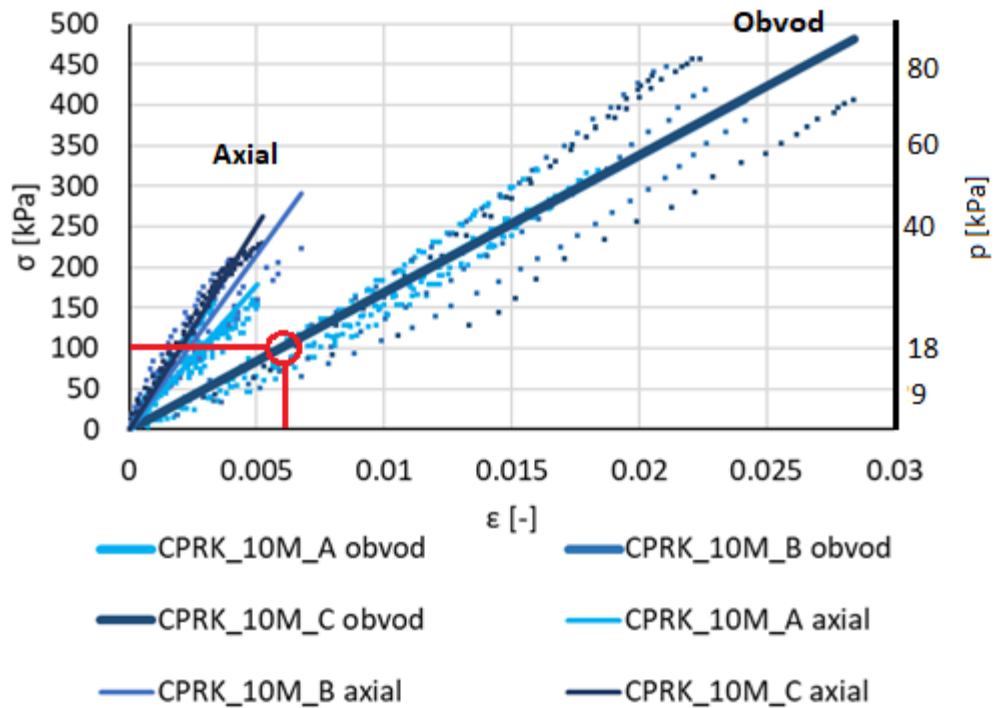
Na obrázcích 21-26 jsou grafy mechanické odezvy všech typů protéz s vyznačenou obvodovou deformací při napětí 100 kPa, které nastávalo přibližně při tlaku 18 kPa = 135 mmHg. Hodnoty tlaku v těchto grafech jsou pouze orientační a platné pro obvodová napětí.

Z důvodu kvalitativního porovnání jednotlivých skupin obsahují tyto grafy také lineární regrese, které byly získány proložení všech dat dané skupiny. Přímkami těchto lineárních regresí jsou nastaveny na nulovou počáteční hodnotu, jejich předpis je tedy ve formě  $y = ax$ , kde proměnné  $x$  odpovídá poměrná deformace  $\epsilon$ , proměnné  $y$  odpovídá napětí  $\sigma$  a parametr  $a$  je směrnici této přímkou, vypovídající o „průměrné tuhosti“ vzorků. Tyto lineární regrese byly provedeny v axiálním i obvodovém směru.

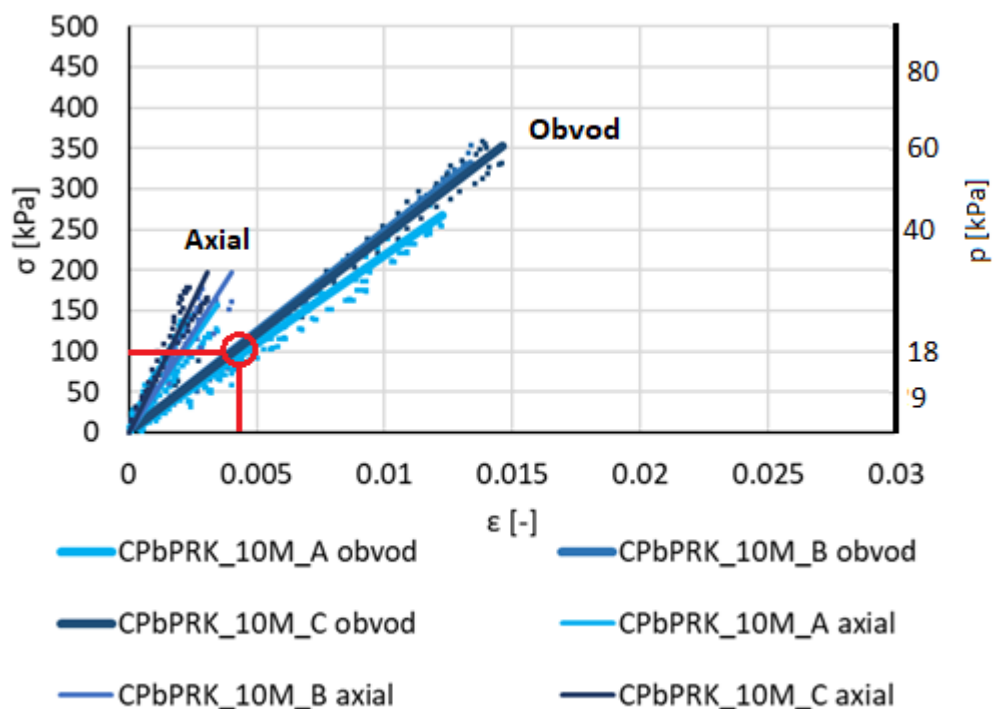
V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty parametru  $a$  a koeficient determinace  $R^2$ . Koeficient determinace určuje úspěšnost provedené regrese. Ovšem vzhledem k tomu, že v tomto experimentu bylo vyhodnocováno více vzorků každého typu, je koeficient determinace ovlivňován také rozptylem charakteristik jednotlivých vzorků. Nevypovídá tedy čistě o linearitě mechanické odezvy, viz obrázky 21-26.



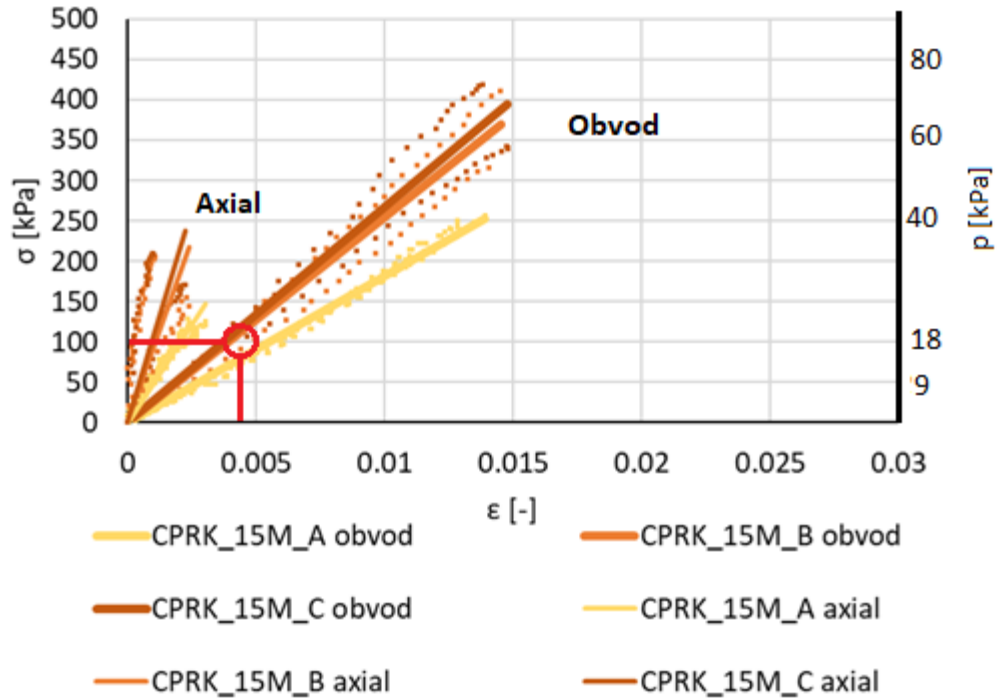
Obrázek 20 – Příklad mechanické odezvy vzorků  
 a) – odezva jednotlivých vzorků CPbPRK\_15M\_C, b) – odezva jednotlivých vzorků CPRK10M\_B



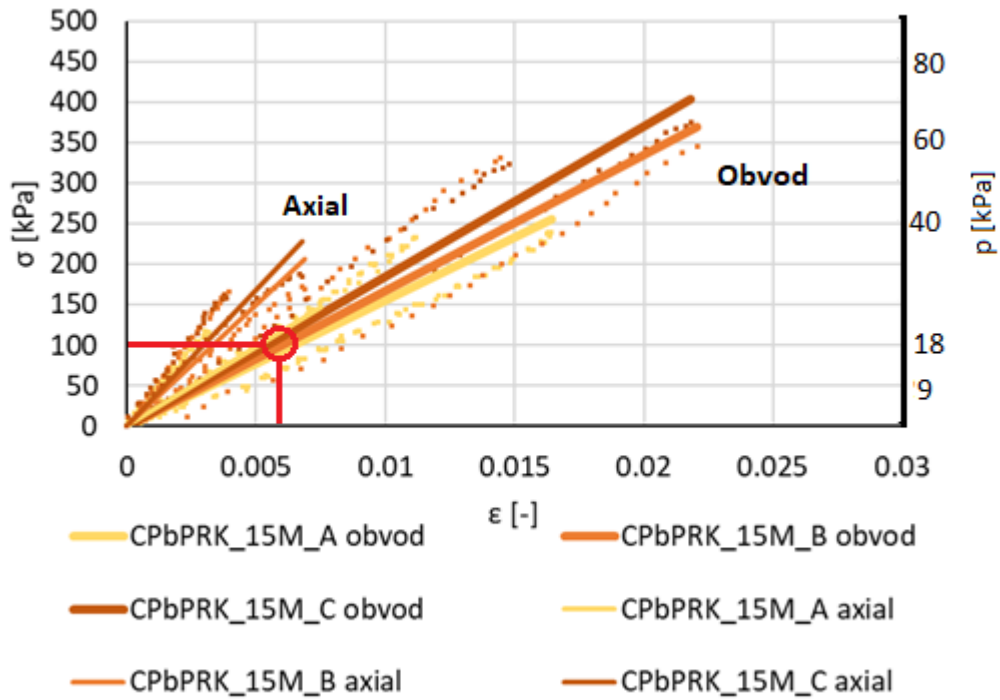
Obrázek 21 - Mechanické charakteristiky vzorků s pleteninou síťovaných 10



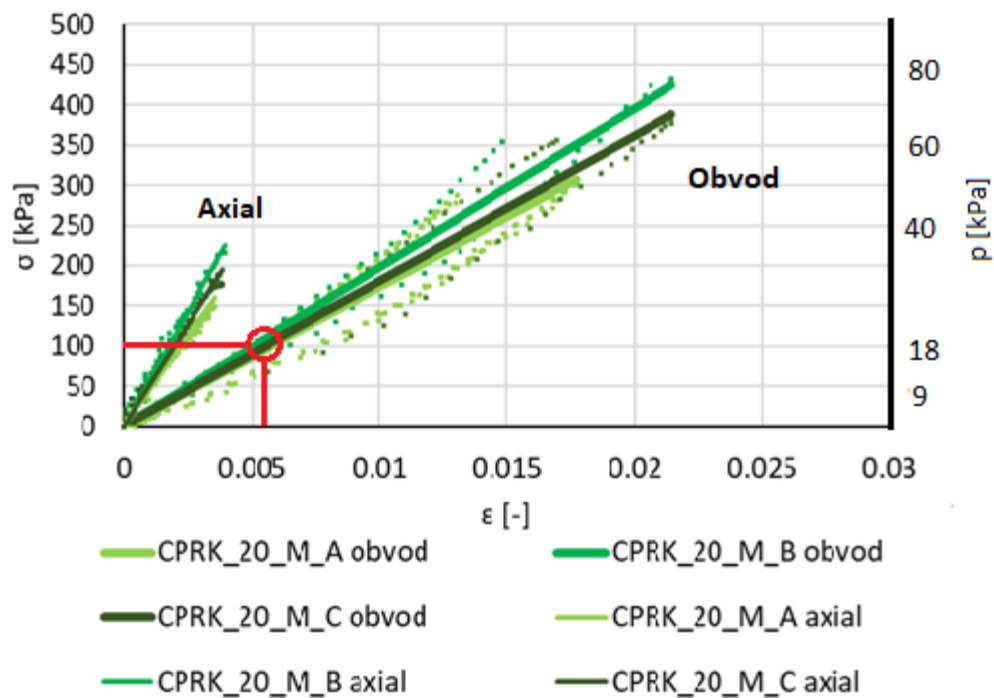
Obrázek 22 – Mechanické charakteristiky vzorků bez pleteniny síťovaných 10 minut



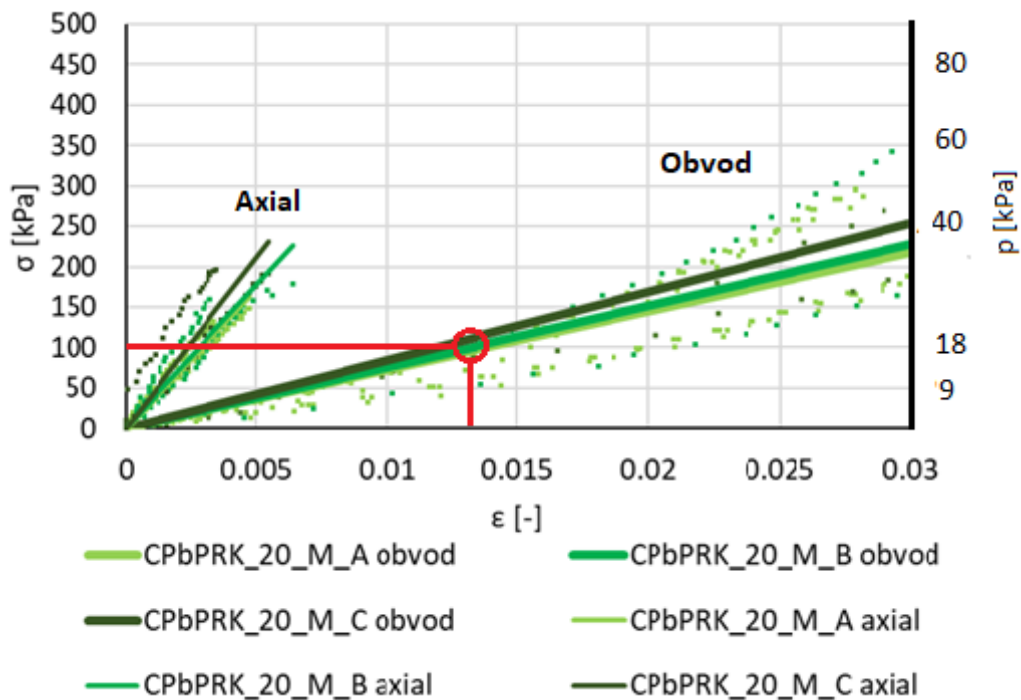
Obrázek 23 - Mechanické charakteristiky vzorků s pleteninou síťovaných 15 minut



Obrázek 24 - Mechanické charakteristiky vzorků bez pleteniny síťovaných 15 minut



Obrázek 25 - Mechanické charakteristiky vzorků s pleteninou síťovaných 20 minut



Obrázek 26 -- Mechanické charakteristiky vzorků bez pleteniny síťovaných 20 minut

Typ vzorku	$a$ obvod [kPa]	$R^2$ obvod	$a$ axial [kPa]	$R^2$ axial	Počet vyhodnocených vzorků
CPRK_10_A	16993	0,96	35674	0,86	3
CPRK_10_B	16859	0,89	43170	0,78	3
CPRK_10_C	16917	0,8	50026	0,96	3
CPRK_15_A	18136	0,99	47877	0,94	2
CPRK_15_B	25423	0,94	90717	0,53	2
CPRK_15_C	26728	0,92	105664	0,54	2
CPRK_20_A	17303	0,92	45070	0,97	2
CPRK_20_B	19801	0,95	57406	0,97	2
CPRK_20_C	18100	0,91	50935	0,98	2
CPbPRK_10_A	21840	0,96	45806	0,78	2
CPbPRK_10_B	24775	0,99	49098	0,89	2
CPbPRK_10_C	24155	0,95	64289	0,85	2
CPbPRK_15_A	15526	0,83	19564	0,47	2
CPbPRK_15_B	16750	0,75	30003	0,76	2
CPbPRK_15_C	18502	0,91	33739	0,83	2
CPbPRK_20_A	7264	0,84	34415	0,94	2
CPbPRK_20_B	7592	0,72	35446	0,78	2
CPbPRK_20_C	8443	0,91	42293	0,63	2

Tabulka 7 - Hodnoty směrnice lineární regrese mechanické odezvy pro různé typy protéz a zatěžování

Na první pohled je z grafů zřejmé, že tuhost trubic v axiálním směru je výrazně větší než ve směru obvodovém. Tento fenomén lze pozorovat u všech vzorků a u všech rychlostí zatěžování. V obvodovém směru dochází k větším napětím, která jsou s napětími axiálním v poměru 2/1. To vyplývá z výpočtu napětí. Ten je popsán v kapitole 7.

Většina vzorků vykazovala v rámci získaných charakteristik napětí-deformace spíše lineární chování. Zvyšování tuhosti při větších deformacích bylo pozorováno u vzorků CPRK\_10M a zejména pak CPbPRK\_20M bez ohledu na rychlost zatěžování, viz obrázky 21 a 26.

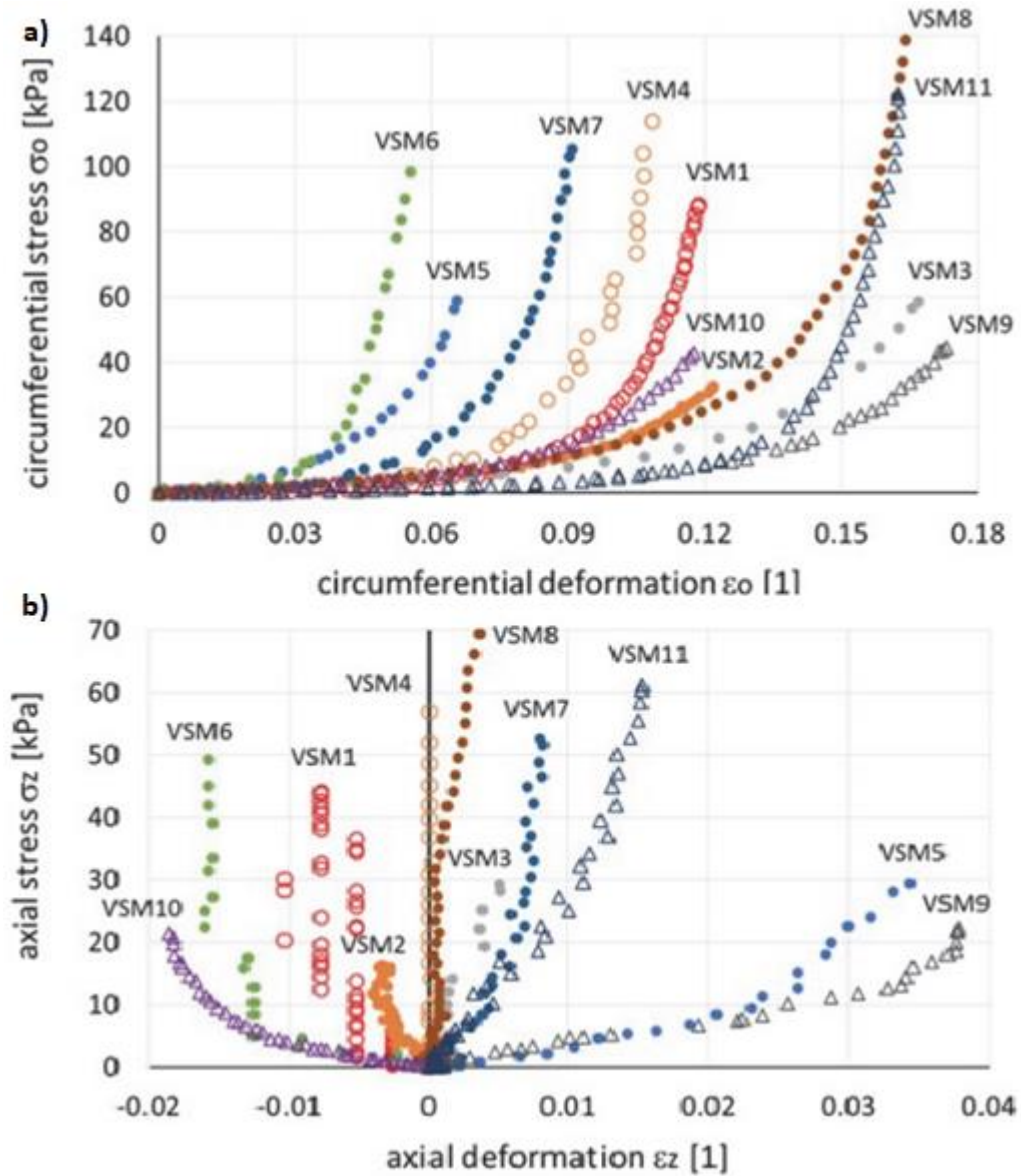
Rychlost zatěžování na mechanickou odezvu vzorků má, zdá se, větší vliv na trubice, které byly crosslinkovány glutaraldehydem delší dobu. U CPRK\_10M není rozdíl mezi odezvami v obvodovém směru při různých rychlostech zatěžování z grafu vůbec patrný, viz obrázek 21. Také směrnice lineárních regresí pro jednotlivé rychlosti zatěžování se téměř neliší, viz tabulka 7. U ostatních vzorků se odezva v závislosti na rychlosti zatěžování liší, viz obrázky 22-26. Většinou platí, že čím vyšší byla rychlost zatěžování, tím méně poddajné vzorky byly, viz obrázky 22-24. Výjimkou byly vzorky CPRK\_20M. Ty vykazovaly nejtuzší chování pro frekvenci 72 cyklů/min, viz obrázek 25.

Při porovnání mechanické odezvy (obrázky 21-26) a směrnice lineárních regresí (tabulka 7) lze pozorovat, že přítomnost pleteniny mění vliv doby síťování na mechanickou odezvu vzorků. U trubic s pleteninou není patrný vliv doby crosslinkování na mechanickou odezvu, viz obrázky 21, 23 a 25. U trubic bez pleteniny se tuhost snižuje úměrně s dobou síťování, viz obrázky 22, 24 a 26.



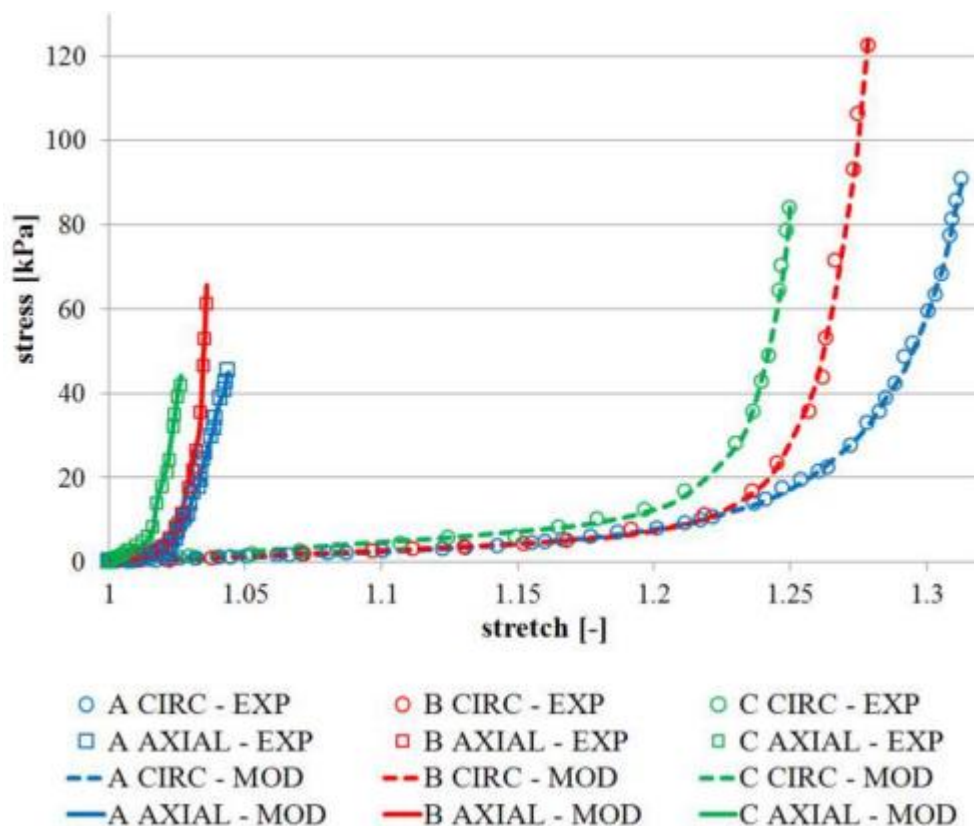
## 10 Diskuse

Obecný požadavek na cévní protézy je, aby jejich mechanická odezva byla co možná nejpodobnější té, jakou lze pozorovat u nativních cév. Ke srovnání se nabízí VSM, která, jak bylo řečeno v 5.1, je běžně užívanou cévní náhradou a je považována za zlatý standard. Nativní cévy je možné testovat více způsoby. Mechanické odezvy VSM v obvodovém a axiálním směru porízené tubulární inflačně-extenzivní metodou jsou znázorněny na obrázcích 27 a 28.



Obrázek 27 - Mechanická odezva více vzorků VSM při kvazistatickém zatěžování [3], upraveno  
a) obvodový směr, b) axiální směr





Obrázek 28 - Mechanická odezva jednoho vzorku VSM pro různé rychlosti zatěžování – CIRC = obvodový směr, AXIAL = axiální směr, A = 2,4 cyklů/min, B = 30 cyklů/min, C = 60 cyklů/min [32]

Obrázek 27 ukazuje, že mechanická odezva VSM různých dárců se poměrně liší. Např. obvodová deformace při napětí 100 kPa se pohybuje přibližně od 5 do 30 %, viz obrázek 27 a). V axiálním směru se mohou VM jak prodlužovat, tak smršťovat, viz obrázek 27 b). Obecným faktem ovšem zůstává, že mechanická odezva VSM má konvexní tvar připomínající písmeno J, typický pro cévy i další biologické tkáně [3, 6, 30-32]. Její tuhost tedy roste s deformací. Z obrázku 28 je patrné, že čím rychleji je céva zatěžována, tím méně se při stejných napětích deformuje, tzn. rychleji tuhne. Bylo by vhodné, aby se cévní protéza blížila tomuto chování.

Porovná-li se mechanická odezva měřených vzorků v obvodovém směru s mechanickou odezvou VSM, je zřejmé, že ani jedna z testovaných protéz neodpovídá tvarem mechanické odezvy VSM. Většina zkoušených protéz vykazovala lineární závislost napětí-deformace. Nejvhodnějšími by se z tohoto hlediska zdály trubice CPbPRK\_20M a protézy CPRK\_10M u kterých bylo možné pozorovat nelineární odezvu a zvyšování napětí s přibývajícím deformací, viz obrázky 21 a 26.

Má-li být cévní náhrada účinná v tepenné části krevního řečiště, měla by mít podobnou poddajnost jako nativní céva při tlacích typických pro tuto část, tedy přibližně 80-120 mmHg = 10,66-16 kPa [7, 8]. Dle získaných experimentálních dat v této práci těmto tlakům přibližně odpovídala obvodová napětí 50-100 kPa. Z obrázků 27 a 28 je zřejmé, že v rozmezí těchto napětí je chování nativních cév poměrně lineární. Deformace VSM se pak v tomto rozpětí pohybuje

v řádech jednotek %. Z tohoto ohledu by se zdály nejvhodnější trubice CPbPRK\_20M nebo protězy CPRK\_10M, jejichž deformace jsou přibližně 0,5 %, viz obrázky 21 a 26.

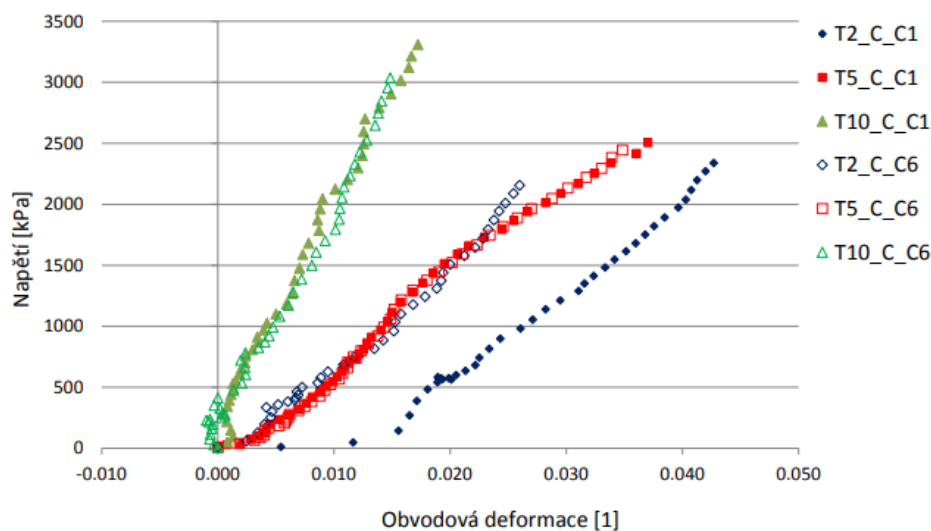
Chování VSM v axiálním směru se může velmi různit a mohou nastat i záporné deformace, viz obrázek 27 b). Axiální deformace VSM bývají pro napětí mezi 50 a 100 kPa v řádu jednotek %. Mechanické odezvy testovaných protéz vykazovaly vždy kladnou závislost napětí-deformace a vykazovali větší tuhost než VSM. Jejich deformace při napětích 50 až 100 kPa byly v rozmezí 0,2-0,4 %, viz obrázky 21-26.

Z obrázku 28 vyplývá, že u VSM s rychlostí zatěžování roste její tuhost. Obdobné chování bylo pozorováno u kolagenních trubic, viz obrázky 22, 24, 26. Stejnou závislost mechanické odezvy na rychlosti zatěžování vykazovaly také protězy CPRK\_15M, viz obrázek 23.

Celkově lze tedy říci, že žádná zkoušená trubice neměla mechanické vlastnosti, které by zcela odpovídaly vlastnostem VSM. V rozmezí systolického a diastolického tlaku byla ovšem zejména u vzorku CPbPRK\_20M pozorována mechanická odezva blízká té nativní cévy. Pouze kolagenní trubici ovšem není vhodné jako protězu použít, protože by hrozila postupná její postupná dilatace při tělních podmínkách [1]. Ze zkoumaných protéz s pleteninou po mechanické stránce nejvíce vyhovovaly vzorky CPRK\_10M.

Je nasnadě porovnat zkoušené protězy s trubicemi, zkoumanými v literatuře. Pro porovnání byly vybrány 3 práce, zabývající se podobnou problematikou, které byly zpracovány na FS ČVUT [3, 4, 5].

Zkoušené trubice z rybího kolagenu se zdají být poddajnější než trubice z bovinního kolagenu. Pro příklad deformace 1 % je u trubic z bovinního kolagenu síťovaných 10 minut dosaženo při napětích až 500 až 2000 kPa, viz obrázek 29. Oproti tomu trubice z rybího kolagenu síťované 10 minut dosahovaly stejných deformací již při napětích kolem 250 kPa.

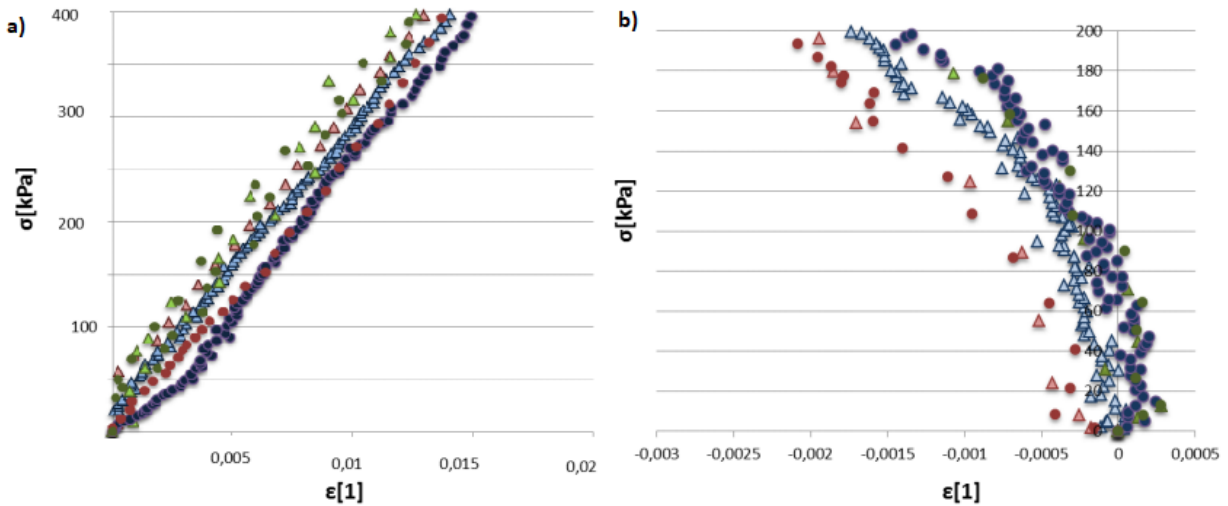


Obrázek 29 - Obvodová deformace trubic z bovinního kolagenu při frekvenci 60 cyklů/min [4]

Trubice z bovinního kolagenu byly dle [4] rychlostí zatěžování ovlivněny výrazněji než VSM, viz obrázek 29. Trubice z rybího kolagenu vykazovaly závislost na rychlosti zatěžování v podobném rozsahu, jako tomu je u VSM. Z tohoto hlediska jsou tedy lepší výsledky trubic zkoumaných v této práci.

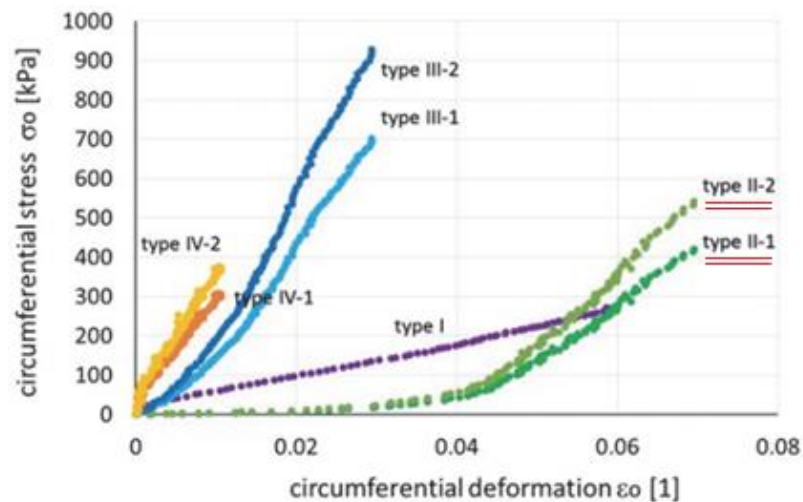
Většina zkoumaných trubic bez pleteniny projevovала lineární mechanickou odezvu, viz obrázky 21-26, podobně jako trubice z bovinního kolagenu [4]. V tomto ohledu tedy nelze pozorovat zásadní rozdíly.

Literatura [3, 5] se zabývá výzkumem sendvičových cévních protéz. Mechanická odezva vzorků CPRK\_10M či CPRK\_15M v obvodovém směru se velmi podobá mechanické odezvě protéz s maticí z bovinního kolagenu, viz obrázek 30 a). Liší se ovšem v axiálním směru. V něm se všechny trubice zkoumané v této práci prodlužují, zatímco náhrady z bovinního kolagenu se zkracují, viz obrázky 21-26 a 30 b). Chování VSM je v tomto smyslu nejednoznačné – může se jak protahovat, tak zkracovat, viz obrázek 27.



Obrázek 30 - Mechanická odezva sendvičových protéz s maticí z bovinního kolagenu při různých rychlostech [5]

a) obvodový směr, b) axiální směr



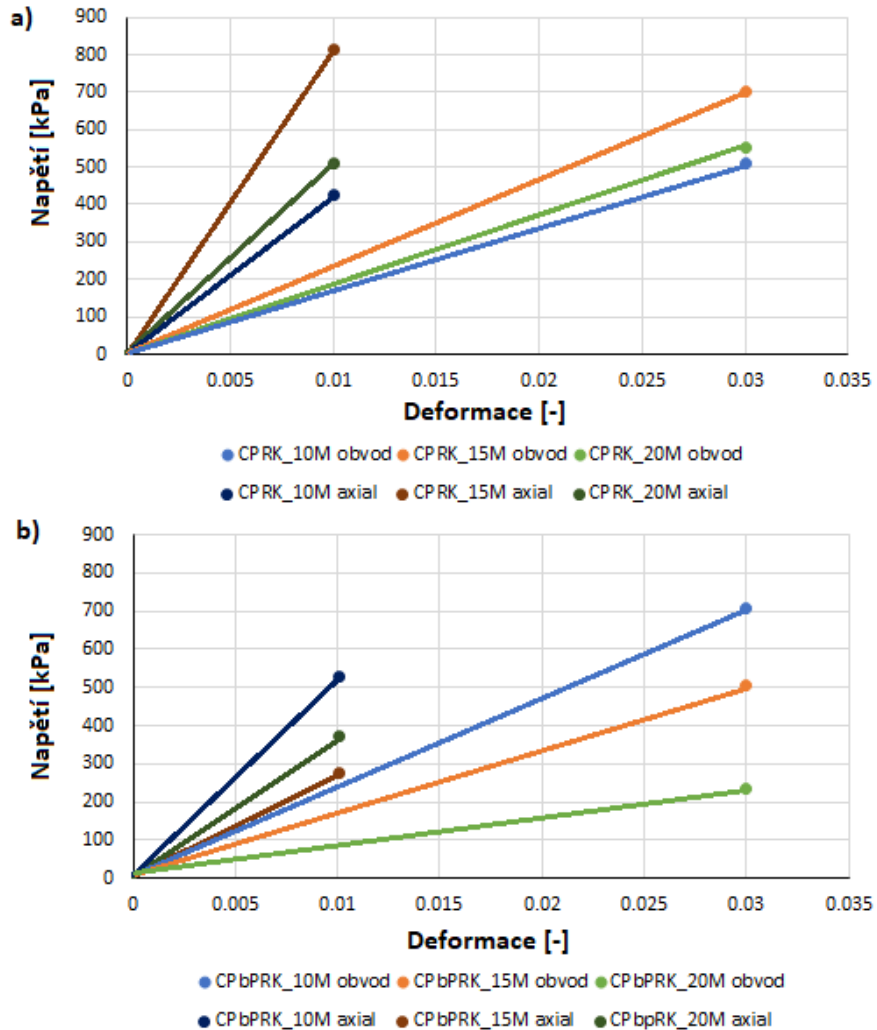
Obrázek 31 - Mechanická odezva v obvodovém směru různých typů protéz s maticí z bovinního kolagenu [3]

type I – trubice bez scaffoldu, type II – scaffold po vnějším obvodu trubice, type III a type IV – scaffold na vnitřním obvodu trubice

Předmětem článku [3] jsou mechanické zkoušky různých typů protéz z biologických materiálů. Za zmínku stojí zejména trubice z bovinního kolagenu, na jejichž vnějšku byl umístěn scaffold z polyvinylalkoholu. Tento druh protézy měl mechanickou odezvu velmi podobnou VSM, viz obrázek 31. Žádná z protéz zkoumaných v této práci výsledků tak podobných VSM nedosahovala.

Z analýzy geometrie vyplývá, že přítomnost pleteniny má vliv na geometrii trubice. Při analýze byly zjištěny výrazně větší odchylky v průměru a tloušťce stěny mezi trubicemi s pleteninou. To je patrně dáno vyšší technologickou náročností výroby těchto trubic, které sestávají ze tří vrstev (dvě vrstvy kolagenu + pletenina). Bylo by tedy vhodné optimalizovat výrobní proces tak, aby mezi jednotlivými trubicemi byl menší rozdíl.

Nejzásadnějším zjištěním je, že přítomnost pleteniny výrazně mění vliv crosslinkování na mechanickou odezvu trubic. Byly zprůměrovány směrnice lineární regrese mechanické odezvy pro různé rychlosti zatěžování pro každou dobu síťování vzorku. Tyto průměrné směrnice jsou prezentovány v obrázku 32.



Obrázek 32 – Orientační směrnice trendů pro různé doby síťování  
a) cévní protéza s pleteninou b) trubice bez pleteniny

Z těchto obrázků je patrné, že vliv doby síťování se lišil u trubic s pleteninou a bez ní. U trubic s pleteninou nebyl prokázán významný vliv doby crosslinkování. Nejtěžší byly vzorky síťované 15 minut, rozdíly mezi CPRK\_10M a CPRK\_20M byly minimální, viz obrázek 32 a). Tento jev byl předpokládán, protože by síťování kolagenu nemělo měnit charakteristiku polyesteru, jehož přítomnost rozdíly mezi různě crosslinkovanými kolagenními maticemi stírá a dodává vzorkům tuhost.

Důležitým zjištěním ovšem je, že s rostoucí dobou síťování klesala tuhost vzorků bez pleteniny. Toto zjištění je v rozporu s literaturou, která opakovaně uvádí, že tuhost kolagenní hmoty se zvyšuje s dobou a intenzitou crosslinkování [15-19]. Ztrátu tuhosti ovšem mohou způsobovat některé druhy fyzikálního síťování [15, 33]. Všechny zkoumané trubice byly v rámci sterilizace ozářeny paprsky gamma a je tedy nutné brát v potaz možnost snížení tuhosti následkem této procedury. Záření gamma má za následek další crosslinkování a jeho negativní vliv na mechanické vlastnosti kolagenního materiálu byly pozorovány např. v [33].

Je tedy možné, že kolagenní část protéz degradovala následkem sterilizace gamma paprsky. Z toho důvodu lze pozorovat u protéz bez pleteniny snižování tuhosti s rostoucí dobou crosslinkování. Naopak u protéz s pleteninou nejsou rozdíly různě crosslinkovaných vzorků markantní a jejich mechanická odezva je dána patrně zejména pleteninou.

## 11 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo provedení a vyhodnocení inflačně-extenzních testů cévních protéz a určení vlivu polyesterové pleteniny na jejich mechanické vlastnosti. Vedlejšími cíli bylo určit vliv doby síťování a rychlosti zatěžování na mechanickou odezvu. Byly provedeny testy na 9 cévních protézách sendvičového typu obsahující polyesterovou pleteninu v kolagenní matici ze sladkovodních ryb. Dále bylo testováno 9 trubic z kolagenu ze sladkovodních ryb bez pleteniny. Vzorky se lišily dobou síťování kolagenu, která byla 10, 15, nebo 20 minut. Všechny vzorky byly po crosslinkování radiačně sterilizovány zářením gamma intenzity 28 kGy. Každý z 18 vzorků byl cyklicky zatěžován vnitřním tlakem při inflačně-extenzním testu třemi rychlostmi zatěžování, odpovídajícími tepové frekvenci 2,4, 72 a 144 cyklů/min, viz obrázky 14 a 15. Podmínky experimentu jsou uvedeny v kapitole 8. Napětí ve vzorcích bylo vypočteno teorií skořepin, viz kapitola 7. Deformace byly získány analýzou obrazu, viz kapitola 8. Výsledky inflačních testů byly analyzovány a byly porovnány mechanické odezvy na zatěžovací části 8. cyklů. Vzhledem k tomu, že bylo testováno poměrně velké množství vzorků zatěžovaných více rychlostmi, bylo použito kódové značení, viz kapitola 6.

Bylo zjištěno, že tuhost v axiálním směru je u všech trubic výrazně vyšší než ve směru obvodovém. U většiny vzorků byla pozorována lineární odezva na zatížení. Výjimkou byly protézy CPRK\_10M a kolagenní trubice CPbPRK\_20M, viz obrázky 21-26. Lineární závislost neodpovídá odezvě VSM.

Vliv rychlosti zatěžování na mechanickou odezvu byl pozorován u protéz CPRK\_15M, které vykazovaly větší tuhost při rychlejším zatěžování, viz obrázek 23. Taková závislost na rychlosti zatěžování je ve shodě s mechanickou odezvou VSM pozorované v [32].

V axiálním i obvodovém směru byly pozorovány deformace zhruba o řád menší než u nativních VSM [3, 30-32] viz obrázky 27 a 28. Při vnitřním tlaku 80-120 mmHg  $\approx$  10-16 kPa, měly ovšem zkoumané cévní náhrady tuhost a rozsah deformací srovnatelné s nativní cévou. Je tedy třeba dořešit oblasti nízkých tlaků, kde VSM vykazují výrazně větší poddajnost [3, 30-32], viz obrázky 27 a 28.

Vliv doby crosslinkování na mechanickou odezvu se liší mezi trubicemi s pleteninou a bez ní. U trubic s pleteninou nebyla pozorována prokazatelná závislost mechanické odezvy na dobu crosslinkování, viz obrázek 32 a). Nejtužší byly vzorky protéz CPRK\_15M. Oproti tomu u trubice bez pleteniny vliv doby crosslinkování prokázán byl. Se zvyšující se dobou crosslinkování se snižovala tuhost vzorků, viz obrázek 32 b). Hypotézou je, že tato závislost byla zapříčiněna provedenou sterilizací gamma zářením. Tato sterilizace je nutná a v praxi běžně používaná, může mít ovšem za následek degradaci kolagenního materiálu, která se projevuje snížením jeho tuhosti a pevnosti [15, 30].

Srovnáním mechanické odezvy trubic s pleteninou a bez pleteniny je patrný vliv polyesterového scaffoldu. Z analýzy směrnic lineárních regresí lze konstatovat, že pletenina má vliv na mechanickou odezvu protézy, viz tabulka 7. Při síťování 10 minut je poddajnější protéza s pleteninou, při delších dobách síťování jsou naopak protézy tužší než trubice bez pleteniny. To je nejspíše dáno degradací kolagenní matrice vlivem sterilizace, jak bylo popsáno výše.

Z mechanického hlediska by pro další výzkum cévních protéz s matricí z kolagenu ze sladkovodních ryb bylo vhodné snížit dobu chemického síťování nebo zvýšit míru měkčení vzorků v glycerinu. To by dle poznatků získaných v této práci mělo zamezit degradaci kolagenní složky. Je ovšem známo, že delší síťování kolagenu výrazně snižuje trombogenitu protéz. V dalším výzkumu je tedy nutné najít kompromis mezi mechanickými a biologickými vlastnostmi náhrad.

## 12 Seznam obrázků

Obrázek 1 - Průběh tlaku v krevním oběhu [9] .....	10
Obrázek 2 – Stavba cévní stěny [11], upraveno .....	11
Obrázek 3 - Mechanická odezva vrstev nativních cév získaná z jednoosých tahových zkoušek [6], upraveno.....	12
Obrázek 4 - Mechanická odezva tepenné stěny v obvodovém směru získaná z jednoosé tahové zkoušky při cyklickém zatěžování [11], upraveno: Lze pozorovat (visko)elastické chování až do překročení bodu I, kdy nastávají plastické deformace. Mechanická odezva se s každým cyklem změkčuje až k bodu III; poté se již nemění .....	13
Obrázek 5 - Schematické znázornění crosslinků v kolagenních vlaken - a) - Schiffova báze, b) Crosslink po působení glykace [6] .....	15
Obrázek 6 – Změny mechanických vlastností při glykaci a crosslinkování glutaraldehydem [6]..	15
Obrázek 7 – Mechnická odezva svazků kolagenních vláken v závislosti na typu crosslinkovacího činidla [18] .....	17
Obrázek 8 - Žíly dolní končetiny [20] .....	18
Obrázek 9 – Srovnání průchodnosti cévních protéz z Dacronu a PTFE v průběhu času u cév větších průměrů [24], upraveno .....	20
Obrázek 10 - Vzorek protézy s ústřížky pro měření geometrie.....	22
Obrázek 11 - Usměrnění svazků kolagenních vláken při extruzi – a) – schéma extruze, b) – struktura kolagenní hmoty před a po extruzi. Snímky z elektronového mikroskopu (v pravém horním rohu znázorněn dominantní směr vláken) [27], upraveno.....	23
Obrázek 12 - Element skořepiny [29] .....	25
Obrázek 13 - Geometrie testovaných trubic .....	26
Obrázek 14 - Schéma měřicího systému pro inflačně-extenzní test, převzato z [30], upraveno .	28
Obrázek 15 - Schéma průběhu vnitřního tlaku .....	29
Obrázek 16 - Snímky vzorků s vyznačeným ROI – červeně ROI pro detekci vertikálních hran, modře ROI pro detekci horizontálních hran: vlevo trubice s pleteninou, vpravo trubice bez pleteniny .....	30
Obrázek 17 – Deformace vzorku v průběhu experimentu, získaná jako střední hodnota ze dvou extenzimetrů .....	30
Obrázek 18 - Geometrie vzorků s pleteninou.....	32
19 - Geometrie vzorků bez pleteniny .....	33
Obrázek 20 – Příklad mechanické odezvy vzorků .....	34
Obrázek 21 - Mechanické charakteristiky vzorků s pleteninou síťovaných 10 .....	35
Obrázek 22 – Mechanické charakteristiky vzorků bez pleteniny síťovaných 10 minut .....	35
Obrázek 23 - Mechanické charakteristiky vzorků s pleteninou síťovaných 15 minut.....	36
Obrázek 24 - Mechanické charakteristiky vzorků bez pleteniny síťovaných 15 minut .....	36
Obrázek 25 - Mechanické charakteristiky vzorků s pleteninou síťovaných 20 minut.....	37
Obrázek 26 -- Mechanické charakteristiky vzorků bez pleteniny síťovaných 20 minut.....	37

Obrázek 27 - Mechanická odezva více vzorků VSM při kvazistatickém zatěžování [3], upraveno .....	39
Obrázek 28 - Mechanická odezva jednoho vzorku VSM pro různé rychlosti zatěžování – CIRC = obvodový směr, AXIAL = axiální směr, A = 2,4 cyklů/min, B = 30 cyklů/min, C = 60 cyklů/min [32] .....	40
Obrázek 29 - Obvodová deformace trubic z bovinního kolagenu při frekvenci 60 cyklů/min [4]	41
Obrázek 30 - Mechanická odezva sendvičových protéz s maticí z bovinního kolagenu při různých rychlostech [5] .....	42
Obrázek 31 - Mechanická odezva v obvodovém směru různých typů protéz s maticí z bovinního kolagenu [3] .....	42
Obrázek 32 – Orientační směrnice trendů pro různé doby síťování .....	43



## 13 Seznam tabulek

Tabulka 1 - Charakteristika cév v krevním řečišti [10], upraveno .....	10
Tabulka 2 - Geometrie vzorků .....	23
Tabulka 3 - Nastavení snímací techniky v různých módech zatěžování.....	31
Tabulka 4 - Geometrie protéz s pleteninou a hodnota statistické významnosti P .....	31
Tabulka 5 - Geometrie trubic bez pleteniny a hodnota statistické významnosti P.....	32
Tabulka 6 - Rozdíly tloušťek stěn a středních průměrů mezi trubicemi s pleteninou a bez ní .....	32
Tabulka 7 - Hodnoty směrnic lineární regrese mechanické odezvy pro různé typy protéz a zatěžování.....	38

## 14 Literatura

- [1] PASHNEH-TALA, Samand; MACNEIL, Sheila; CLAEYSSSENS, Frederik. The tissue-engineered vascular graft—past, present, and future. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2015, 22.1: 68-100.
- [2] KRAJÍČEK, Milan et al. *Chirurgická a intervenční léčba cévních onemocnění*. 1. vyd. Praha: Grada, 2007. 436 s. ISBN 978-80-247-0607-8.
- [3] ŠPAČEK, Miroslav et al. Three-layer collagen-based vascular graft designed for low-flow peripheral vascular reconstructions. *Journal of Applied Biomedicine*. 2019, vol. 17, no. 1, s. 52-52. ISSN 1214-021X.
- [4] HERDA, Martin. *Vliv rychlosti zatěžování na mechanickou odezvu cévní náhrady*. Praha. 2016. Diplomová práce (Bc.). České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojů, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky.
- [5] KAFKOVÁ, Alžběta. *Evoluce mechanických vlastností kompozitní kolagenní trubice v průběhu cyklického zatěžování*. Praha. 201. Diplomová práce (Bc.). České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojů, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky.
- [6] FRATZL, Peter, ed. *Collagen: structure and mechanics*. New York: Springer, ©2008. xv, 506 s. ISBN 978-0-387-73905-2.
- [7] KONVIČKOVÁ, Svatava a Jaroslav VALENTA. *Biomechanika srdečně cévního systému člověka*. Vyd. 2. Praha: Česká technika - nakladatelství ČVUT, 2006. ISBN 80-01-03425-9.
- [8] KROEMER, Karl H. E., Hiltrud J. KROEMER a K. E. KROEMER-ELBERT. *Engineering physiology: bases of human factors, engineering/ergonomics*. Fourth. Berlin; Heidelberg; Springer, 2010. ISBN 9783642128820; 3642128823;.
- [9] Blood Pressure. *CliffsNotes Study Guides | Book Summaries, Test Preparation & Homework Help | Written by Teachers* [online]. [cit. 30.3.2019] Dostupné z: <https://www.cliffsnotes.com/study-guides/anatomy-and-physiology/the-cardiovascular-system/blood-pressure>
- [10] GANONG, William F. *Review of Medical Physiology*. Jan Herget. 16. Praha: H&H, 1999.
- [11] HOLZAPFEL, Herard A., GASSER, Thomas C., OGDEN, Ray W.. A New Constitutive Framework for Arterial Wall Mechanics and a Comparative Study of Material Models. *Journal of elasticity and the physical science of solids*, 2000.

- [12] BURŠA, Jiří. Nehookeovské materiály v inženýrské mechanice. Brno. Vutium. 2011. 27 stran. [online]. [cit. 14.4.2019]. <http://www.vutium.vutbr.cz/tituly/pdf/ukazka/978-80-214-4250-4.pdf>
- [13] Viskoelasticita materiálů. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. [online] [cit. 4.4.2019]. Dostupné z: [http://ufmi.ft.utb.cz/texty/env\\_fyzika/EF\\_06.pdf](http://ufmi.ft.utb.cz/texty/env_fyzika/EF_06.pdf)
- [14] KEYES, Joseph T. et al. Comparisons of Planar and Tubular Biaxial Tensile Testing Protocols of the Same Porcine Coronary Arteries. *Annals of Biomedical Engineering*. 2013, vol. 41, no. 7, s. 1579-1591. ISSN 0090-6964.
- [15] RÝGLOVÁ, Šárka; BRAUN, Martin; SUCHÝ, Tomáš. Collagen and Its Modifications—Crucial Aspects with Concern to Its Processing and Analysis. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2017, 302.6: 1600460
- [16] DAAMEN, W. F. et al. Preparation and evaluation of molecularly-defined collagen–elastin–glycosaminoglycan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*. 2003, vol. 24, no. 22, s. 4001-4009. ISSN 0142-9612.
- [17] BONITSKY, Craig M. et al. Genipin crosslinking decreases the mechanical wear and biochemical degradation of impacted cartilage in vitro: GENIPIN PREVENTS CARTILAGE DEGENERATION. *Journal of Orthopaedic Research*. 2017, vol. 35, no. 3, s. 558-565. ISSN 0736-0266.
- [18] CORNWELL, Kevin G. et al. Crosslinking of discrete self-assembled collagen threads: Effects on mechanical strength and cell–matrix interactions. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007, vol. 80A, no. 2, s. 362-371. ISSN 1549-3296.
- [19] DREXLER, Jason W. a Heather M. POWELL. Dehydrothermal Crosslinking of Electrospun Collagen. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2011, vol. 17, no. 1, s. 9-17. ISSN 1937-3384
- [20] The venous system of the legs. [online]. [cit. 17.3.2019]. Dostupné z: <https://www.v-zo.ch/en/16-venen/venensystem-der-beine/45-venous-system>
- [21] CryoLife, Providing State of the Art Biomedical Services [online]. [cit. 26.4.2019]. Dostupné z: [https://www.cryolife.com/wp-content/uploads/stories/assets/docs/procol/ProCol\\_AV\\_Fistula\\_Rescue\\_LC1058\\_A.pdf](https://www.cryolife.com/wp-content/uploads/stories/assets/docs/procol/ProCol_AV_Fistula_Rescue_LC1058_A.pdf)
- [22] SCHMIDLI, J. et al. Bovine Mesenteric Vein Graft (ProCol) in Critical Limb Ischaemia with Tissue Loss and Infection. *European Journal of Vascular & Endovascular Surgery*. 2004, vol. 27, no. 3, s. 251-253. ISSN 1078-5884.

- [23] BUSTOS, Claudio A., Claudio M. GARCÍA-HERRERA a Diego J. CELENTANO. Mechanical characterisation of Dacron graft: Experiments and numerical simulation. *Journal of Biomechanics*. 2015;2016;, vol. 49, no. 1, s. 13-18. ISSN 0021-9290.
- [24] ROLL, Stephanie et al. Dacron vs. PTFE as bypass materials in peripheral vascular surgery--systematic review and meta-analysis. *BMC Surgery*. 2008, vol. 8, s. 22.
- [25] de Visser, S.K., B.Eng. (Med.) et al. Anisotropy of collagen fibre alignment in bovine cartilage: comparison of polarised light microscopy and spatially resolved diffusion-tensor measurements. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2007;2008;, vol. 16, no. 6, s. 689-697. ISSN 1063-4584.
- [26] VIDAL, Benedicto de Campos a Maria Luiza S. MELLO. Optical anisotropy of collagen fibers of rat calcaneal tendons: An approach to spatially resolved supramolecular organization. *Acta Histochemica*. 2010, vol. 112, no. 1, s. 53-61. ISSN 0065-1281.
- [27] LAI, Edwina S. et al. Aligned nanofibrillar collagen regulates endothelial organization and migration. *Regenerative Medicine*. 2012, vol. 7, no. 5, s. 649-661. ISSN 1746-0751.
- [28] BANGLMAIER, Richard F., Edward A. SANDER a Pamela J. VANDEVORD. Induction and quantification of collagen fiber alignment in a three-dimensional hydroxyapatite–collagen composite scaffold. *Acta Biomaterialia*. 2015, vol. 17, s. 26-35. ISSN 1742-7061.
- [29] MICHALEC, Jiří. Pružnost a pevnost II. Vyd. 2. Praha: ČVUT, 2001. ISBN 80-01-02375-3.
- [30] VESELÝ, J. et al. Constitutive modeling of human saphenous veins at overloading pressures. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2015, vol. 45, s. 101-108. ISSN 1751-6161.
- [31] VESELY, Jan et al. Constitutive Modelling and Histology of Vena saphena. *Applied Mechanics and Materials*. 2013, vol. 486, s. 249-254. ISSN 1662-7482;1660-9336;
- [32] VESELÝ J., HORNÝ L., CHLUP H., ŽITNÝ R. (2014) Inflation Tests of Vena Saphena Mangna for Different Loading Rates. In: Roa Romero L. (eds) XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013. IFMBE Proceedings, vol 41. Springer, Cham
- [33] BURTON, Brianne et al. Bone embrittlement and collagen modifications due to high-dose gamma-irradiation sterilization. *Bone*. 2014, vol. 61, s. 71-81. ISSN 8756-3282.