



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

Fakulta strojní

Diplomová práce

Mechanická odezva kryoprezervovaných žil zatěžovaných dynamicky
vnitřním tlakem

2021

Zbyněk Sobotka

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Sobotka** Jméno: **Zbyněk** Osobní číslo: **466647**
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:

Mechanická odezva kryoprezervovaných žil zatěžovaných dynamicky vnitřním tlakem.

Název diplomové práce anglicky:

Mechanical response of cryopreserved veins dynamically loaded by internal pressure.

Pokyny pro vypracování:

Uveďte principy a techniky kryoprezervace tkání s možným dopadem na modifikaci vlastností tkáně.
Seznamte se s teorií vaskulární mechaniky a experimentálními metodami zkoušení cév a cévních náhrad.
Zpracujte experimentální data získaná z dynamického inflačně-extenzního testu.
Analyzujte vliv kryoprezervace na mechanickou odezvu žil při dynamickém 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.
VESELÝ, Jan., HORNÝ, Lukáš, CHLUP, Hynek, ŽITNÝ, Rudolf.. Inflation Tests of Vena Saphena Magna for Different Loading Rates. *IFMBE Proceedings.* 41. 1041-1044. 2014. 10.1007/978-3-319-00846-2_258.
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:

doc. MUDr. Miroslav Špaček, 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

Diplomant bere na vědomí, že je povinen 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.

Datum převzetí zadání

Podpis studenta

Anotační list

Jméno autora	Zbyněk Sobotka
Název BP	Mechanická odezva kryoprezervovaných žil zatěžovaných dynamicky vnitřním tlakem
Anglický název	Mechanical response of cryopreserved veins dynamically loaded by internal pressure
Rok	2021
Obor studia	Aplikované vědy ve strojním inženýrství, specializace Biomechanika
Ústav / Odbor	Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky / Odbor biomechaniky člověka
Vedoucí práce	Ing. Hynek Chlup, Ph.D.
Konzultant	doc. MUDr. Miroslav Špaček, Ph.D.
Bibliografické údaje	počet stran: 84 počet obrázků: 42 počet tabulek: 10 počet příloh: 0
Klíčová slova	Cévní náhrada, vena saphena magna, kryoprezervace, mechanické vlastnosti, inflačně-extenzní test, matematické modelování, hyperelasticita
Keywords	Vascular graft, great saphenous vein, cryopreservation, mechanical properties, inflation-extension test, mathematical modeling, hyperelasticity

Abstrakt:

Tato diplomová práce se zabývá mechanickými vlastnostmi čerstvých a kryoprezervovaných úseků veny sapheny magny. V rámci práce jsou analyzovány výsledky inflačně-extenzních testů provedených na čerstvých a kryoprezervovaných žilách. Hodnocen je vliv kryoprezervace, rychlosti rozmrazení a rychlosti zatěžování na jejich mechanickou odezvu. Mechanická charakterizace zkoumaných vén je provedena pomocí matematického modelování s využitím konstitutivních vztahů hyperelasticity při uvažování vzorků jako tlustostěnných nestlačitelných trubíc.

Abstract:

This master's thesis deals with mechanical properties of fresh and cryopreserved saphenous veins. Results of inflation-extension tests of both fresh and cryopreserved veins are analyzed. The aim of the thesis is to assess whether mechanical response of saphenous veins is influenced by the cryopreservation protocol, thawing rate or loading rate. The mechanical characterisation of the veins is achieved by means of mathematical modeling, using hyperelastic constitutive relations and considering the tested samples to be thick-walled, incompressible cylindrical tubes.

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

V Praze, dne 5.8.2021

Zbyněk Sobotka

Za cenné rady, ochotu a věnovaný čas děkuji vedoucímu práce Ing. Hynku Chlupovi, Ph.D.
Za odborné rady z lékařského oboru děkuji konzultantovi doc. MUDr. Miroslavu Špačkovi, Ph.D.
Za podporu děkuji své rodině.

Obsah

1	Seznam použitých symbolů a zkratk	6
2	Úvod	8
3	Cíle práce a hypotéza	9
4	Cévní náhrady	10
4.1	Druhy cévních náhrad	10
4.2	Kryoprezervace cév	14
4.3	Kryoprezervace cévních štěpů v České republice	15
5	Struktura a mechanické vlastnosti cév	17
5.1	Mechanické zatížení cév v lidském těle	17
5.2	Struktura cév	19
5.3	Mechanické vlastnosti cév	21
5.4	Mechanické testování cév	25
5.5	Materiálové modelování cévní stěny	35
6	Experimentální část	44
6.1	Vzorky	44
6.2	Mechanické testování	46
7	Aplikace matematického modelu	52
8	Výsledky	55
9	Diskuse	63
10	Závěr	67
11	Literatura	69
12	Dodatky	79
13	Seznam obrázků	82
14	Seznam tabulek	84

1 Seznam použitých symbolů a zkratek

Značka	Jednotka	Název
B	[mm]	Referenční šířka vzorku
C	[-]	Cauchyho-Greenův tensor deformace
$c_{1,2,3,4,5,6}$	[-]	Materiálové parametry
E	[-]	Greenův-Lagrangeův tensor deformace
F	[-]	Deformační gradient
f	[Hz]	Frekvence
F _{1,2}	[-]	Deformační gradient mezi beznapět'ovou konfigurací a konfigurací před zatížením a mezi konfigurací před zatížením a po zatížení
H	[mm]	Referenční tloušťka stěny vzorku
I	[-]	Jednotková diagonální matice
J	[-]	Determinant deformačního gradientu
J _m	[-]	Materiálový parametr
k	[-]	Konstanta popisující úhel rozevření cévy
k ₁	[kPa]	Materiálový parametr
k ₂	[-]	Materiálový parametr
K _{act}	[kPa]	Materiálový parametr
l, l _{1,2}	[mm]	Délka vzorku, délka vzorku ve dvou směrech ve zdeformované konfiguraci
L, L _{1,2}	[mm]	Délka vzorku, délka vzorku ve dvou směrech v referenční konfiguraci
M	[-]	Tensor orientace vláken
M	[-]	Vektor orientace vláken
N	[mN]	Zatěžovací síla / síla předpětí
N _{1,2}	[mN]	Zatěžovací síly ve dvou kolmých směrech
N _{exp}	[mN]	Síla předpětí aplikovaná při experimentu
N _{mod}	[mN]	Modelová síla předpětí
$ \bar{N}_{mod} $	[mN]	Průměrná síla předpětí modelu
O	[mm]	Střední obvod vzorku
p	[kPa]	Vnitřní přetlak ve vzorku
P, P	[kPa]	1. Piolovo-Kirchhoffovo napětí, tensor 1. Piolova-Kirchhoffova napětí
P _{1,2}	[kPa]	1. Piolovo-Kirchhoffovo napětí ve dvou kolmých směrech
p _{exp}	[kPa]	Tlak změřený při experimentu
p _{mod}	[kPa]	Modelový tlak
r	[mm]	Poloměr vzorku v konfiguraci po zatížení / značení radiálního směru
R	[mm]	Poloměr vzorku v konfiguraci před zatížením
r _{1,2}	[mm]	Poloměr křivosti ve dvou kolmých směrech
R _i	[mm]	Vnitřní poloměr vzorku v konfiguraci před zatížením
r _i	[mm]	Vnitřní poloměr vzorku v konfiguraci po zatížení
RMSE(p)	[-]	Průměrovaná střední kvadratická odchylka tlaku (Root mean square error)
R _o	[mm]	Vnější poloměr v konfiguraci před zatížením
r _o	[mm]	Vnější poloměr v konfiguraci po zatížení
S	[kPa]	Tensor 2. Piolova-Kirchhoffova napětí
SD	[kPa, °, -]	Směrodatná odchylka

t	[s]	Čas
W	[kPa]	Hustota deformační energie
W^*	[kPa]	Hustota deformační energie ve formulaci pro nestlačitelný materiál
w_N	[-]	Váhový koeficient pro sílu
w_p	[-]	Váhový koeficient pro tlak
$x_{1,2,3}$	[mm]	Souřadnice obecného bodu kontinua ve zdeformované konfiguraci
$X_{1,2,3}$	[mm]	Souřadnice obecného bodu kontinua v referenční konfiguraci
z	[mm]	Axiální souřadnice cylindrického souřadnicového systému ve zdeformované konfiguraci / značení axiálního směru
Z	[mm]	Axiální souřadnice cylindrického souřadnicového systému v referenční konfiguraci
α	[°]	Úhel rozevření cévy
β	[°]	Úhel stoupání kolagenních svazků v cévě
$\beta_{1,2}$	[Rad]	Materiálový parametr
ε	[-], [%]	Inženýrská deformace
ζ, ζ_i	[-]	Materiálové parametry
Θ	[°]	Obvodová souřadnice cylindrického souřadnicového systému v beznapěťové konfiguraci
θ	[°]	Obvodová souřadnice cylindrického souřadnicového systému ve zdeformované konfiguraci / značení obvodového směru
κ	[-]	Materiálový parametr
$\kappa_{1,2}$	[-]	Koeficient popisující vliv smykové složky deformace
$\lambda, \lambda_{1,2,3}$	[-]	Streč, streč ve třech směrech karteziánského systému souřadnic
$\lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zz}, \lambda_{rr}$	[kPa]	Streč v obvodovém, axiálním a radiálním směru
μ	[kPa]	Materiálový parametr
Π	[kPa]	Lagrangeův multiplikátor
ρ	[mm]	Poloměr cévy v beznapěťovém stavu
ρ_i	[mm]	Vnitřní poloměr cévy v beznapěťovém stavu
ρ_o	[mm]	Vnější poloměr cévy v beznapěťovém stavu
$\sigma, \boldsymbol{\sigma}$	[kPa]	Cauchyho napětí, tensor Cauchyho napětí
$\sigma_{1,2}$	[kPa]	Cauchyho napětí ve dvou kolmých směrech
$\sigma_{\theta\theta}, \sigma_{zz}, \sigma_{rr}$	[kPa]	Cauchyho napětí v obvodovém, axiálním a radiálním směru
Ω_0	[-]	Geometrická konfigurace vzorku v beznapěťovém stavu
Ω_1	[-]	Geometrická konfigurace vzorku ve stavu před zatížením
Ω_2	[-]	Geometrická konfigurace vzorku ve stavu po zatížení
CF		Cílová funkce
GOH		Zkratka hyperelastického modelu (Gasser, Holzapfel, Ogden)
HGO		Zkratka hyperelastického modelu (Holzapfel, Gasser, Ogden)
PTFE		Polytetrafluoretylenu
VSM		Vena saphena magna

2 Úvod

Kryoprezervace je způsob uchovávání biologického materiálu využitím velmi nízkých teplot, užívaný mimo jiné pro skladování částí humánních cév. Takto skladované cévní štěpy představují jednu z klíčových variant cévních náhrad, mezi jejichž přednosti patří nízká trombogenicita. Jsou proto využívány, zejména pokud není možné použít autologní cévní náhradu a implantace syntetické náhrady by nebyla v daném případě vhodná. Z toho důvodu jsou kryoprezervované cévy častou volbou například při nutnosti provedení reoperace po vzniku infekce cévní protězy.

Vzhledem k poměrně rozmanité morfologii cévní stěny, která obsahuje jak buněčné, tak nebuněčné součásti, představuje kryoprezervace cév nelehký úkol. Princip kryoprezervace je dlouho známý a pro skladování cév využívány. Bylo tak v jeho vývoji dosaženo značných pokroků a kryoprezervační postupy jsou stále více optimalizovány. Přesto dosud nebyl odhalen způsob mražení, skladování a následného rozmrazování, při němž by se zcela předešlo poškození tkáně. V České republice se kryoprezervované cévní štěpy v lékařské praxi používají od roku 2011. Jedná se tedy o relativně novou variantu cévních náhrad. Z toho důvodu probíhá výzkum s cílem ověřit využívané metody kryoprezervace a případně je zdokonalit.

Jedněmi z důležitých vlastností cévních náhrad jsou jejich mechanické charakteristiky. Ty by měly být v případě kryoprezervovaných štěpů podobné charakteristikám cév nativních. Snížení pevnosti nebo změna mechanické odezvy na vnější zatížení mohou způsobit selhání náhrady či výrazně zhoršit její funkčnost v části cévního řečiště, do níž je implantována.

Cévy obecně vykazují viskoelastické chování. Jejich mechanická odezva je proto závislá také na rychlosti zatěžování. Aby bylo možné predikovat chování při zatížení, kterému mohou být náhrady vystaveny po implantaci do lidského těla, je vhodné tomu přizpůsobit rychlosti zatěžování při jejich testování.

V rámci této diplomové práce jsou analyzovány výsledky inflačně-extenzních testů, které byly provedeny na třech různých skupinách vzorků: nativních vzorcích veny sapheny magny (VSM), kryoprezervovaných vzorcích VSM pomalu rozmrazených (přibližně za dobu 120 minut) a kryoprezervovaných vzorcích VSM rychle rozmrazených (přibližně za dobu 5 minut). Každý ze vzorků byl přitom zatěžován třemi různými rychlostmi pulzace kapaliny. Tedy kvazistaticky i dynamicky. Cílem této analýzy je pozorovat dopad kryoprezervace a rychlosti rozmrazení na mechanickou odezvu VSM při různých rychlostech zatěžování cévy vnitřním tlakem a určit, zda má na mechanickou odezvu významný vliv rychlost zatěžování.

Porovnání získaných výsledků je provedeno na základě údajů získaných přímo mechanickým testováním a pomocí matematického modelování odezvy jednotlivých skupin s využitím konstitutivních vztahů hyperelasticity. Jsou získány hodnoty materiálových parametrů pro každý testovaný vzorek při každé rychlosti zatěžování. Jejich průměrné hodnoty pak jsou využity pro modelování reprezentativní odezvy každé skupiny a rychlosti zatěžování vzorků. Na těchto reprezentativních křivkách je pak pozorováno, zda a jakým způsobem jsou mechanické vlastnosti VSM ovlivněny kryoprezervací, rychlostí rozmrazení a rychlostí zatěžování.

3 Cíle práce a hypotéza

Cílem práce je analyzovat data získaná inflačně-extenzními testy provedenými na vzorcích nativních a kryoprezervovaných VSM. Vzorky byly zatěžovány kvazistaticky a dynamicky vnitřním tlakem. Má být posouzeno, zda dochází vlivem kryoprezervaci ke změně mechanické odezvy a zda na ní má vliv rychlost rozmrazení cévních štěpů. Kryoprezervované cévy sestávaly ze dvou různě rozmrazených skupin: pomalu rozmrazené (kombinací spontánního rozmrazování 1 hodinu při 5 °C a druhou hodinu v pokojové teplotě) a rychle rozmrazené (ve vodní lázni při 37 °C). Analýzy jsou provedeny pro tři rychlosti zatěžování VSM vnitřním tlakem: kvazistaticky a dvěma rychlostmi dynamicky. Dalším cílem je popsání vlivu rychlosti zatěžování na mechanickou odezvu v rámci jednotlivých skupin vzorků (nativní, kryoprezervované pomalu rozmrazené, kryoprezervované rychle rozmrazené).

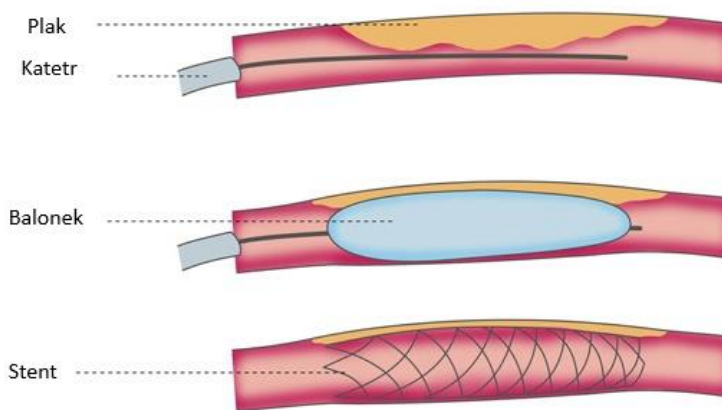
Předpokládá se, že standardní protokol rozmrazení (pomalý) kryoprezervovaných cév by neměl významným způsobem ovlivňovat mechanickou odezvu žil. Výrazná změna mechanických vlastností VSM by značila poškození, ke kterému při kryoprezervaci došlo. Pokud bude změna vlastností pozorována, předpokládá se, že jí budou vykazovat vzorky, které byly rychle rozmrazeny, neboť rychlá změna teploty má za následek vznik pnutí, který může poškodit cévní stěnu. Pokud se tato hypotéza potvrdí, bude zřejmé, že současný postup rozmrazení je z mechanického hlediska vhodnější. Rychlosti zatěžování nejspíš budou mít vliv na mechanickou odezvu vzorků. Předpokládá se, že bude pozorováno zvyšování tuhosti vzorků při vyšších rychlostech zatěžování tak, jako je tomu u jiných měkkých tkání.

4 Cévní náhrady

Onemocnění kardiovaskulárního systému jsou celosvětově nejčastější příčinou smrti [1]. Mohou se projevovat různými symptomy, často jsou ovšem spojené s patologickými ději v cévních stěnách. Velmi rozšířeným a potenciálně nebezpečným onemocněním je ateroskleróza, spočívající v ukládání tuků do tunicy intimy cév [2]. To může mít několik nebezpečných důsledků. Zvětšující se plak snižuje průchodnost cévy (vzniká stenóza) a tím může znesnadnit či znemožnit distribuci krve do orgánů či periferií těla (vzniká ischemie). Při prasknutí vnitřní strany cévy navíc vznikají krevní sraženiny (tromby), které se mohou odtrhnout od stěny (embolizovat) a po průběhu krevním řečištěm zneprůchodnit arterie zásobující životně důležité orgány [3]. V neposlední řadě pak vede ateroskleróza ke ztenčování tunicy medie a zvyšování poddajnosti cévní stěny. To může mít u velkých tepen za následek vznik výdutě (aneurysmatu) nebo dokonce jejich prasknutí [4].

4.1 Druhy cévních náhrad

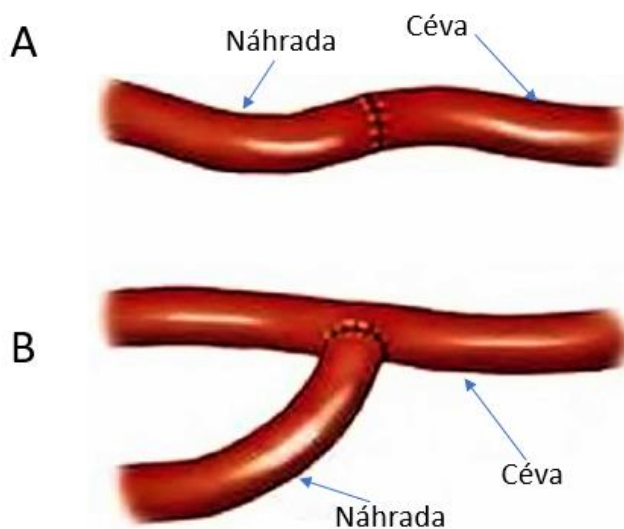
V současnosti jsou používány zejména dva postupy intervenční léčby stenózy. Méně invazivní metodou je využití angioplastiky a aplikace stentu. Angioplastika spočívá v zavedení katetru do místa stenózy a zatlačení aterosklerotického plátu do stěny cévy [5]. Běžně je používána tzv. balonková angioplastika, která k zatlačení plaku využívá nafouknutí balonku [6, 7]. Po zatlačení plaku do stěny bývá běžně využit stent. Tedy syntetický síťovitý tubulární útvar, který je vpraven do lumen postižené cévy za účelem zabránit opětovnému vzniku stenózy [8]. Schematicky proces angioplastiky a aplikace stentu znázorňuje Obrázek 1.



Obrázek 1 – Grafické znázornění provedení angioplastiky a aplikace stentu [9]

Druhou možností léčby ischemie je vytvoření bypassu – tedy překlenutí postiženého místa cévní náhradou. Bypass byl prvním způsobem intervenční léčby a oproti angioplastice se jedná o zákrok pro tělo pacienta náročnější. V současné době jsou využívány oba postupy léčby a výběr metody závisí především na typu aterosklerotického postižení. Jedním z rozhodujících faktorů pro výběr intervenční metody může být rozsah stenózy, přičemž bypass je preferován pro případy, kdy léze postihuje větší část tepny, případně pokud je stenózou postiženo více cév - například srdečních arterií [10, 11]. Při výběru hraje roli také očekávaný věk dožití pacienta [12]. Bypass i angioplastika bývají aplikovány v koronárních tepnách [13], v různých částech aorty, v místě její bifurkace na iliakální tepny (například při léčbě aneurysmatu) nebo v tepnách dolní končetiny [14].

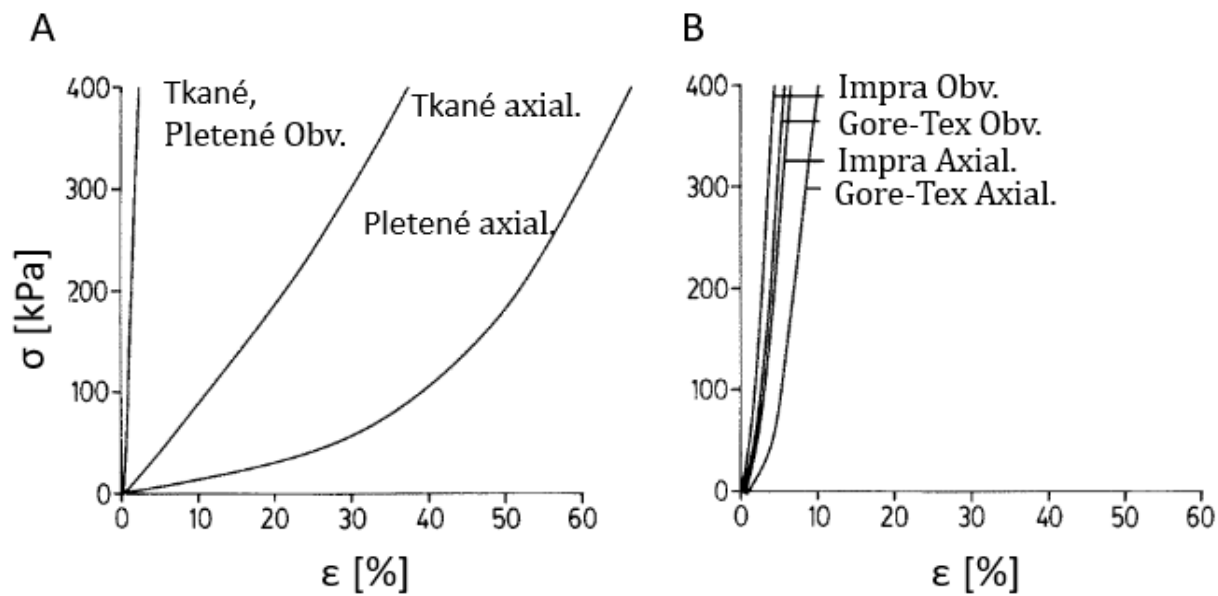
Cévní náhrada může být na postižené místo napojena různými způsoby. Nejpoužívanějšími způsoby napojení (anastomózy) náhrady a cévy jsou tzv. end-to-side a end-to-end metody, viz Obrázek 2. Primárně je využíváno end-to-side spojení. End-to-end metoda je využívána zejména v případě, že je nutné nativní cévu z těla vyjmout a zcela nahradit, např. z důvodu infekce. Jako cévní náhrada mohou být použity cévní protézy uměle vytvořené, nebo náhrady biologického původu.



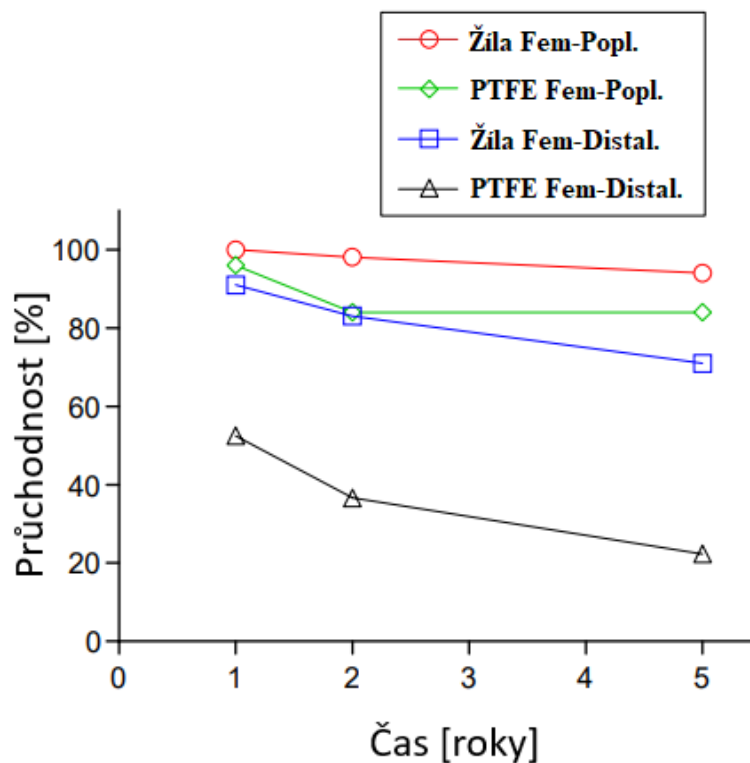
Obrázek 2 Způsoby anastomózy cévní náhrady.
A) End-to-end spojení, B) End-to-side spojení [15], upraveno

Uměle vytvořené náhrady zahrnují širokou škálu protéz, které mohou obsahovat jak čistě syntetické, tak i biologické složky. Tradiční materiály využívané pro jejich výrobu jsou zejména polyester, jako Dacron či polytetrafluoretylen (PTFE). Jejich vlákna jsou pletena nebo tkána a jsou z nich vytvořeny trubice. Syntetické náhrady jsou výhodné pro svoji dostupnost [16]. Mají ovšem také nedostatky. Syntetické polymery nemají totožnou mechanickou odezvu jako cévní stěna, viz Obrázek 3. Našitím náhrady s mechanickými vlastnostmi odlišnými od nativní cévy pak dochází ke vzniku lokálních napětí, které vedou k remodelaci cévní stěny. To může vést ke snižování její pevnosti a dalším komplikacím. Problém, který je se syntetickými náhradami spjat je také jejich vyšší trombogenicita.

Špatných výsledků dosahují syntetické trubice zejména při bypassu cév malých průměrů (pod 6 mm). V takto malých protézách dochází k rychlému vzniku krevních sraženin – tromboze náhrady s nálesnou ischemií periferie končetiny [17, 18]. To je patrné například při léčbě ischemie dolních končetin. Při provedení bypassu femorální arterie do úrovně arterie popliteální mají syntetické náhrady relativně dobrou primární průchodnost v rámci několika let po implantaci. V případě, že je uzavřená také tepna popliteální, je nutné provést tzv. femorodistální bypass, který spojuje počátek femorální tepny a distální podkolenní tepnu. Popliteální tepna, která je v tom případě překlenuta, má průměr přibližně 5 mm [19], což se nepříznivě odráží na průchodnosti protézy, jak ukazuje Obrázek 4.



Obrázek 3 – Mechanická odezva v obvodovém a axiálním směru získaná jednoosou tahovou zkouškou různých tepenných náhrad: A) Náhrady z pleteného a tkaného Dacronu, B) Náhrady z PTFE různých výrobců [20], upraveno



Obrázek 4 – Porovnání průchodnosti náhrad při použití autologní VSM a protéz z PTFE při femoropopliteálním a femorodistálním bypassu [21], upraveno

V současnosti se stále intenzivněji vyvíjejí protézy z biologických materiálů, jejichž využitím je možné se přiblížit vlastnostem nativní cévy. K jejich tvorbě jsou využívány přírodní polymery jako fibrin, či kolagen a elastin, tedy dvě hlavní nebuněčné složky zodpovědné za mechanické vlastnosti nativní cévy [16]. Kombinací různých biologických materiálů může být vytvořena trubice s mechanickými vlastnostmi odpovídajícími nativní cévě při zachování biokompatibility. Z polymerů může být vytvořen porózní scaffold, který je pak osazen endoteliálními i svalovými buňkami pacienta, jejichž přítomnost zabraňuje tvorbě trombů a umožňuje rychlejší hojení [22]. Scaffold se pak v ideálním případě v těle odbourává a může být zcela nahrazen strukturou blízkou zdravé cévě. Proces osazování scaffoldu buňkami může ovšem trvat i déle než měsíc. Taková náhrada pak nemůže být použita v případě urgentního nepředvídaného zákroku [16, 23]. Rychlejší metody osazování, které by umožňovaly implantaci protézy při náhlých operacích jsou zatím nedostatečně vyzkoušeny. Protézy tkáňového inženýrství tak představují potenciálně vhodnou alternativu, která by mohla kombinovat biokompatibilitu nativních cév a dostupnost protéz syntetických. V současnosti jsou ale zejména předmětem výzkumu a nejsou v praxi běžně používány [22].

Biologické náhrady jsou tradičním a dosud v mnohých aplikacích nenahraditelným materiálem pro provedení bypassu. Dle původu se dělí na autotransplantáty, které jsou získány z těla pacienta, alotransplantáty, které jsou získány z těla jiného člověka, případně xenotransplantáty, které jsou získávány ze zvířat.

Nejčastěji používaným autotransplantátem je vena saphena magna (VSM) – hlavní povrchová žíla dolní končetiny, viz Obrázek 6. Její využití vykazuje v mnoha aplikacích nejlepší výsledky a je v současné době považováno za zlatý standard. Mechanickými vlastnostmi právě této cévy v nativním i kryoprezervovaném stavu, se zabývá tato práce. Využitím autotransplantátu se redukuje imunitní reakce pacienta a žíla zůstává dobře průchozí i v rámci několika let po implantaci. Její využití je proto často preferováno, není ovšem vždy možné. Žílu také není možné použít, je-li sama postižena cévním onemocněním – trombozou nebo varikózním postižením.

Jako alotransplantát je využívána celá škála tepen a cév. Ty mohou být použity čerstvé, uschovávány při nízkých teplotách pro použití v rámci maximálně dvou dnů po odběru, či kryoprezervovány pro využití v delším časovém horizontu. Mezi výhody jejich použití patří možnost využití cévy odpovídající konkrétní části krevního řečiště, do kterého je céva implantována. Velmi důležité jsou kryoprezervované cévní štěpy také pro případy, kdy se v již implantované protéze rozvine infekce. Infikovanou náhradu je pak nutné vyjmout a znovu nahradit [24]. V tomto případě jsou již možnosti léčby omezené a využití kryoprezervované cévy je preferovanou variantou. European Society for Vascular Surgery doporučuje jejich použití v případě infekce syntetické cévní náhrady, pokud není možné využít žilního autotransplantátu [23]. Incidence reinfekce kryoprezervovaných cévních štěpů je srovnatelná s incidencí v případě využití autotransplantátů a výrazně nižší než při použití umělých či xenotransplantátů [23 - 26]. Kryoprezervované náhrady mají ovšem také své nedostatky. V postoperativním období může být pozorována jejich kalcifikace a zúžení stěny náhrady s následkem její dilatace či dokonce ruptury [27]. Míra těchto problémů záleží mimo jiné na metodách použitých při odběru a uchování dané cévy - náhrady [23, 27].

Xenotransplantáty jsou méně často využívaným druhem biologických náhrad. Implantovány bývají zejména trubice vytvořené z bovinního perikardu. Xenotransplantáty vykazují lepší průchodnost při použití pro malé průměry cév než synteticky vytvořené protézy

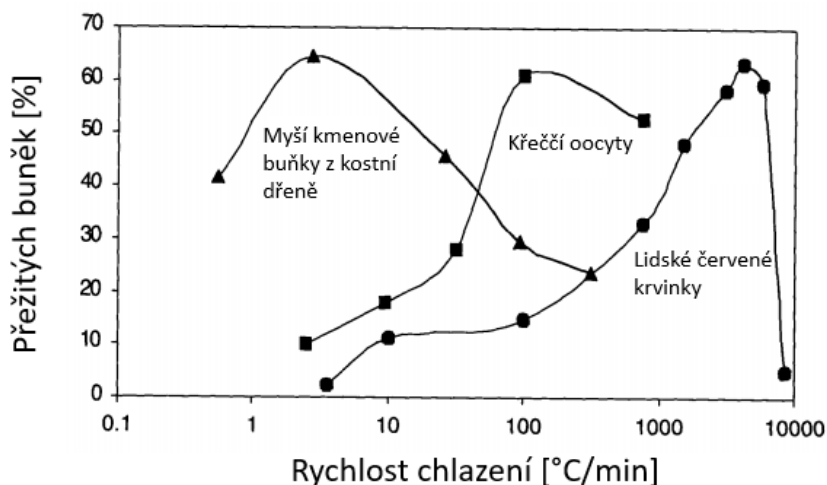
[28]. Oproti autotransplantátům a alotransplantátům jsou také snáze získatelné. Jejich nevýhodou je ovšem větší pravděpodobnost silnější imunitní reakce těla příjemce [23].

4.2 Kryoprezervace cév

Kryoprezervace je metoda uchovávání buněk a biologických struktur za využití nízké teploty. Při teplotách hluboko pod bodem mrazu se zpomalují metabolické a chemické procesy v buňkách, což umožňuje jejich přečkování po teoreticky neomezený čas [29]. V současnosti nachází kryoprezervace uplatnění v různých odvětvích přírodních věd a medicíny, kde se využívá například ke konzervaci pohlavních buněk [30] nebo krvevorných buněk [31]. Kryoprezervované cévní štěpy jsou pak v některých aplikacích preferovanou možností léčby vaskulárních onemocnění.

Nízká teplota snižuje mobilitu enzymů štěpících proteiny, lipidy, DNA a RNA a tím zabraňuje degradaci buněk [29]. Současný technologický stav umožňuje bez větších obtíží ochladit konzervovanou buňku či tkáň na teplotu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (teplota kapalného dusíku). Hlavním problémem, který tak musí být při kryoprezervaci řešen, je způsob ochrany biologického materiálu před poškozením, které může způsobit vznikající led [32]. Krystaly ledu mohou vznikat uvnitř či vně buněk. Právě místo vzniku ledových krystalů zavdává ke dvěma principům vzniku poškození buňky, přičemž klíčovou roli hraje rychlost snižování a následně zvyšování teploty.

Při chlazení vniká led nejprve v okolí buňky. V samotné buňce zůstává až do zhruba $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ přechlazená voda, patrně vlivem působení plazmatické membrány, která brání vzniku krystalů [32]. Voda uvnitř buňky má potom vyšší chemický potenciál a začne se z buňky vyplavovat. To způsobuje výrazné zmenšení buňky. Právě změna objemu a osmotické jevy na její membráně pak vedou k její destrukci [33]. Pokud je ovšem chlazení provedeno rychle, voda se z buněk nestačí osmotickým tlakem difundovat a led se vytvoří uvnitř. Vzniklé krystaly pak buňku ničí. Příliš rychlé či příliš pomalé chlazení má tedy za následek smrt buňky. Optimální rychlost chlazení se pro různé buňky liší, viz Obrázek 5.



Obrázek 5 – Závislost přežití kryoprezervovaných buněk na rychlosti chlazení [32], upraveno

Poškození kryoprezervovaných buněk je spojeno se změnou skupenství vody. Existují dva principy, jimiž je možné tomuto poškození předcházet. Při pomalém chlazení, jehož následkem dochází k poškození buňky vlivem osmotických procesů, se pro ochranu využívá

kryoprezervačních činidel (též kryoprotektantů). Tato činidla pronikají do buňky a snižují koncentraci elektrolytů a zabraňují přílišnému zmenšení buňky [32]. Nejčastěji používaná kryoprezervační činidla jsou roztoky glycerolu, dimethylsulfoxidu a různé druhy polymerů [33].

Při využití rychlého chlazení může být pro zabránění destrukce buňky využito vitrifikace ledu [34]. Pevné skupenství vody vytváří krystaly, jejichž vznik může být pro buňku fatální. To ovšem platí pouze do teploty $-123\text{ }^{\circ}\text{C}$, kdy led přechází z krystalické konfigurace do amorfního stavu. Tento jev se nazývá vitrifikace (skelnatění). Při velice rychlém ohřevu, (řádově $10^6\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$) může voda zaujmout amorfní uspořádání okamžitě, bez přechodu přes krystalickou fázi. Amorfní led pak nepoškodí prezervovanou buňku. Chlazení dostatečnou rychlostí je ovšem technicky obtížně dosažitelné. Další možností, jak se vyhnout tvorbě krystalů, je využití nižší rychlosti chlazení za využití vysoce koncentrovaných (40-60%) kryoprezervačních činidel, která zabraňují tvorbě intracelulárního ledu [33]. Činidla ovšem mohou být ve velkých koncentracích pro buňky toxická. Metoda vitrifikace se používá například pro kryoprezervaci rostlin [34].

K poškození může dojít také během zahřívání a tání ledu. Při použití rychlého chlazení jsou při následném rozmrazení nebezpečné zanikající krystaly ledu v buňce [32]. Podobně jako při chlazení je proto třeba použít rychlost rozmrazování vhodnou pro konkrétní buňku. Kryoprezervace morfologicky rozmanitých vzorků je proto náročná, neboť každý druh buňky v něm obsažený vyžaduje odlišné protokoly [35].

Faktorem, který významně zvyšuje pravděpodobnost poškození buněk, je jejich množství a hustota jejich rozmístění v prostoru. Extracelulární led, který vzniká při pomalém chlazení, by pro jednotlivou buňku nepředstavoval nebezpečí. Krystaly ledu vnikající mezi jednotlivými buňkami ovšem mohou narušit jejich strukturu a poškodit je [35]. Tímto jevem jsou z cév ohrožené zejména arterie, jejichž tunica media obsahuje velké množství svalových buněk. Žíly se zdají být k poškození svalových buněk méně náchylné [36].

Vzniku ledových krystalů by bylo zdánlivě možné předejít pomocí rychlého chlazení metodou vitrifikace. K poškození tepen ovšem dochází i při změnách teplot ve skelnaté fázi. Jak ukázal výzkum [37], při rychlém rozmrazení kryoprezervovaných králičích karotid docházelo k jejich poškození zřejmě následkem vnitřních pnutí způsobených rychlou teplotní změnou. Větší koncentrace kryoprezervačních činidel, které zabraňují vzniku krystalů ledu, navíc nejsou pro ochranu cév vhodné [35]. Využívané postupy jsou v různých zemích různé, včetně doporučení rychlého způsobu rozmrazování u některých komerčně dostupných cévních alograftů.

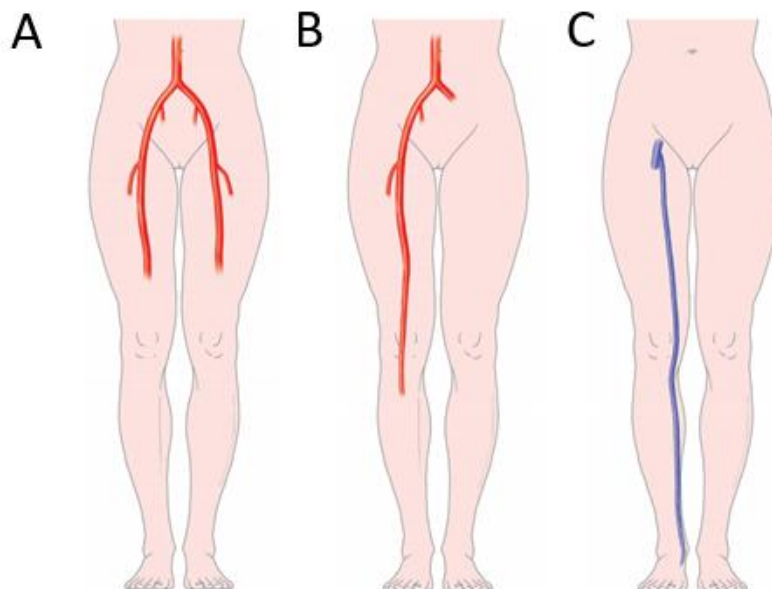
Pro funkčnost cévy je přitom zásadní zachování svalových a endotelových buněk. Optimální rychlost chlazení se u obou typů buněk liší. [38] uvádí jako ideální rychlost chlazení $0,3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ pro endotelové buňky, ale přibližně $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ pro buňky hladké svaloviny. Vychází přitom z testů na porcinní aortě. V současnosti je nejběžnější chlazení cév rychlostí $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ s možností zrychlení postupu přibližně od teploty $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, kdy může být vzorek umístěn do média, ve kterém je pak uchováván [35]. Tepenné náhrady je možné uchovávat také při teplotě vyšší než $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Taková konzervace ovšem umožňuje jejich bezpečné použití pouze nejsou-li skladovány déle než několik týdnů [35, 39]. Jako kryoprezervační činidlo bývá pro cévy nejčastěji používán dimethylsulfoxid v koncentracích mezi 5 až 20 % [35].

4.3 Kryoprezervace cévních štěpů v České republice

Protokoly kryoprezervace vaskulárních štěpů pro lékařské využití se v různých státech liší [39 - 41]. Různit se může rychlost chlazení a ohřevu či využití kryoprotektanty, různé jsou ovšem také směrnice omezující časové prodlevy mezi úmrtím dárce, vyjmutím transplantátu a jeho zmrazením. Všechny tyto parametry ovlivňují konečné vlastnosti náhrady a mohou rozhodnout o

její životnosti [42]. V České republice kryoprezervované cévní štěpy využívají od roku 2011. Je zde využíván pomalý protokol kryokonzervace i rozmrazování a je dbáno na zkrácení doby ischemie náhrady před kryoprezervací [43]. Právě doba mezi odběrem a kryoprezervací je v České republice kratší ve srovnání s evropskými standardy [39 - 42].

V Česku jsou kryoprezervovány nejčastěji tři anatomické typy cévních náhrad: aortální bifurkace s iliakálními a femorálními tepnami, tepny dolní končetiny v rozsahu od iliakální po popliteální tepnu a VSM v plné délce, viz Obrázek 6. V menším množství jsou uchovávány také další části cévního systému: bifurkace karotid, aortální oblouk s tepnami hlavy, dolní dutá žíla a bifurkace iliakálních vén [41].



Obrázek 6 – Nejčastěji kryoprezervované části cévního systému [41].

A) Bifurkace aorty s iliakálními tepnami, B) Velké tepny dolní končetiny C) VSM

Tepenné štěpy jsou získávány v rámci multiorgánového odběru, preferovaně z dárců krevní skupiny 0. Po sběru je daná céva umístěna do sterilní nádoby s obsahem ochranných látek a za teploty tajícího ledu převezena do Tkáňové ústředny Fakultní nemocnice Hradec Králové, kde je provedena kryoprezervace. Na toto pracoviště jsou cévní štěpy transportovány do 12 hodin po multiorgánovém odběru. V Tkáňové ústředně jsou pak cévy dekontaminovány a umístěny do plastových pytlů obsahujících 50 mL 6% roztoku Voluvenu a stejné množství 20% dimethylsulfoxidu jako kryoprezervačního činidla. Pytle jsou poté uzavřeny a vloženy do mrazáku. V něm jsou chlazeny na teplotu $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ rychlostí $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Poté je rychlost chlazení zvýšena na $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, dokud není dosaženo teploty $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, při které jsou pak náhrady uchovávány v plynné fázi tekutého dusíku [41]. Rozmrazení je prováděno na operačním sále umístěním cévního štěpu do chladničky se stoupající teplotou od 2 do $8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tento ohřev trvá do dvou hodin. Obsahuje-li náhrada stále led, je rozmrazen za pokojové teploty. Pak může být céva implantována [41].

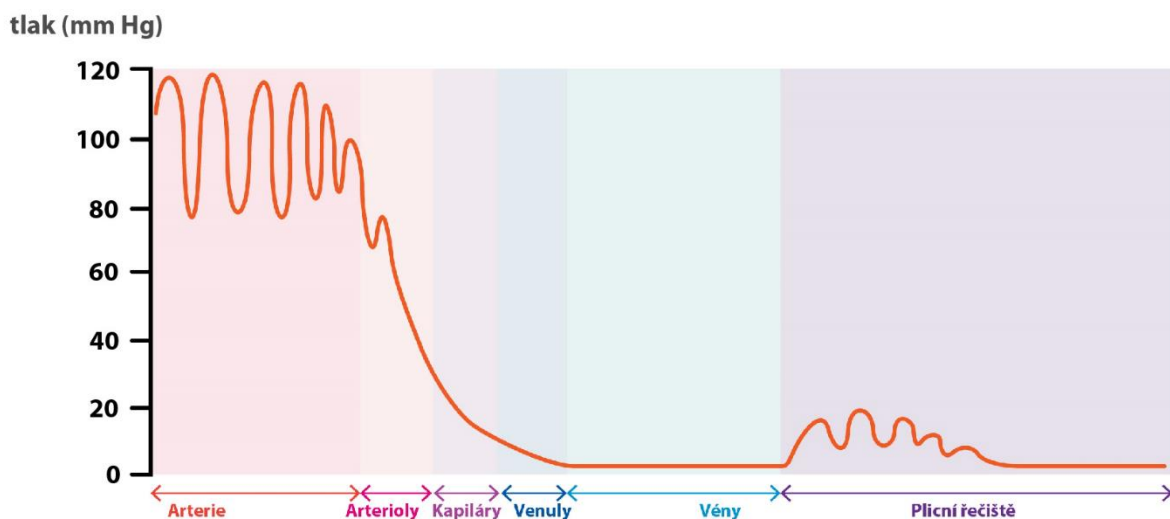
5 Struktura a mechanické vlastnosti cév

Mechanické vlastnosti jsou důležitou charakteristikou cév. Změna těchto vlastností může zvyšovat pravděpodobnost vzniku onemocnění nejen oběhové soustavy. Popsáním mechaniky cév pomocí inženýrských metod je možné objasňovat jevy objevující se při léčbě těchto onemocnění. Umožňují modelovat interakce mezi cévními náhradami a nativními cévami či odhadnout míru poškození, které může vzniknout při provedené angioplastice. Provádějí se i komparativní analýzy, kdy jsou porovnávány vlastnosti nativních cév a jejich biologických nebo umělých náhrad.

5.1 Mechanické zatížení cév v lidském těle

Cévy tvoří z mechanického hlediska systém trubic pro rozvod tekutiny – krve – a jsou tedy vystavovány cyklickému zatěžování vnitřním přetlakem. Intenzita zatěžování je závislá na aktivitě srdce. Srdce zdravého člověka v klidu provede přibližně 60-80 stahů za minutu a pumpuje přibližně 5 l/min krve. Při vysoké zátěži však může frekvence srdce překročit 200 tepů/min a vypudit tak do krevního řečiště i 30 l/min krve [44].

Hlavním faktorem určujícím zatížení cév je tlak krve. Ten se mění v závislosti na fyzické zátěži a srdečním rytmu. Jeho hodnota se pro různé části vaskulárního systému výrazně liší, viz Obrázek 7.



Obrázek 7 - Průběh krevního tlaku v cévním řečišti zdravého člověka v klidu [45]

V tepenné části systému oscilují hodnoty krevního tlaku v závislosti na srdeční revoluci. Nejvyšší hodnoty dosáhne tlak během systoly, tedy stahu srdeční komory, kdy je krev vypuzována ze srdce. Nejnižší hodnotu pak má krevní tlak během diastoly, tedy během plnění komor krví. Ve velkých tepnách zdravého člověka v klidu takto osciluje krevní tlak přibližně mezi hodnotami 120-80 mm Hg, což odpovídá tlakům zhruba 16-10,7 kPa [44].

Krevní tlak v řečišti směrem od srdce postupně klesá a přestává být závislý na srdečním cyklu. V malých tepnách, kapilárách a vénách jsou pak hodnoty tlaku ustálené a jejich velikost je mnohonásobně menší než v arteriích. Tomu odpovídá změna průměrů cév a tloušťky jejich stěn, viz Tabulka 1.

Cyklické zatěžování krevním tlakem je zejména pro tepny zásadní a lze jej simulovat i v laboratorním prostředí. Kromě něho na cévy působí celá řada dalších vnějších účinků hůře

přenositelných do testů in vitro. Patří mezi ně např. interakce s orgány a svaly nebo smyková složka napětí proudící krve. Tyto vlivy mohou mít důležitou roli pro zachování fyziologického stavu vaskulárního systému.

Kromě vnějších vlivů jsou cévy zatíženy také vnitřním předpětím, a to jak v axiálním, tak v obvodovém směru. Osové předpětí je patrné při explantaci tepny z těla, kdy je možné pozorovat smrštění vyjmuté části [46]. Obvodové předpětí je možné demonstrovat při rozstřížení kroužku cévy, který se poté samovolně rozevře, viz Obrázek 8.

. Úhel rozevření cévy charakterizuje míru tohoto předpětí a je využíván pro výpočet celkového napětí při laboratorních experimentech.

Céva	Lumen – průměr [mm]	Tloušťka stěny [mm]	Přibližný průtočný průřez [cm ²]	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 srdci a 18 % v plicní cirkulaci

Tabulka 1 - Charakteristika rozměrů cév v krevním řečišti [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.],



Obrázek 8 – Samovolné rozevření tepenného kroužku po rozstřížení [47]

5.2 Struktura cév

Cévní stěny (s výjimkou kapilár) jsou složeny ze tří vrstev. Jsou to tunica intima, tunica media a tunica adventitia (kapiláry sestávají pouze z první z nich) [48, 49]. Tunica intima tvoří vnitřní vrstvu cév. Je složena z endotelových buněk, které regulují výměnu látek mezi proudící krví a okolní tkání a zabraňují ukládání tuků do stěn cév. Signály z endotelu jsou také určující pro tvorbu ostatních vrstev cévy [50]. Endotelové buňky jsou s okolní tkání propojeny bazální laminou. V závislosti na typu cévy pak může tunica intima obsahovat také subendotelovou vrstvu, tvořenou převážně kolagenními a elastinovými vlákny a pojivovými tkáněmi.

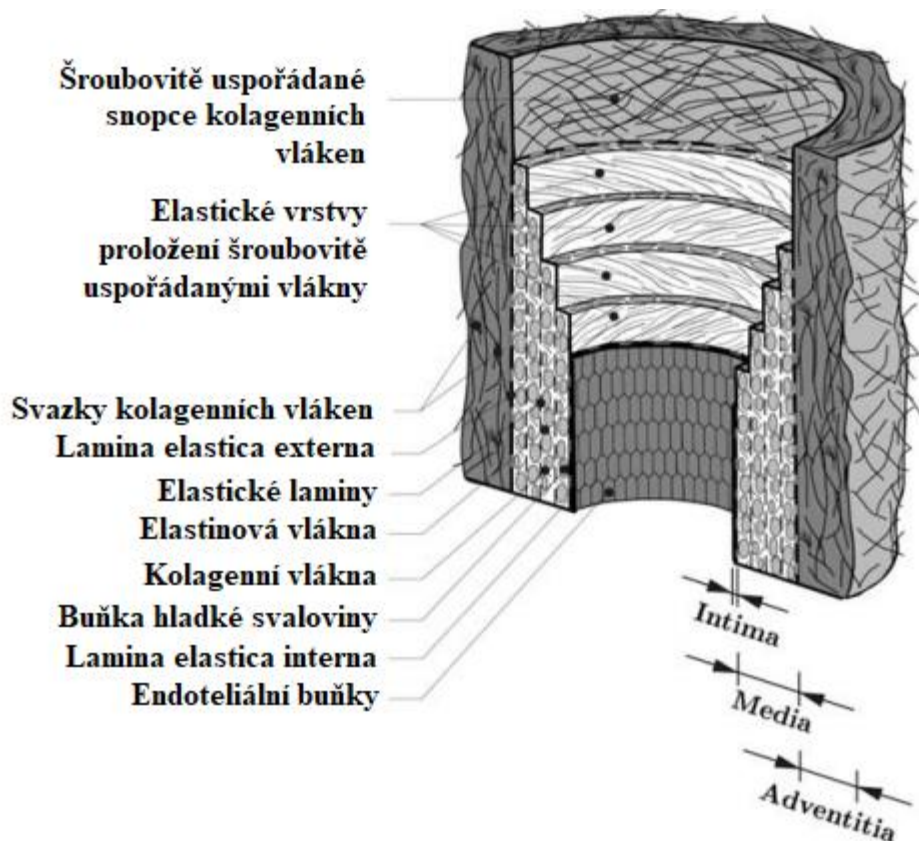
Tunica media je prostřední vrstvou. Je složena z buněk hladké svaloviny, snopců kolagenních vláken a elastinových membrán. Podíl jednotlivých složek se v různých cévách liší a hraje určující roli pro jejich mechanické vlastnosti. Od tunicy intimy a adventitie je media oddělena elastinovými vrstvami: lamina elastica interna, respektive lamina elastica externa.

Tunica adventitia je vnější vrstvou cév. Skládá se převážně ze šroubovicově uspořádaných kolagenních vláken a pojivové tkáně. Obsahuje také fibroblasty a fibrocyty, které tvoří kolagen a elastin [51]. Adventitia zprostředkovává fyziologické přenosy s okolním tělem a jsou v ní obsaženy nervy a vasa vasorum, tedy systém cév zásobící stěny velkých tepen [5]. Velkou měrou přispívá k mechanickým vlastnostem cév zejména při vyšším zatížení, kdy svojí pevností chrání cévní stěnu před protržením.

Tepny se ze strukturálního hlediska rozdělují na elastické a svalové. Elastické arterie se nacházejí blízko u srdce (např. aorta a karotické tepny) a jsou uzpůsobeny pro ustalování krevního tlaku. Tepny svalového typu pak na elastické arterie navazují, jejich media obsahuje větší množství svalových vláken a jejich průměr jimi může být aktivně zmenšen.

Tunica intima elastických arterií je tvořena jednou vrstvou endotelových buněk, uložených na bazální lamině a subendotelové vrstvě kolagenních snopců. Endotelové buňky jsou orientovány ve směru proudění. Tunica media je tvořena elastinovými membránami proloženými buňkami hladkého svalstva. Lidská aorta obsahuje 40 až 60 takových vrstev. Svalové buňky a kolagenní snopce tvoří v medii šroubovici o malém stoupání a dávají jí pevnost a houževnatost [51]. Tunica adventitia tvoří přibližně 10% stěny elastických arterií [48]. Snopce kolagenu procházející sítí elastinových vláken, které se zde nachází, zvyšují pevnost a tuhost tepny. Schéma stěny tepny elastického typu znázorňuje Obrázek 9.

Svalové arterie se od elastických svojí strukturou odlišují. Jejich intima je užší, adventitia širší. Zásadně se liší zejména medií. Ta u tepen svalového typu obsahuje větší množství vrstev svalových buněk, které formují šroubovice. Ve větších muskulárních arteriích lze nalézt 25 až 35 těchto vrstev, arterioly pak mohou obsahovat 1 až 2 vrstvy [52]. Mezi svalovými buňkami je menší množství kolagenních vláken. Elastin je pak zastoupen zejména v lamina elastica interna a u větších muskulárních arteriích také v lamina elastica externa.



Obrázek 9 – Schematické znázornění struktury elastických tepen, převzato z [51], upraveno

Charakteristickým prvkem většiny **vén** (výjimkou jsou například mozkové žíly nebo horní dutá žíla) jsou chlopně – výstelky endotelu. Ty zabraňují zpětnému toku krve, který by nastal vlivem hydrostatického tlaku. Endotelové buňky mají různou orientaci, v čemž se liší od endotelu tepen. U vén se nenachází mezi medií a zbylými dvěma vrstvami zřejmý předěl, jaký tvoří lamina elastica interna a lamina elastica externa u arterií. Struktura medie se různí v závislosti na velikosti žíly a jejího umístění v těle. Obecně však obsahují více elastinu a kolagenu na úkor hladké svaloviny. Elastin je v žilách obsažen ve formě podélně orientovaných vláken patrných zejména na vnitřní části medie. Adventitia velkých tepen může tvořit až 75 % jejich stěny. Je složena z kolagenních snopců, elastinových vláken a narozdíl od adventitie tepen obsahuje také ve větší míře svalové buňky. Snopce kolagenních vláken ve vénách tvoří šroubovitou strukturu, která prostupuje medií i adventitií [48].

Struktura i rozměry žil odpovídají nižšímu zatížení, kterému jsou fyziologicky vystavovány. V případě, že je žilní náhrada umístěna do tepenné části krevního řečiště, dochází k její remodelaci. Obvykle dochází k rozšíření jejího lumen, rozšíření stěny a strukturálním změnám, které vedou k jejímu tuhnutí. Žíla implantovaná na místo tepny se tedy přizpůsobuje a částečně získává charakteristiky arterií.

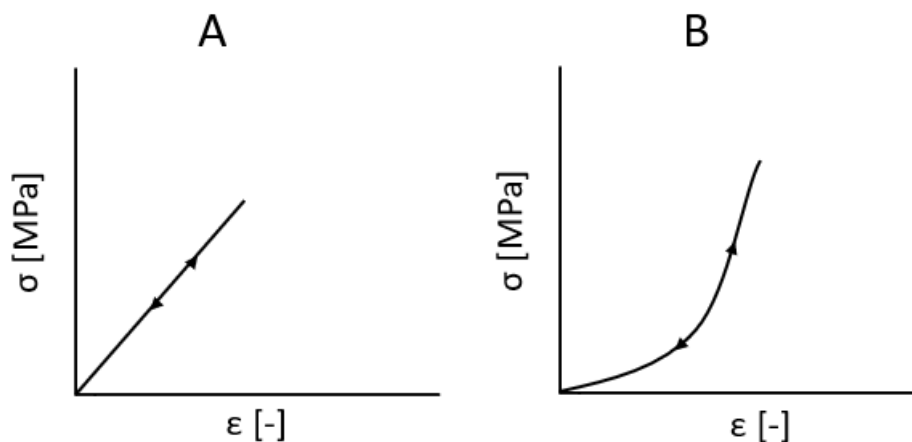
5.3 Mechanické vlastnosti cév

Vzhledem k tomu, jak se jednotlivé cévy odlišují svojí strukturou, je zřejmé, že i jejich mechanické vlastnosti se musí lišit. Totožnou mechanickou odezvu nelze pozorovat ani u stejných cév získaných z různých jedinců. Mechanické vlastnosti mohou jsou proměnné i v různých částech jedné cévy [53, 54]. Důležitými faktory, které mění vlastnosti cév člověka během života, jsou také jeho věk a zdravotní kondice – mechanické vlastnosti cév v patologickém stavu mohou být výrazně odlišné od stavu fyziologického.

Nelze tedy například získat mechanickým testováním konkrétní materiálové konstanty, které by zcela přesně popisovaly každou lidskou aortu [55]. Přesto existují obecné mechanické vlastnosti společné pro všechny cévy.

Pasivní mechanické vlastnosti cévy jsou dominantně určovány kolagenními a elastinovými vlákny. Cévní stěna, která obsahuje tato vlákna a jejich snopce orientované v rozličných směrech, má proto v různých směrech také odlišné mechanické vlastnosti. Jde o anizotropní materiál. Strukturální složky odlišných vlastností a vysoký podíl vody navíc odlišně přispívají k mechanické charakteristice. Cévy proto ve fyziologickém rozsahu zatížení vykazují chování elastických a vazkých materiálů. Hovoří se o nich tedy jako o viskoelastických.

Elastický materiál je takový, jehož každému stavu napětí odpovídá vždy jeden (stejný) stav deformace. Jinak řečeno, pro určení vnitřního napětí je nutné znát pouze deformace, kterým je materiál vystaven, a obráceně. Protože je deformace elastického materiálu závislá jen na vnitřním napětí, po odlehčení se takový materiál vrátí do stavu, ve kterém byl před zatížením. Z energetického hlediska je elastický materiál takový, při jehož deformaci nedochází k disipaci energie. Příkladem dokonale elastického materiálu je mnoho druhů kovů, které, pokud se při jejich zatěžování nepřekročí mez kluzu, vykazují lineárně elastickou odezvu. Popsané vlastnosti je možné pozorovat například na tahovém diagramu. Ten je pro elastický materiál charakteristický tím, že zatěžovací a odlehčovací křivky jsou totožné. Znamená to, že veškerá energie, jejíž hustotu v diagramu představuje plocha pod danou křivkou, je při deformaci uložena a při odlehčení bez disipace uvolněna, viz Obrázek 10, [56]. Lineární materiál je při jednoosé zkoušce možné charakterizovat Youngovým modulem pružnosti, který je směrnici tahové křivky. Pro popis nelineárního elastického materiálu je nutné zvolit složitější konstitutivní vztahy, např. založené na předpisu hustoty deformační energie (hyperelastický materiál).

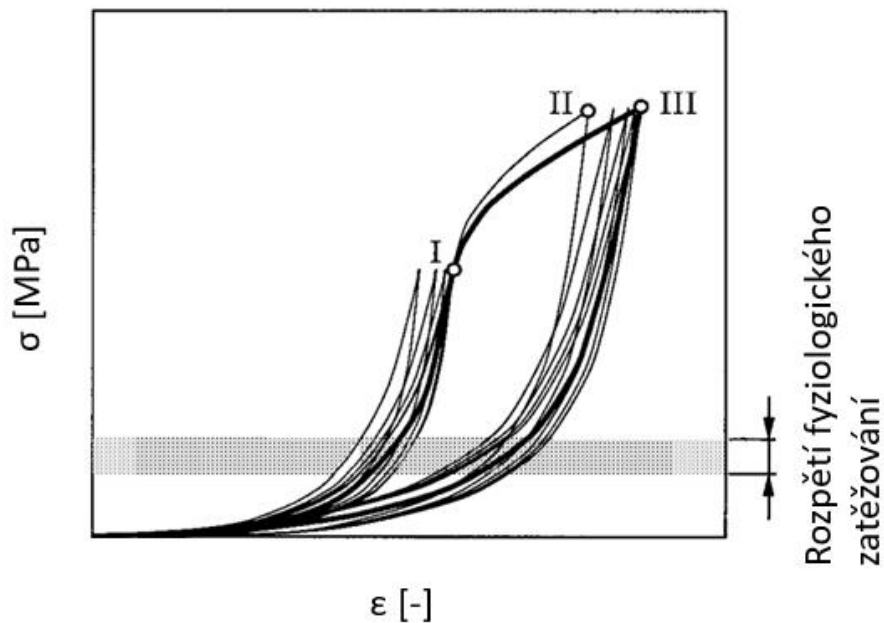


Obrázek 10 – Schematické grafy mechanické odezvy elastického materiálu
A – lineární elastický materiál, B – nelineární elastický materiál

Viskozita je pojem pocházející z mechaniky tekutin. Z Newtonova zákona viskozity je dynamická viskozita definována jako poměr mezi tečným napětím v tekutině a rychlostí deformace tekutiny. Také u pevných látek je viskozita vlastnost svazující napětí a rychlost deformace. Bývá ovšem definována jako podíl normálového napětí a rychlosti deformace ve směru tohoto napětí. Vzhledem k tomu, že napětí v dokonale vazkém tělese určuje pouze rychlost jeho deformace, po svém odlehčení (kdy je napětí nulové) zůstává objekt ve zdeformované poloze. Deformační energie tedy není ve vazkém materiálu ukládána, a právě v tom se materiál vazký zásadně liší od materiálu elastického [57].

Viskoelastický materiál vykazuje vlastnosti vazké i elastické. Napětí takového materiálu je tedy závislé nejen na deformaci, ale také na její rychlosti. Z energetického hlediska jsou pak viskoelastické materiály charakteristické disipací energie při deformaci. To může být patrné např. z tahového diagramu, ve kterém bude pro viskoelastický materiál odlehčovací křivka rozdílná od křivky zatěžovací. Dohromady tak vytváří hysterezní smyčku, jejíž obsah (plocha) udává množství disipované energie, viz Obrázek 11. Typický jev, který lze u viskoelastických materiálů pozorovat, tedy i u cév, je creep (tečení), tedy zvyšování deformace za stálého zatížení. Dalším pozorovaným jevem je relaxace, tedy snižování napětí za stálé deformace.

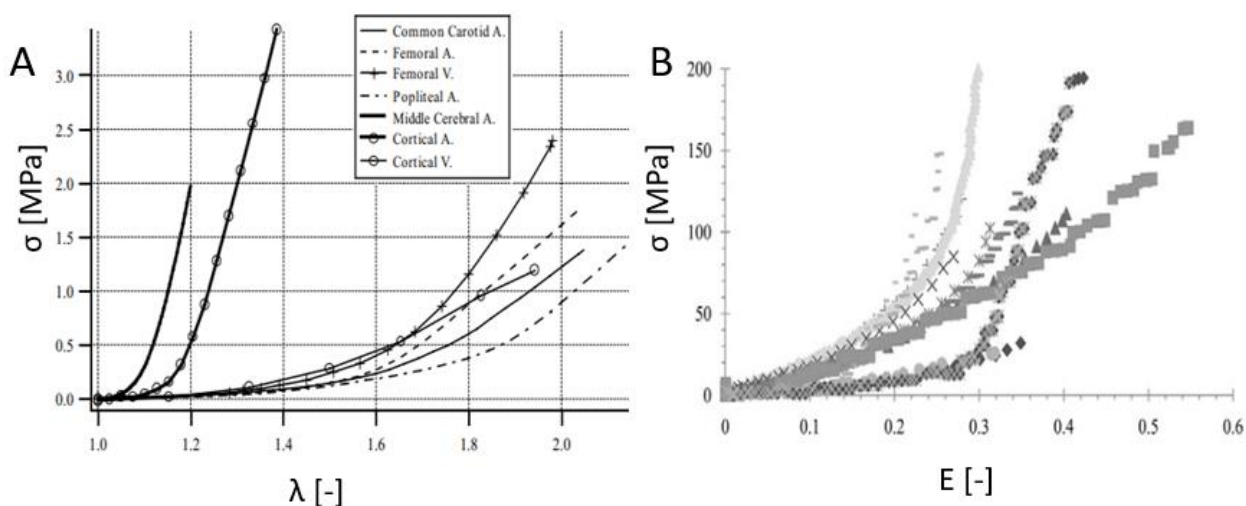
Kombinací výše zmíněných vlastností vzniká materiál, jehož mechanická odezva je nelineární, závislá na rychlosti a historii zatěžování a vykazuje hysterezi. A právě takové chování je typické pro cévy [58]. Nelinearita je zapříčiněna elastinovými a kolagenními vlákny a jejich postupným natahováním [58]. Při malých deformacích je aktivní pouze poddajná elastinová složka a složka kolagenní je nezatížena. Se zvětšujícími se deformacemi se začínají původně zvlněná volná kolagenní vlákna narovnávat a následně natahovat. Díky tomu, že zatížení začíná přenášet tužší kolagenní složka, se postupně s deformací zvyšuje tuhost celé cévní stěny. Schematicky znázorněnou mechanickou odezvu při jednoosé tahové zkoušce pásu vytnutého z tepenné stěny v obvodovém směru znázorňuje Obrázek 11 [51].



Obrázek 11 – Schematické znázornění typické mechanické odezvy tepenné stěny v obvodovém směru při jednoosé tahové zkoušce [51], upraveno.

Při cyklickém zatěžování až do bodu I nejprve dochází ke stabilizaci zkušební vzorku v rámci předcyklování. Během něho dochází k posunu deformační křivky a snižování množství disipované energie v rámci jednoho cyklu. Poté následují téměř identické viskoelastické cykly. Při zvýšení napětí až do bodu II (který se nachází vysoko nad fyziologickými hodnotami) dochází k hysterezi a změně tvaru deformační křivky. Odlišnou charakteristiku v mezích deformací, jimž do té doby nebyla vystavena. Tento jev se nazývá Mullinsův efekt a je typický pro měkké tkáně a některé polymerní materiály [59]. V následujících cyklech je patrná další ztráta tuhosti, vedoucí nakonec k ustálení na téměř totožných viskoelastických křivkách.

Mechanické charakteristiky získané testováním skutečných cév ukazuje Obrázek 12. Je patrné, že přestože si všechny cévy zachovávají charakteristickou nelineární odezvu, její konkrétní tvar se různí. Z obrázku je také patrná velká míra deformace, které mohou cévní stěny dosahovat. Již při napětí řádově desítek kPa se běžně deformují v řádech desítek procent své původní délky.

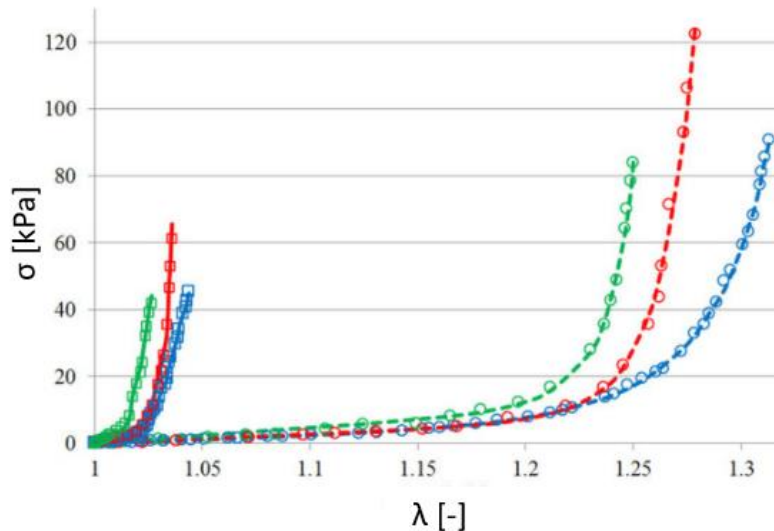


Obrázek 12 – Mechanická charakteristika cév.

A) Srovnání mechanické odezvy v obvodovém směru různých cév [60].

B) Výsledky dvouosé tahové zkoušky v obvodovém směru vzorku sestupné aorty několika dárců. E značí Greenovu-Lagrangeovu deformaci [53].

Dosud prezentované grafy mechanické odezvy se týkaly chování cévní stěny při kvazistatickém zatěžování. Při takových testech se deformace a zatížení mění dostatečně nízkou rychlostí, aby bylo možné zanedbat setrvačné účinky. Měkké tkáně obecně vykazují tužší mechanickou odezvu při rychlejším zatěžování. Konkrétní výsledky inflačně-extenzních testů při různých rychlostech zatěžování provedených na VSM ukazuje Obrázek 13. Z něj je patrné, že tuhost věny stoupala s rychlostí zatěžování, která byla udávána frekvencí pulzace vnitřního tlaku. Při zatěžování s frekvencí 1 Hz, která přibližně odpovídá frekvenci srdečního cyklu, byla céva výrazně tužší než při nejpomalejším režimu 0,04 Hz, jenž simuloval kvazistatické zatěžování. Podobné výsledky u vén i arterií uvádí také [60] při biaxiální zkoušce. Zvýšení tuhosti aorty při zvýšené srdeční frekvenci bylo pozorováno také *in vivo* [61]. Tato závislost na rychlosti zatěžování ovšem není vždy pozorována, jak uvádí na testech aorty a femorálních tepen [62], respektive [63].



Obrázek 13 – Zatěžovací křivky VSM při různých rychlostech zatěžování získaná inflačně-extenzním testem pro axiální (\square) a obvodový (\circ) směr [64].

Frekvence zatěžování: modrá – 0,04 Hz, červená – 0,5 Hz, zelená – 1 Hz

Vliv kryoprezervace na mechanické vlastnosti cév

Přestože jsou protokoly kryoprezervace vaskulárních tkání neustále zdokonalovány, není možné zcela předejít poškození jejich struktury. Při kryoprezervaci cév bývají poškozeny zejména endotelové buňky a svalové buňky v medii. Absence vrstvy endotelu zvyšuje pravděpodobnost vzniku trombů. Poškození svalových vláken pak snižuje celkovou pevnost tuniky intimy [65]. Konkrétní míra poškození je závislá na protokolu kryoprezervace [66, 67, 68]. I výsledky různých studií zkoumajících vliv obdobných protokolů se ovšem liší [70]. Obecně bývá pozorována částečná ztráta endotelu i svalových vláken. Po implantaci pak v řádu měsíců probíhá v těle remodelace biologické náhrady, při níž dochází ke zbytnování intimy, ve které se objevují svalové buňky. Tato nově vzniklá vrstva se označuje jako neointima Tunica media oproti tomu ztrácí pevnost a může docházet k její kalcifikaci. Neointima tak může přejímat původní funkci medie a stát se dominantní z hlediska určování mechanických vlastností [70].

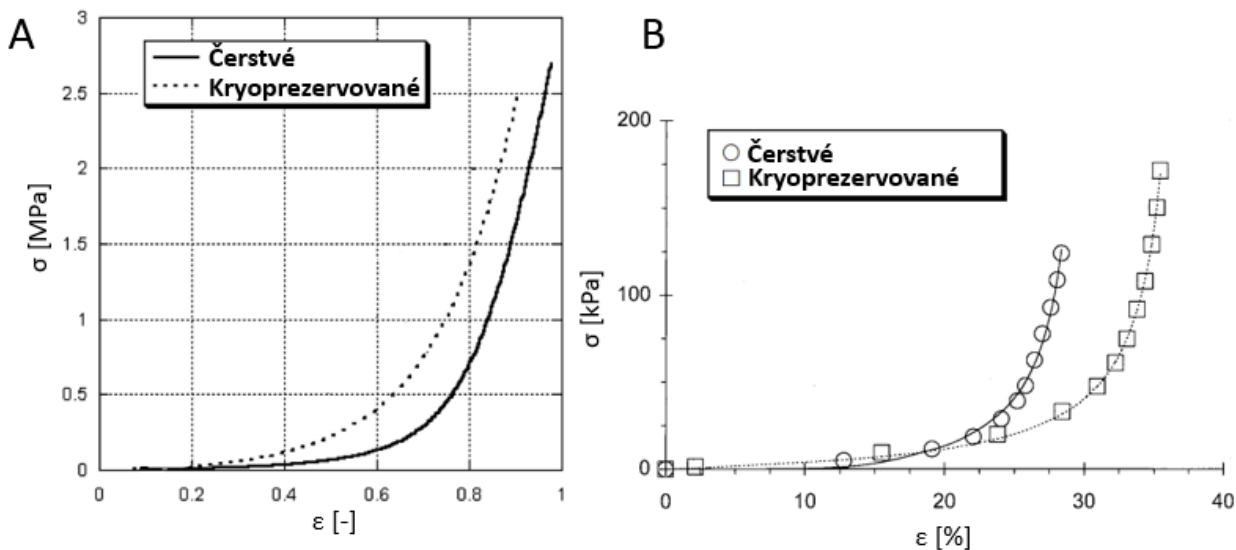
Úkony související s kryoprezervací tedy nejsou jediným faktorem, který ovlivňuje finální mechanické vlastnosti – ty se mění také přímo v těle po implantaci náhrady. Mechanické testy cévy po kryoprezervaci ovšem mohou odhalit, jak velké změny vnáší právě samotný úkon kryoprezervace. Dosavadní výzkum jednoznačně neprokázal, zda kryoprezervace mechanické vlastnosti ovlivňuje. Několik autorů uvádí, že rozdíly v pasivních mechanických vlastnostech nebyly pozorovány [71 - 73]. V [74] ovšem autoři uvádějí významný rozdíl v tuhosti kryoprezervovaných tepen oproti tepnám čerstvým. Zde vykazovaly kryoprezervované králičí karotidy při tlaku 100 mmHg nižší tečný modul pružnosti než karotidy čerstvé. Kryoprezervace přitom zahrnovala chlazení na $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$. Naopak při chlazení pouze na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ autoři změny nepozorovali.

Výsledky zahrnující i tahové křivky uvádí [75], viz Obrázek 14. Zde byly zkoumány porcinní femorální arterie. Jejich prstence byly zmrazeny rychlostí $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ na teplotu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, jako kryoprezervační činidlo byl použit 15% roztok dimethylsulfoxidu. Rozmrazeny pak byly ve vodní lázni teploty $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Prstence byly poté podrobeny jednoosé tahové zkoušce v obvodovém

směru a porovnány s výsledky stejné zkoušky provedené na prstencích z čerstvých femorálních arterií.

Výzkumy zahrnující mechanické testy na lidských kryoprezervovaných cévách jsou relativně vzácné. Zajímavé informace nicméně uvádí [76]. Autoři zde provedly inflační testy na částech čerstvých a kryoprezervovaných iliakálních a femorálních tepem, viz Obrázek 14. Je ovšem třeba zdůraznit, že protokol kryoprezervace se výrazně lišil od standardu, který je popsán v části 4.3. Autoři použili rychlejší chlazení: $-1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, poté $-5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, kryoprotektantem byl 10% roztok dimethylsulfoxidu. Zejména se pak lišilo rozmrazování, které probíhalo ve vodní lázni teploty $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ a bylo provedeno během 20 minut.

Z porovnání výsledků prezentovaných v [75] a [76] je zřejmé, že pozorovaný vliv kryoprezervace na mechanickou odezvu je v každém z pramenů zcela odlišný. Zatímco v prvním případě vykazovaly kryoprezervované cévy celkově tužší odezvu, druhý výzkum naznačuje naopak jejich vyšší poddajnost při nižších mírách deformace a srovnatelnou při deformacích větších. Protokoly kryoprezervace se ovšem lišily jak mezi oběma případy, tak také od postupů využívaných při kryoprezervaci štěpů pro transplantace v České republice. Kryoprezervace tedy zřejmě může mechanickou odezvu arterií měnit, dosavadní výzkum ovšem neprokazuje, jakým způsobem, pokud vůbec.



Obrázek 14 – Vliv kryoprezervace na mechanické vlastnosti Tepen.

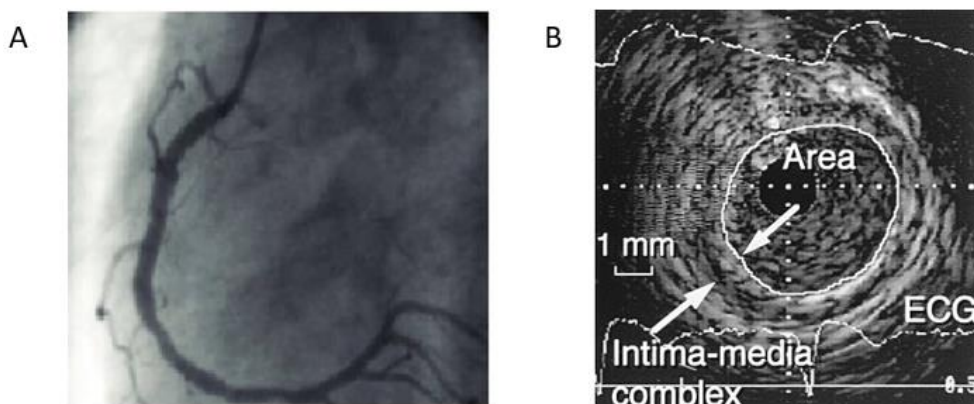
A) Mechanická odezva čerstvých a kryoprezervovaných porcinních femorálních arterií v obvodovém směru při jednoosé tahové zkoušce [75],

B) Mechanická odezva čerstvých a kryoprezervovaných lidských iliakálních a femorálních arterií v obvodovém směru při inflačně-extenzním testu [76]

5.4 Mechanické testování cév

Cévy jsou v těle vystavovány celé řadě vlivů, které na ně mechanicky působí či mění jejich mechanické vlastnosti. Mechanické interakce orgánů či hormonální a nervovou stimulaci působící na cévy je obtížné převést do laboratorních podmínek. In vivo je možné provést základní pozorování například pro charakterizaci tuhosti tepny, kdy jsou vyhodnocovány údaje o poloměru

cévy a krevním tlaku. Pro takové měření se může využít například metod jako angiografie, kdy je sledována fluorescentní látka v cévě, nebo intravaskulární ultrazvuk, kdy je snímán pohyb stěny zevnitř tepny, viz Obrázek 15 [51, 61, 77]. In vivo měření sice určitým způsobem popisují chování cévy přímo v těle, mají ovšem svá omezení. Kvůli mnoha účinkům, které nemohou být přesně kvantifikovány (např. silové působení okolních orgánů a aktivace svalové komponenty cévy), není možné provést mechanickou charakterizaci, která by jasně vázala parametry napětí, deformace, její rychlost apod. Z toho důvodu je důležité testování in vitro, kdy jsou jasně definované a opakovatelné podmínky testování a může být přesně měřena kinematika měřeného vzorku. Takové testy popisují pouze pasivní část mechanické odezvy, tedy takovou, která není ovlivněna aktivací svalových vláken.



Obrázek 15 – Levá věnitá tepna.

A – zobrazení angiografií [78], B – zobrazení intravaskulárním ultrazvukem [79]

Při mechanických testech je třeba brát v potaz anizotropii cévní stěny a rozlišovat jednotlivé směry. Běžně bývají udávány hodnoty ve směru obvodovém a podélném vzhledem k pomyslné ose cévy.

Pro získání mechanické odezvy cévy při laboratorních testech je možné využít různých zkušebních metod. Jejich výběr je závislý na tom, jaké charakteristiky jsou předmětem zkoumání. Při všech testech, jejichž výstupem má být charakteristika mechanické odezvy ve formě závislosti napětí-deformace, musí být před začátkem samotného měření provedena stabilizace vzorku. Během prvních cyklů se totiž mechanická odezva měkkých tkání mění [80]. Vnitřní vazby se přizpůsobují danému režimu namáhání, což vede k postupnému posuvu deformačních křivek a snížení hystereze v rámci jednotlivých cyklů, viz Obrázek 16. Aby mělo měření vypovídající hodnotu a bylo možné ho například porovnat s měřeními provedenými v rámci jiných prací, musí být vyhodnocována mechanická odezva po provedení předcyklování. Při testech cév bývá ke stabilizaci obvykle považováno za dostačující provedení 5-10 cyklů [80-83].

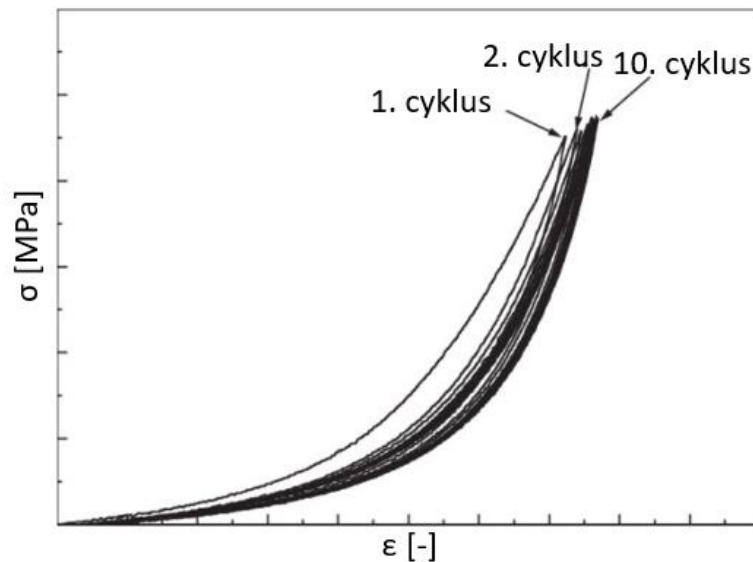
Téměř vždy se při vyhodnocování měření využívá faktu, že cévní stěna, podobně jako jiné měkké tkáně, během své deformace zachovává stále stejný objem. Předpoklad nestlačitelnosti se pak projeví ve vztazích mezi deformacemi v jednotlivých směrech. Obecně pro takový materiál platí rovnice:

$$J = \det(\mathbf{F}) = 1 \quad (1)$$

kde \mathbf{F} je deformační gradient popisující deformaci zkušební tělesa, J je jeho determinant. Složky deformačního gradientu jsou definovány jako: $F_{ij} = \partial x_i / \partial X_j$. Kde \mathbf{x} a \mathbf{X} jsou polohové vektory bodu kontinua v aktuální a referenční poloze. Jsou-li uvažovány pouze deformace v normálovém směru a zanedbány složky smykové, přechází vztah do formy:

$$\lambda_1 \cdot \lambda_2 \cdot \lambda_3 = 1 \quad (2)$$

Kde $\lambda_{1,2,3}$ jsou streče v jednotlivých směrech.



Obrázek 16 – Ukázka stabilizace mechanické odezvy během předcyklování při jednoosé tahové zkoušce pásu tepenné stěny [80]

Jednoosá tahová zkouška je základní a často používanou metodou mechanického testování. Při ní je pás cévní stěny svorkami či jinak upevněn do zkušebního stroje, který potom na cévu působí tahovou silou v jednom směru. Zaznamenávána je síla, jíž stroj působí, a délka zkušební vzorku. Ta může být měřena buďto přímo zkušebním strojem, přiložením ramínkového extenzometru nebo optickými metodami, kdy je pozorována pozice markerů nanesených na vzorek. Délka vzorku a působící síla jsou korelovány v čase a mohou pak být přepočteny na závislost napětí-deformace, případně napětí-streč [84, 85].

Streč λ ve směru působení síly je pak definován jako:

$$\lambda = \frac{l}{L} \quad (3)$$

kde l a L jsou aktuální a referenční vzdálenost čelistí přístroje, případně markerů.

Dále může být určeno 1. Piola-Kirchhoffovo napětí P , tedy napětí vztahované k referenčním geometrickým hodnotám:

$$P = \frac{N}{H \cdot B} \quad (4)$$

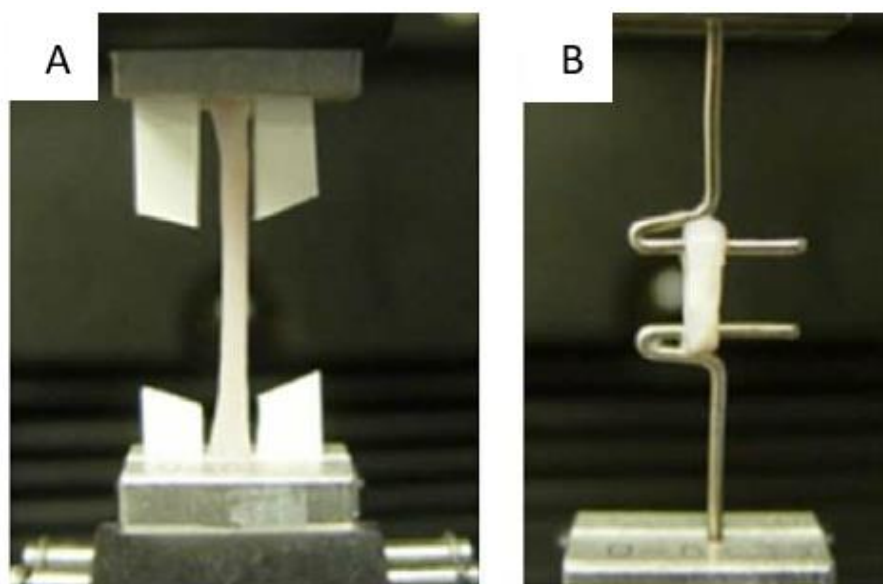
kde N je síla působící na vzorek a H a B jsou referenční tloušťka a šířka vzorku [83]. Cauchyho napětí, které je vztaženo k aktuální geometrii, je možné vyjádřit jako:

$$\sigma = \frac{N \cdot \lambda}{H \cdot B} \quad (5)$$

Vyjádření Cauchyho napětí je umožněno uvažováním nestlačitelnosti materiálu dle rovnice (2).

Alternativním způsobem provedení jednoosé tahové zkoušky je jednoosá zkouška prstenců cévy. Při této zkoušce je zkušebním vzorkem prstenec, který vznikne vystřížením krátkého segmentu cévy v obvodovém směru [75, 83]. Dovnitř prstence je vložena dvojice kolíků či drátů. Ty jsou poté od sebe vzdalovány. Zaznamenávána je síla, jíž jsou dráty od sebe odtahovány, a jejich vzdálenost. Přepočtení na napětí a deformace je potom podobný jako v případě klasické jednoosé zkoušky. Tento postup se využívá zejména pro cévy malých průměrů, kde by bylo nemožné připravit experimentální vzorek v obvodovém směru. Oba způsoby provedení jednoosé tahové zkoušky znázorňuje Obrázek 17.

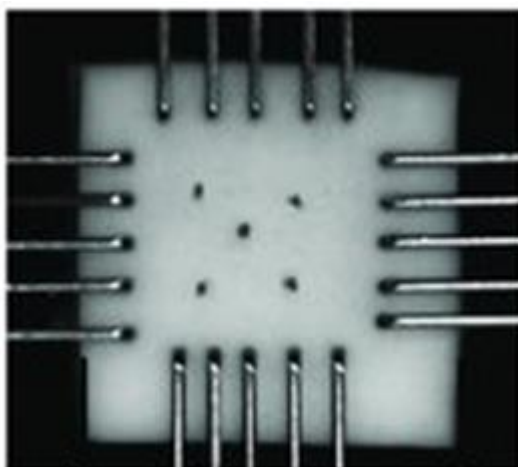
Jednoosá tahová zkouška, ať už provedená kterýmkoliv způsobem, může sloužit jako vhodný nástroj pro zjišťování pevnostních mezí cévní stěny v daném směru. Její využití pro charakterizaci mechanické odezvy je ovšem omezené. Výsledky zkoušky mohou fungovat v komparativním výzkumu, kdy není důležitý přesný tvar tahové křivky. Zkoumáno může například být, zda určitý patologický stav mění mechanickou odezvu oproti stavu běžnému apod. Pro přesnější charakterizaci mechanické odezvy, která pak může být využita například pro materiálový popis pomocí konstitutivního vztahu, je ovšem třeba využít metod komplexnějších.



Obrázek 17 – Jednoosé tahové zkoušky cévních vzorků.
A – zkouška prováděná na pásu z cévní stěny, B – zkouška prováděná na prstenci cévy [86]

Dvouosá tahová zkouška je dalším způsobem běžně využívaným pro zjištění mechanické odezvy cévní stěny. Při ní je postupováno podobně jako při jednoosé tahové zkoušce, síla je ovšem aplikována ve dvou na sebe kolmých směrech, viz Obrázek 18. To umožňuje popsat vlastnosti v obou hlavních směrech současně, což je pro anizotropní materiál důležité. Ovládání síly a záznam údajů o délce v obou směrech může být využito k různým účelům. Může být například aplikována síla v jednom směru podobně jako u jednoosé zkoušky, ovšem za konstantního zatížení či konstantní deformace ve směru druhém. Ponechání stálé deformace v jednom směru může simulovat axiální předpětí cévy [87, 88]. Biaxiální test také umožňuje postupné zatěžování v obou směrech při různých poměrech mezi zatíženími [63].

Výstupem planární dvouosé tahové zkoušky je záznam o aplikovaných silách a poloze významných bodů na povrchu vzorku. Těmito body mohou být markery nebo povrchové nehomogenity v případě využití metod laserové interferometrie či digitální korelace obrazu [88].



Obrázek 18 – Vzorek stěny aorty při biaxiální tahové zkoušce upevněný pomocí háčků se zvýrazněnými body pro sledování deformace [89]

Výsledky zkoušky pak mohou být převedeny na napětí a deformace. Následující vztahy jsou odvozeny dle [83, 90]. Čísla spodních indexů označují 2 kolmé směry (zpravidla obvodový a axiální). Okamžitá pozice každého bodu může být vyjádřena v závislosti na referenční konfiguraci jako:

$$\begin{aligned} x_1 &= \lambda_1 X_1 + \kappa_1 X_2 \\ x_2 &= \lambda_2 X_2 + \kappa_2 X_1 \end{aligned} \quad (6)$$

kde malá a velká $x_{1,2}$ a $X_{1,2}$ označují polohu ve zdeformované a referenční konfiguraci. Streče $\lambda_{1,2}$ jsou definovány jako $l_{1,2}/L_{1,2}$ a koeficienty $\kappa_{1,2}$ popisují vliv smykové složky deformace. Při planárním testu je tloušťka vzorku považována za dostatečně malou, aby byly smykové složky deformace působící mimo rovinu os x_1, x_2 považovány za zanedbatelné. Deformační gradient potom nabývá tvaru:

$$\mathbf{F} = \begin{pmatrix} \lambda_1 & \kappa_1 & 0 \\ \kappa_2 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{pmatrix} \quad (7)$$

Uvažováním nestlačitelnosti materiálu pak kombinací rovnic (1) a (7) lze vyjádřit streč tloušťky vzorku jako:

$$\lambda_3 = (\lambda_1 \lambda_2 - \kappa_1 \kappa_2)^{-1} \quad (8)$$

Smyková část deformace je v mnohých případech zanedbatelná ($\kappa_1 = \kappa_2 = 0$). V takovém případě je možné zjednodušit tento vztah přepsáním rovnice (2) jako:

$$\lambda_3 = (\lambda_1 \lambda_2)^{-1} \quad (9)$$

Jako míra deformace může být použit Greenův-Lagrangeův tensor deformace \mathbf{E} :

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2} (\mathbf{F}^T \mathbf{F} - \mathbf{I}) \quad (10)$$

kde \mathbf{I} je jednotková matice rozměru 3x3. Složky 1. Piolova-Kirchhoffova napětí je možné obdobně jako v případě jednoosé tahové zkoušky napsat jako:

$$P_1 = \frac{N_1}{HL_2}, \quad P_2 = \frac{N_2}{HL_1} \quad (11)$$

kde H je referenční tloušťka obdobně jako u jednoosé zkoušky. Cauchyho napětí, případně 2. Piolovo-Kirchhoffovo napětí je možné spočítat pomocí vztahů:

$$\boldsymbol{\sigma} = \mathbf{P} \mathbf{F}^T, \quad \mathbf{S} = \mathbf{F}^{-1} \mathbf{P} \quad (12)$$

Biaxiální testování vyžaduje větší množství zkušebního materiálu než jednoosá zkouška. Každý vzorek musí být dostatečně velký, aby se v části, na níž je snímána poloha, neprojevovaly vlivy od upnutí. Ovládání zatížení a deformací ve dvou osách ale umožňuje přesnější sledování charakterizaci cévy při různých zatíženích, to umožňuje lépe napodobit namáhání cévní stěny, kterému je v těle vystavena. Biaxiální planární tahová zkouška tak může být použita nejen pro komparaci mechanické odezvy dvou sad vzorků, ale také pro charakterizaci cévní stěny či jejich komponent pomocí konstitutivních vztahů [63, 91].

Inflační test je metodou, která nejlépe simuluje namáhání pulsujícím krevním tlakem [83]. Spočívá v uchycení úseku cévy do zkušebního systému, který poté do vzorku pumpuje kapalinu a vytváří tak vnitřní přetlak. Následně je pozorováno nafukování a případně axiální deformace vzorku. Test může být proveden více způsoby. Nejběžnějšími bývají využívány inflačně-extensní

test nebo inflační bublinový, viz Obrázek 19. Při inflačním bublinovém testu je planární úsek zkušebního materiálu připnut svorkami a je pod něj pumpována tekutina. Výsledkem je záznam deformace, zpravidla získané digitální korelací obrazu, v závislosti na vnitřním přetlaku. Při inflačně-extenzním testu je tubulární vzorek upnut do horizontální či vertikální polohy a je do něj pumpována tekutina. Deformace je pak získána digitální korelací obrazu či analýzou rentgenového záznamu vzorku. Deformace je také korelována s vnitřním přetlakem. Inflačně-extenzní test byl zvolen pro vyhodnocení mechanické odezvy vzorků v této práci.



Obrázek 19 – Vzorky v experimentální sestavě pro provedení inflačních testů.

A) Úsek aorty připevněný mezi upínacími trny při inflačně extenzním testu snímáný rentgenem [92], B) Planární vzorek elastomeru při bublinovém inflačním testu snímáný kamerami [93]

Při vyhodnocení inflačně-extenzního testu jsou uvažovány následující zjednodušení a předpoklady: cévní stěna je považována za nestlačitelnou, vzorek za dokonale válcovitý a smykové složky napětí se předpokládají zanedbatelně malá. Je zřejmé, že ani jeden z předpokladů nemůže být při testech cév dokonale splněn. V rámci výzkumné praxe bývají však tato zjednodušení běžně uvažována a experimenty se provádějí tak, aby se podmínky blížily stanoveným předpokladům. Zejména je nutné dbát na to, aby byl vzorek dostatečně dlouhý a vyhodnocovaná oblast tak nebyla ovlivněna interakcí s upínadlem. V případě, že by některá z těchto podmínek nebyla splněna, např. pokud by deformace vzorku byla významně nesouměrná, případně by bylo aplikováno také namáhání krutem, bylo by třeba zevrubnějšího geometrického popisu. Např. využitím ultrazvukových metod snímání polohy [94].

Ze získaných hodnot tlaků a posuvů jsou vypočteny závislost napětí-deformace. To může být provedeno na základě teorie tenkostěnných či tlustostěnných rotačně symetrických nádob. Obě bývají při popisu cévy při inflačně-extenzním testu používány [83, 95, 96]. Výběr metody závisí na záměru, s nímž je test prováděn. Jednodušší možností popisu je využití teorie tenkostěnných nádob. Jeho použitím sice vznikne větší chyba při výpočtu napětí ve stěně cévy. Chyba ovšem pro cévy velkých průměrů a malé tloušťky stěny nemusí být zásadně velká. Tato metoda je navíc dostačující pro komparaci mechanické odezvy dvou sad vzorků.

Teorie tenkostěnných nádob popisuje napětí v objektu, jehož tloušťka stěny je výrazně menší než zbylé dva rozměry. U trubic je možné považovat za dostatečné, jsou-li průměr a tloušťka stěny v poměru 10:1 [97]. Pro platnost teorie je nutný membránový stav napětí. Tato podmínka je splněna, pokud: velikost spojitého zatížení stěny a její tloušťka se nemění náhle, poloměr křivosti

a poloha středu křivost se nemění skokově a vnější síly, které působí na skořepinu, mají směr tečny k povrchu skořepiny. Dále se dle této teorie předpokládá, že vzhledem k zanedbatelné tloušťce stěny trubice je v jejím průřezu napětí konstantní. To umožňuje všechny hodnoty vztahovat ke střednímu poloměru trubice r . Důležitým předpokladem, který je při odvození této teorie uvažován, je také presumpce malých deformací. To je podmínka, která obvykle nemůže být při inflačních testech cév příliš dobře splněna.

Závislost napětí na vnitřním přetlaku je pak možné u skořepiny obecně popsat Laplaceovou rovnicí [97]:

$$\frac{\sigma_1}{r_1} + \frac{\sigma_2}{r_2} = \frac{p}{H} \quad (13)$$

kde $\sigma_{1,2}$ jsou napětí ve dvou kolmých směrech, $r_{1,2}$ jsou poloměry křivosti v těchto směrech, p je vnitřní přetlak a H tloušťka stěny. Aplikací této rovnice pro uzavřenou válcovou trubici, která je při testu cévy uvažována, lze pak jednotlivá napětí vyjádřit jako:

$$\sigma_{\theta\theta} = r \frac{p}{H}, \quad \sigma_{zz} = \frac{\sigma_{\theta\theta}}{2} \quad (14)$$

kde $\sigma_{\theta\theta}$ a σ_{zz} jsou napětí v obvodovém, respektive axiálním směru. Napětí v radiálním směru σ_{rr} je považováno za nulové. Streče v jednotlivých směrech jsou vyjádřeny jako:

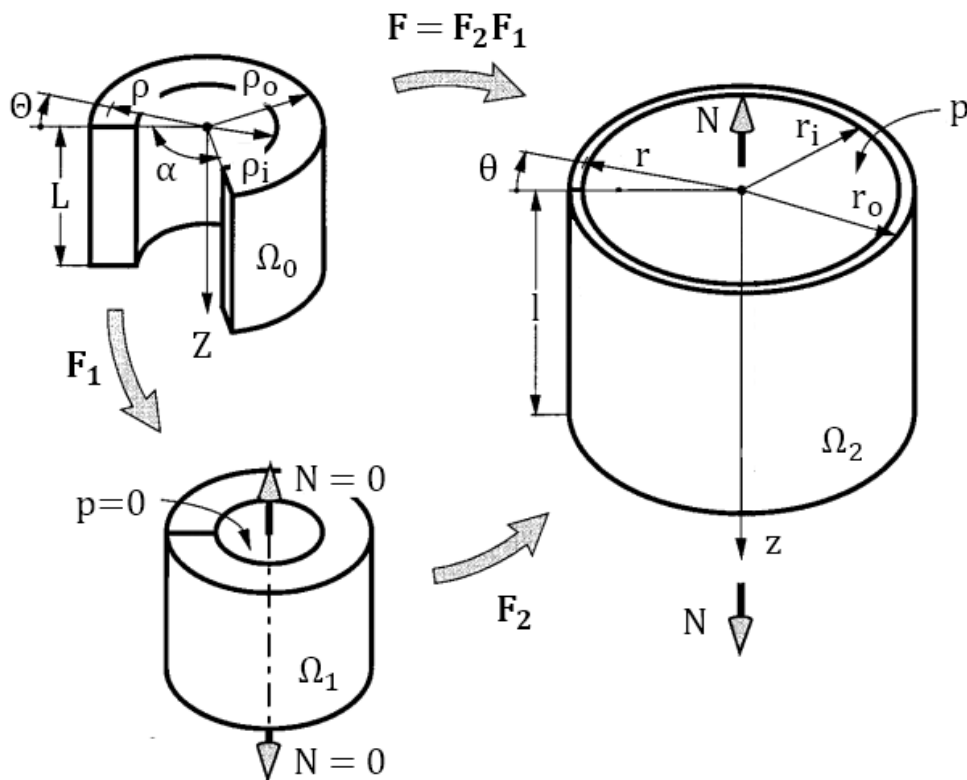
$$\lambda_{\theta\theta} = \frac{r}{R}, \quad \lambda_{zz} = \frac{l}{L}, \quad \lambda_{rr} = \frac{1}{\lambda_{zz} \cdot \lambda_{\theta\theta}} \quad (15)$$

Dosazením rovnic (15) do (14) vznikne vztah pro výpočet napětí:

$$\sigma_{\theta\theta} = Rp \frac{\lambda_{\theta\theta}^2 \lambda_{zz}}{H} = p \frac{r^2 l}{RHL}, \quad \sigma_{zz} = p \frac{r^2 l}{2RHL} \quad (16)$$

Využitím těchto vzorců je pak možné vyjádřit mechanickou odezvu jako závislost napětí-deformace v obvodovém a axiálním směru.

K složitějším rovnicím je nutné dospět při uvažování trojrozměrné napjatosti v cévě stěny. **Teorie předpokládající cévu jako tlustostěnnou nádobu** je přesnější zejména pro arterie menšího poloměru s tlustší stěnou. To je případ také této práce. Pro popis deformací je v tomto případě vhodné použít deformační gradient. V cévní stěně se ovšem vyskytují obvodová předpětí, jak bylo zmíněno v části 5.1. Toto předpětí je větší pro arterie. Zatímco úhel rozevření aorty se pohybuje mezi 100 a 250 ° [98], úhel rozevření VSM se pohybuje okolo 90 °. [99]. Vzhledem k tomu, že cílem měření může být popis cévy pomocí konstitutivního vztahu, je vhodné za referenční stav uvažovat takový, při němž ve stěně nepůsobí napětí [100]. Tohoto stavu céva dosáhne, je-li rozstřížena a samovolně se otevře. Celková deformace je tedy složena z uzavření a následné inflace a axiálního prodloužení, jak znázorňuje Obrázek 20.



Obrázek 20 – Úsek cévy v beznapěťové konfiguraci Ω_0 , v konfiguraci bez zatížení Ω_1 a v konfiguraci po deformaci Ω_2 vlivem působení vnitřního přetlaku a axiální síly [51]. Upraveno $F_{1,2}$ = deformační gradienty popisující deformace mezi jednotlivými konfiguracemi, α = úhel rozevření, Θ a θ – obvodové souřadnice v jednotlivých konfiguracích

Céva tedy podstupuje dvě deformace. První z nich je uzavření do trubice, které může být popsáno deformačním gradientem \mathbf{F}_1 , který popisuje změnu počátečního uhlu Θ o úhel rozevření α na úhel θ . Druhá deformace je spojena s aplikací vnitřního tlaku a případně axiální síly a může být popsána deformačním gradientem \mathbf{F}_2 . Deformační gradient popisující deformaci z beznapěťového stavu do stavu při namáhání vnitřním přetlakem je násobkem těchto dvou gradientů (platí $\mathbf{F} = \mathbf{F}_2\mathbf{F}_1$) [100, 101, 102]. Tento gradient je v cylindrických souřadnicích definován jako:

$$\mathbf{F} = \begin{pmatrix} \frac{\partial r}{\partial \rho} & \frac{1}{\rho} \frac{\partial r}{\partial \theta} & \frac{\partial r}{\partial Z} \\ \frac{\partial \theta}{\partial \rho} & r \frac{\partial \theta}{\partial \theta} & \frac{\partial \theta}{\partial Z} \\ \frac{\partial z}{\partial \rho} & \frac{1}{\rho} \frac{\partial z}{\partial \theta} & \frac{\partial z}{\partial Z} \end{pmatrix} \quad (17)$$

Zanedbáním všech smykových složek deformace pak vzniká:

$$\mathbf{F} = \begin{pmatrix} \frac{\partial r}{\partial \rho} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{r}{\rho} \frac{\partial \theta}{\partial \Theta} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\partial z}{\partial Z} \end{pmatrix} \quad (18)$$

Dále je uvažováno, že axiální prodloužení je v rámci vyhodnocované části vzorku konstantní v celé délce (samozřejmě se mění v čase v závislosti na vnitřním tlaku). To umožňuje vyjádřit osovou souřadnici z jako:

$$z = \lambda_{zz} Z \Rightarrow \frac{\partial z}{\partial Z} = \lambda_{zz} = \frac{l}{L} \quad (19)$$

Relace mezi úhlem Θ v beznapěťové konfiguraci a θ v konečné konfiguraci lze odvodit jako závislost na úhlu rozevření α , viz Obrázek 20. Budiž zavedena konstanta $k = 2\pi / (2\pi - \alpha)$. Platí potom:

$$\theta = \frac{2\pi}{2\pi - \alpha} \Theta = k\Theta \Rightarrow \frac{\partial \theta}{\partial \Theta} = k \quad (20)$$

Vzhledem k nestlačitelnosti materiálu musí mít céva v konfiguraci Ω_0 a Ω_2 stejný objem. Tuto podmínku lze vyjádřit vztahem:

$$2\pi l(r_0^2 - r_1^2) = (2\pi - \alpha)L(\rho_1^2 - \rho_0^2) \quad (21)$$

Z této podmínky lze vyjádřit závislost $r = r(\rho)$ jako:

$$r = \sqrt{\frac{\rho^2 - \rho_1^2}{k\lambda_{zz}} + r_1^2} \quad (22)$$

Z podmínky nestlačitelnosti ve formě (2) lze pak vyjádřit první člen deformačního gradientu jako:

$$\lambda_{rr} = \frac{\partial r}{\partial \rho} = \frac{\rho}{rk\lambda_{zz}} \quad (23)$$

Výsledný deformační gradient je pak:

$$\mathbf{F} = \begin{pmatrix} \frac{\rho}{rk\lambda_{zz}} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{r}{\rho}k & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_{zz} \end{pmatrix} \quad (24)$$

kde r je vyjádřeno z rovnice (22) [100, 101, 102].

Výpočet napětí v cévě jako tlustostěnné nádobě je přímo spjat s konstitutivními rovnicemi, které jsou využité pro materiálový popis cévní stěny. Vzorce pro jeho výpočet proto budou uvedeny v další části práce.

Inflačně-extenzní testy jsou oproti planárním testům náročnější z hlediska množství zkušebního materiálu, protože je na jedinou zkoušku potřeba celý úsek cévy, který musí měřit několik cm. Matematický aparát využitý při vyhodnocování je obzvláště při uvažování tlustostěnné nádoby také relativně komplexnější než u planárních zkoušek. Využití inflačně-extenzního testu ovšem umožňuje velmi dobře simulovat podmínky zatěžování v krevním řečišti. Mimo pulsujícího tlaku je možné na jeden konec vzorku aplikovat axiální sílu, která tak může napodobovat předpětí, které je přirozeně přítomné v těle [97]. V případě, že je to předmětem výzkumu, je možné také sledovat mechanickou odezvu při aplikování krutu s uvažováním smykového napětí [97].

5.5 Materiálové modelování cévní stěny

Aby bylo možné predikovat mechanické chování materiálu mimo laboratorní podmínky, je ho možné popsat vztahem mezi tlakem a deformací nebo napětím a deformací, případně dalšími parametry. Pro popisu cévních stěn se běžně využívají vztahy založené na materiálovém modelu hyperelasticity (též Greenovy elasticity) [103]. Cévní stěna je v takovém případě považována za dokonale elastický materiál. To, jak bylo zmíněno v části 5.4, není zcela přesné, protože při deformaci cévní stěny vždy dochází k disipaci energie. Množství disipované energie se stabilizací vzorku (např. cyklickým zatěžováním, viz Obrázek 16) výrazně snižuje a dochází k ustálení odezvy. Její zatěžovací a odlehčovací křivka se sice navzájem liší, ale vzhledem k tomu, že se už dále nemění, je možné je obě modelovat jako elastické. Hovoří se v tomto případě o pseudoelasticitě [104, 105].

Hyperelastický model popisuje chování elastického materiálu za předpokladu existence Helmholtzovy volné energie [106]. V případě, že je možné deformaci tělesa označit za adiabatickou (nedochází při ní ke sdílení tepla), váže pak vnitřní napětí a deformaci tělesa rovnice:

$$\mathbf{P} = \frac{\partial W(\mathbf{F})}{\partial \mathbf{F}} \quad (25)$$

kde W je hustota deformační energie vztahovaná k jednotce objemu. V mechanických charakteristikách je W plocha pod tahovou křivkou nebo experimentálními body. Cauchyho napětí lze pak vypočítat vztahem:

$$\boldsymbol{\sigma} = J^{-1} \frac{\partial W(\mathbf{F})}{\partial \mathbf{F}} \mathbf{F}^T \quad (26)$$

Při aplikaci hyperelasticity na nestlačitelný materiál se pak rovnice (25), (26) dále upravují. Pro takový materiál platí $J^{-1} = 1$. Vzhledem k tomu, že hydrostatická napjatost, která se obecně podílí na změně objemu materiálu, nekoná žádnou práci, není ji možné z W získat. W tedy pro nestlačitelný materiál nenese o hydrostatické složce napjatosti žádnou informaci. Proto je do předpisu hustoty deformační energie hydrostatická napjatost uměle včleněna pomocí Lagrangeova multiplikátoru. Rovnice hustoty deformační energie pak nabývá tvaru:

$$W = W(\mathbf{F}) - \Pi(J - 1) \quad (27)$$

Kde J je determinant deformačního gradientu a Π Lagrangeův multiplikátor. Hodnotu Π je možné zjistit až z okrajových podmínek dané úlohy. Aplikací popsaných úprav do rovnic (25) a (26) je pak možné vyjádřit napětí v nestlačitelném hyperelastickém materiálu jako:

$$\mathbf{P} = \frac{\partial W(\mathbf{F})}{\partial \mathbf{F}} - \Pi \mathbf{F}^{-T} \quad (28)$$

$$\boldsymbol{\sigma} = \frac{\partial W(\mathbf{F})}{\partial \mathbf{F}} \mathbf{F}^T - \Pi \mathbf{I} \quad (29)$$

kde \mathbf{I} je jednotková diagonální matice [107].

$W(\mathbf{F})$ je skalár a nemůže tak být závislý na volbě souřadného systému. Samotné \mathbf{F} ovšem nezávislé na rotaci není. Často tak bývá formulována hustota deformační energie jako $W = W(\mathbf{C})$, kde \mathbf{C} je Cauchyho-Greenův deformační tensor definovaný jako $\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F}$, který je nezávislý na rotaci souřadnicového systému [100, 106].

V modelech popisujících izotropní materiál bývá hustota deformační energie předepsána jako závislost na invariantech tensoru \mathbf{C} . Běžně jsou používány 1., 2. a 3. invariant:

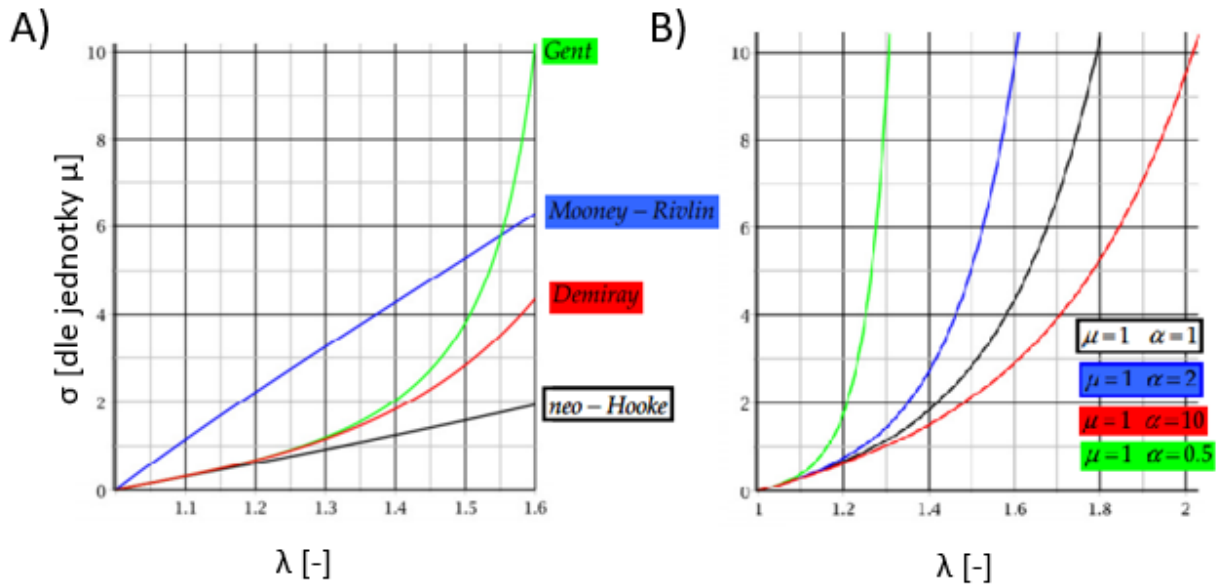
$$\begin{aligned} I_1 &= \text{tr}(\mathbf{C}) \\ I_2 &= \frac{1}{2} [\text{tr}(\mathbf{C})^2 - \text{tr}(\mathbf{C}^2)] \\ I_3 &= \det(\mathbf{C}) \end{aligned} \quad (30)$$

Modelů hyperelastického materiálu je velké množství. Původně byly navrženy pro popis polymerů. Ty ovšem nemusí být jako tkáň anizotropní. Modely navrženy speciálně pro materiálový popis cévních stěn vychází z izotropních modelů [100]. Přehled nejpoužívanějších z nich nabízí Tabulka 2.

Obecně je dle hyperelastických modelů deformační energie závislá na míře deformace a materiálových parametrech. Neznámé parametry modelů se určí na základě experimentu tak, aby napětí dané vztahem (28) či (29) odpovídalo napětím naměřeným. Základním modelem je Neo-Hookeovský, závislý na jediném parametru μ , který je možné interpretovat jako smykový

modul pružnosti lineárního materiálu. Modely Rivlinova typu mají obecně složitější tvary závislé na více parametrech a zahrnují další invarianty tenzoru C [108]. Gentův model má logaritmický tvar a využívá parametru maximální průtažnosti J_m .

Pro modelování v biomechanice je zásadní Fungův model. Ten byl jako první navržen pro popis mechanické odezvy měkkých tkání a bude popsán dále společně s anizotropním modely. Vychází z pozorování, že tečný modul pružnosti měkkých tkání roste přibližně lineárně s napětím. Tato úvaha pak vede na předpis pomocí exponenciálního tvaru [109]. Na základě tohoto modelu bylo navrženo mnoho dalších exponenciálních modelů, které se souhrnně označují jako modely Fungovského typu. Jedním z nich je model Demirayův, který je jeho modifikací pro izotropní materiál. Závislost napětí-střeč různých modelů při různé volbě parametrů ukazuje Obrázek 21.



Obrázek 21 – Modely pro izotropní hyperelastický materiál při simulaci jednoosé tahové zkoušky
 A) Různé modely při volbě parametrů $\mu = c_1 = c_2 = J_m = \zeta = 1$, B) Demirayův model pro různou volbu parametrů. [100], upraveno

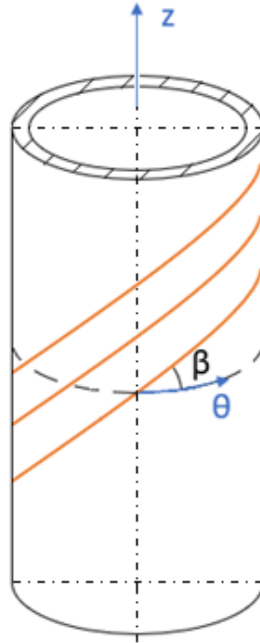
Název modelu	Předpis W(C)	Parametry [jednotka]
Isotropní materiály:		
Neo-Hookeovský	$W = \frac{\mu}{2} (I_1 - 3)$	μ [kPa]
Mooneyův-Rivlinův	$W = c_1(I_1 - 3) + (c_2 - I_2)$	c_1 [kPa], c_2 [kPa]
Ogdenův	$W = \sum_{i=1}^N \frac{\mu_i}{\zeta_i} (\lambda_1^{\zeta_i} + \lambda_2^{\zeta_i} + \lambda_3^{\zeta_i})$	μ_i [kPa], ζ_i [-]
Gentův	$W = -\frac{\mu J_m}{2} \ln\left(1 - \frac{I_1 - 3}{J_m}\right)$	μ [kPa], J_m [-]
Demirayův	$W = \frac{\mu}{2\zeta} (e^{\zeta(I_1-3)} - 1)$	μ [kPa], ζ [-]
Anizotropní materiály:		
Fungův*	$W = \frac{c}{2} (e^Q - 1)$	c [Pa], $c_{1,2,3,4,5,6}$ [-]
HGO	$W = \frac{\mu}{2}(I_1 - 3) + \sum_{i=1}^2 \left(\frac{k_1}{2k_2} e^{k_2(I_4^i - 1)^2} - 1 \right)$	μ [Pa], k_1 [Pa], k_2 [-], $\beta_{1,2}$ [°]
GOH	$W = \frac{\mu}{2}(I_1 - 3) + \sum_{i=1}^2 \left(\frac{k_1}{2k_2} e^{k_2[\kappa I_1 + (1-3\kappa)I_4^i - 1]^2} - 1 \right)$	μ [Pa], k_1 [Pa], k_2 [-], $\beta_{1,2}$ [°], κ [-]
Baekův	$W = \frac{\mu}{2}(I_1 - 3) + \sum_{i=1}^N \left(\frac{k_1^i}{4k_2^i} e^{c_2^i(I_4^i - 1)^2} - 1 \right) + K_{act} \left[\lambda_{\theta\theta} + \frac{1}{3} \frac{(\lambda_M - \lambda_{\theta\theta})^3}{(\lambda_M - \lambda_0)^2} \right]$	c_1 [kPa], c_2^i [kPa], c_3^i [-], K_{act} [kPa], β_i [°]

* $Q = c_1 E_{rr}^2 + c_2 E_{\theta\theta}^2 + c_3 E_{zz}^2 + c_4 E_{rr} E_{\theta\theta} + c_5 E_{\theta\theta} E_{zz} + c_6 E_{zz} E_{rr}$

Tabulka 2 – Modely pro hyperelastický materiál (bez Lagrangeova multiplikátoru)

Jak ukazuje Obrázek 21, je zřejmé, že využitím některých z izotropních modelů by bylo možné se přiblížit mechanické charakteristice cévy v jedné ose. Zásadním nedostatkem těchto vztahů pro modelování mechanické odezvy cév je ale absence členu, který by zohledňoval anizotropní chování způsobené fibrilární strukturou cévní stěny. Vlákná svojí orientací určují tzv. preferovaný směr, ve kterém se mechanické vlastnosti liší od směrů ostatních.

Při uvažování transverzálně isotropního materiálu, který obsahuje jeden preferovaný směr, je možné uvažovat natočení preferovaného směru vůči jedné ze souřadnicových os o úhel β . V případě cév bývá zvykem vztahovat úhel natočení vůči obvodovému směru, jak ukazuje Obrázek 22.



Obrázek 22 – Schematické znázornění šroubovic kolagenních svazků určujících preferovaný směr v cévní stěně. Preferovaný směr je natočen o úhel β od obvodového směru θ

Informace o úhlu natočení je v hyperelastických modelech obsažena skrze vektor M , který je zobrazením preferovaného směru do jednotlivých os. U cév bývá zjednodušeně uvažováno, že šroubovice vláken nemění ve svém průběhu průměr. M pak nabývá tvaru:

$$M = \begin{pmatrix} \cos \beta \\ \sin \beta \\ 0 \end{pmatrix} \quad (31)$$

Z něj je vytvořen tenzor orientace \mathbf{M} definovaný jako:

$$\mathbf{M} = \begin{pmatrix} M_1M_1 & M_1M_2 & M_1M_3 \\ M_2M_1 & M_2M_2 & M_2M_3 \\ M_3M_1 & M_3M_2 & M_3M_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cos^2\beta & \cos\beta\sin\beta & 0 \\ \cos\beta\sin\beta & \sin^2\beta & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (32)$$

Při deformaci trubice se mění také preferovaný směr vláken. Anizotropní materiálové modely proto využívají ve svém předpisu invariant tenzoru \mathbf{M} vynásobený mírou deformace \mathbf{C} . Tento nový invariant je:

$$I_4 = \text{tr}(\mathbf{CM}) \quad (33)$$

Řada konstitutivních vztahů předpokládá existenci více preferovaných směrů, které jsou dány různě orientovanými skupinami vláken [110]. Při uvažování N těchto skupin a směrů je pak možné vyjádřit N matic \mathbf{M} a ke každé vytvořit invariant dle rovnice (33). Tyto invarianty bývají značeny různě, v této práci bude k jejich rozlišení využít horní index. Pro i -tý preferovaný směr charakterizovaný i -tou maticí \mathbf{M} tedy platí:

$$I_4^i = \text{tr}(\mathbf{CM}^i) \quad (34)$$

Začleněním těchto přídavných invariantů do předpisu hustoty deformační energie je pak v něm možné obsáhnout anizotropní vlastnosti materiálu. Modely pro hyperelastický materiál určené pro popis cévních stěn je proto často využívají. Přehled vybraných anizotropních modelů uvádí Tabulka 2.

Již zmíněný Fungův model namísto 4. invariantu využívá pro popis anizotropie většího množství materiálových parametrů $c_{1,2,3,4,5,6}$ a je vhodný pro modelování biologických tkání obecně [109]. HGO model (zkratka autorů – Holzapfel, Gasser, Ogden) je hojně využívaný model určený konkrétně pro popis arterií [51]. Úspěšně je jím však možné modelovat také chování vén [95, 111]. Ve svém předpisu využívá izotropní části Neo-hookeovského typu, který určuje počáteční mechanickou odezvu. Tuto část je tedy možné interpretovat jako příspěvek elastinových částí cévy. Kolagenní komponenta je pak popsána exponenciálním vztahem, který zvyšuje tuhost při vyšších deformacích, podobně jako Demirayův model, viz Obrázek 21. Autoři přitom uvažují existenci šroubovic kolagenních svazků, z nichž každá má stejné stoupání, ale obrácenou točivost. Pro dva neznámé parametry charakterizující jejich stoupání tak platí $\beta_2 = -\beta_1$. Stejní autoři později navrhli další model [112]. Tento model, zkratkou označovaný GOH, zohledňuje nejednoznačnost orientace jednotlivých kolagenních snopců. Přestože totiž existuje preferovaný směr, ne všechna vlákna jsou nutně natočena tímto jedním směrem. Pro integraci tohoto faktu do materiálového modelu je využit další parametr $0 \leq \kappa \leq 1/3$. V případě, že $\kappa = 0$, jsou zdánlivě všechny snopce orientovány v preferovaném směru. Naopak, pokud $\kappa = 1/3$, je anizotropní invariant z materiálového předpisu zcela eliminován a model popisuje chování, kdy by vlákna byla orientována rovnoměrně do všech směrů. Model by tak přešel v izotropní.

První dva členy Baekova modelu popisují elastinovou a kolagenní součást tepenné stěny podobně jako v případě modelů HGO a GOH. Autor uvažuje obecně N preferovaných směrů kolagenních snopců [113]. Pro popis tepen bývají v tomto případě běžně uvažovány 4 směry, pro které platí $\beta_1 = -\beta_2$, $\beta_3 = 0^\circ$, $\beta_4 = 90^\circ$. Poslední člen modelu popisuje příspěvek svalové aktivace k mechanické odezvě. λ_M je přitom streč, při němž dosahuje sval maximální kontrakční síly a λ_0 je streč, při němž sval ztrácí schopnost sílu aktivně vyvíjet. Při popisu pasivních mechanických vlastností je ovšem aktivace nulová, tedy $K_{act} = 0$ a celý tento poslední člen je z předpisu vyloučen. Baekův model byl s úspěchem použit např. pro modelování pasivní mechanické odezvy karotid nebo stehenních tepen [63, 91, 113].

Výpočet napětí v silnostěnné nádobě

K popisu cévy je tedy možné využít celou řadu hyperelastických modelů. Využitím materiálového modelu je také jediným způsobem pro výpočet napětí v cévě jako silnostěnné válcové trubici. Není totiž možné použít vztahy klasické pružnosti, které pro výpočet napětí v nádobě uvažují platnost Hookeova zákona. Namísto toho je třeba určit materiálové parametry, aby model odpovídal mechanické odezvě. Poté je možné Cauchyho napětí vypočítat dle vztahu (29). Deformace jsou z výstupních údajů přepočítány pomocí vztahů uvedených v kapitole 5.4, části věnující se inflačně-extensním testům.

Hustota deformační energie je obecně závislá na deformaci ve všech směrech. Při uvažování nestlačitelnosti je ovšem možné tento vztah převést na závislost pro dva měřené streče. Tedy $W(\lambda_{rr}, \lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zz}) = W^*(\lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zz})$. Na základě rovnic (25), (26) je možné vyjádřit přírůstek W jako:

$$dW = \lambda_{\theta\theta}\lambda_{zz}\sigma_{rr}d\lambda_{rr} + \lambda_{zz}\lambda_{rr}\sigma_{\theta\theta}d\lambda_{\theta\theta} + \lambda_{rr}\lambda_{\theta\theta}\sigma_{zz}d\lambda_{zz} = 0 \quad (35)$$

Zároveň je možné vyjádřit absolutní diferenciál rovnice nestlačitelnosti (2) a potom ho upravit jako:

$$\begin{aligned} \lambda_{\theta\theta}\lambda_{zz}d\lambda_{rr} + \lambda_{zz}\lambda_{rr}d\lambda_{\theta\theta} + \lambda_{rr}\lambda_{\theta\theta}d\lambda_{zz} &= 0 \Rightarrow \\ \Rightarrow \lambda_{\theta\theta}\lambda_{zz}d\lambda_{rr} &= -\lambda_{zz}\lambda_{rr}d\lambda_{\theta\theta} - \lambda_{rr}\lambda_{\theta\theta}d\lambda_{zz} \end{aligned} \quad (36)$$

Dosazením rovnice (36) do (35) pak lze vyjádřit dW jako:

$$dW = \lambda_{rr}\lambda_{zz}(\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr})d\lambda_{\theta\theta} + \lambda_{rr}\lambda_{\theta\theta}(\sigma_{zz} - \sigma_{rr})d\lambda_{zz} = 0 \quad (37)$$

Pro deformační energii $W^*(\lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zz})$ platí:

$$dW^* = \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{\theta\theta}} d\lambda_{\theta\theta} + \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{zz}} d\lambda_{zz} \quad (38)$$

Protože musí platit rovnost $dW(\lambda_{rr}, \lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zz}) = dW^*(\lambda_{\theta\theta}, \lambda_{zz})$, z předchozích rovnic vyplývá:

$$\begin{aligned} \lambda_{rr}\lambda_{zz}(\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr}) &= \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{\theta\theta}} \\ \lambda_{rr}\lambda_{\theta\theta}(\sigma_{zz} - \sigma_{rr}) &= \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{zz}} \end{aligned} \quad (39)$$

Opětovným využitím pravidla nestlačitelnosti je možné vyjádřit vztah mezi napětím, deformací a hustotou deformační energie jako:

$$\begin{aligned} \sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr} &= \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{\theta\theta}} \\ \sigma_{zz} - \sigma_{rr} &= \lambda_{zz} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{zz}} \end{aligned} \quad (40)$$

Výchozími vztahy pro vyjádření napětí jsou rovnice rovnováhy. Při zanedbání tíhové síly a sil setrvačných je možné tyto rovnice vyjádřit obecně jako $\text{div}(\boldsymbol{\sigma}) = 0$. To je možné rozepsat jako:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \sigma_{rr}}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial \sigma_{r\theta}}{\partial \theta} + \frac{\partial \sigma_{rz}}{\partial z} + \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{r} &= 0 \\ \frac{\partial \sigma_{r\theta}}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial \sigma_{\theta\theta}}{\partial \theta} + \frac{\partial \sigma_{\theta z}}{\partial z} + 2 \frac{\sigma_{rz}}{r} &= 0 \\ \frac{\partial \sigma_{rz}}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial \sigma_{\theta z}}{\partial \theta} + \frac{\partial \sigma_{zz}}{\partial z} + \frac{\sigma_{rz}}{r} &= 0\end{aligned}\quad (41)$$

Při výpočtu je předpokládáno, že napětí je v měřeném úseku cévy nezávislé na obvodové souřadnici θ a je konstantní v rámci osového směru z . Smykové složky jsou dále zanedbány. Jedinou rovnicí přinášející informace pro výpočet je pak první z rovnic rovnováhy, která může být přepsána jako:

$$\frac{d\sigma_{rr}}{dr} + \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{r} = 0 \quad (42)$$

Na vnitřek cévy působí známý přetlak uvnitř trubice p měřený oproti vnějšímu atmosferickému tlaku. Pro napětí v radiálním směru tedy platí okrajová podmínka, kterou lze vyjádřit jako:

$$\int_{\sigma_{rr}(r_i)}^{\sigma_{rr}(r_o)} d\sigma_{rr} = \sigma_{rr}(r_o) - \sigma_{rr}(r_i) = 0 + p = p \quad (43)$$

Úpravou rovnice (42) a následným dosazením z (43) je pak možné vyjádřit rovnost:

$$\int_{r_i}^{r_o} \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{r} dr = \int_{\sigma_{rr}(r_i)}^{\sigma_{rr}(r_o)} d\sigma_{rr} = p \quad (44)$$

To je výsledná rovnice rovnováhy pro radiální směr. Jejím dosazením do vztahu (40) je možné vyjádřit vztah mezi vnitřním tlakem a deformacemi a hustotou deformační energie, jejíž parametry jsou hledány:

$$p = \int_{r_i}^{r_o} \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{\theta\theta}} \frac{dr}{r} \quad (45)$$

Silová rovnováha v axiálním směru může být vyjádřena jako:

$$N = -\pi r_i^2 p + 2\pi \int_{r_i}^{r_o} \sigma_{zz} r dr \quad (46)$$

Kde N je přídavná axiální síla simulující předpětí, první člen pravé strany rovnice vyjadřuje sílu hydrostatického tlaku působící na dno nádoby a druhý člen axiální napětí ve stěně, které vzniká působením předchozích dvou sil. Dosazením za σ_{zz} z rovnice (40) lze vztah upravit na:

$$N = -\pi r_i^2 p + 2\pi \int_{r_i}^{r_o} \sigma_{rr} r dr + \int_{r_i}^{r_o} \lambda_{zz} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{zz}} r dr \quad (47)$$

Za p je možné dosadit z okrajové podmínky v radiálním směru a dále vztah upravit na tvar:

$$N = -\pi \int_{r_i}^{r_o} \frac{\sigma_{rr}}{dr} r^2 dr + 2\pi \int_{r_i}^{r_o} \lambda_{zz} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{zz}} r dr \quad (48)$$

Dosazením za σ_{rr} z rovnice (42) a aplikací vztahu pro deformační energii (40) pak rovnice přechází do finálního tvaru:

$$N = \pi \int_{r_i}^{r_o} \left(2\lambda_{zz} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{zz}} - \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{\theta\theta}} \right) r dr \quad (49)$$

Vztahy (45) a (49) představují relaci mezi známými hodnotami působících sil a deformací a hustotou deformační energie, jejíž parametry mají být určeny [51, 95, 100, 107, 111, 114]. To je provedeno fitováním modelu tak, aby se hodnoty na pravých stranách rovnic co nejvíce blížily skutečným hodnotám p a N . K tomu je možné využít například metody nejmenších čtverců. Po určení konkrétních hodnot materiálového modelu je pak z něho možné vyjádřit napětí dle vztahu (29).

6 Experimentální část

V experimentálním výzkumu je vždy preferovanou variantou provádět testování na vzorcích, které jsou přímo výběrem ze zkoumané skupiny objektů. To může být v biomechanice leckdy složité kvůli obtížnosti získávání vhodných vzorků nebo z etických důvodů. Proto je například velká část výzkumů zaměřených na mechanické testování vaskulární tkáně určených pro využití v lékařství prováděna na vzorcích získaných ze zvířat. V této práci jsou zkoumány mechanické vlastnosti na humánních žilách, které byly vybrány pro případnou implantaci. Testy jsou tedy prováděny na výběru přímo reprezentující zkoumané skupiny. Aby bylo možné co nejlépe napodobit mechanické namáhání, kterému by byly tyto cévní náhrady vystaveny v lidském těle, byly testovány inflačně-extenzními testy.

6.1 Vzorky

V této práci byly zkoumány mechanické vlastnosti na 3 skupinách vzorků. Mechanické testy byly provedeny na 6 vzorcích z každé skupiny, celkově tedy testy prošlo 18 vzorků. První skupinu tvořily úseky VSM, které byly odebrány v rámci multiorgánového odběru a částečně použity jako koronární bypassy. Nevyužité úseky žil pak byly poskytnuty k mechanickým testům. Druhá a třetí skupina byly úseky VSM kryoprezervovaných pro použití jako cévní náhrady. Postup kryoprezervace těchto vzorků odpovídal protokolu, který byl popsán v kapitole 4.3, až na rychlost rozmrazení. Vzorky skupiny 2 byly rozmrazeny dle standardního protokolu, tedy za dobu přibližně 2 hodin (hodina při teplotě 5 °C a hodina při pokojové teplotě). Vzorky skupiny 3 byly rozmrazeny za dobu přibližně 5 minut ve vodní lázni teploty 37 °C. Jednotlivé skupiny vzorků tedy představují nativní VSM (skupina 1), VSM kryoprezervované dle standardního protokolu (skupina 2) a VSM kryoprezervované a rychle rozmrazené (skupina 3). Dále budou vzorky jednotlivých skupin značeny jako:

- skupina 1: Nativ
- skupina 2: KryoP
- skupina 3: KryoR

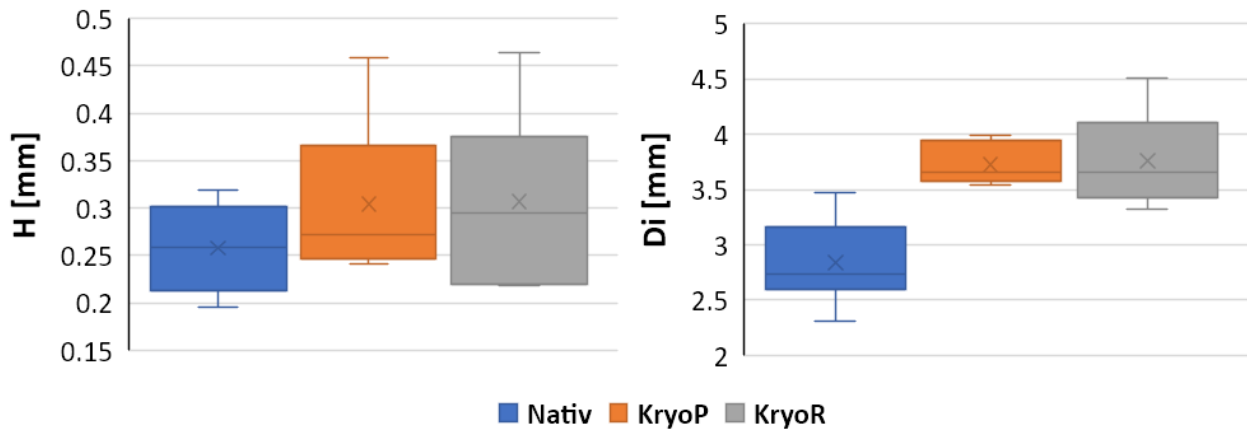
Před experimentem byly z konců vzorků vytyčeny tenké kroužky, viz Obrázek 23. Ty byly poté rozstřiženy a rozvinuty do roviny a bylo na nich provedeno měření geometrie. Pomocí mikrometru byla určena šířka stěny H jako průměr pěti měření na každém z kroužků. Posuvným měřidlem byl změřen střední obvod O a z něho určen vnitřní průměr vzorku jako $D_i = O/\pi - H$. Výsledky měření jednotlivých vzorků viz Tabulka 3 a Obrázek 24. Naměřené hodnoty geometrie vzorků byly dále podrobeny analýze. Byly provedeny oboustranné dvouvýběrové t-testy s nerovností rozptylů pro porovnání hodnot tloušťek stěn a vnitřního průměru mezi jednotlivými skupinami. Výsledky testů ukazují, že na hladině spolehlivosti 95 % měly vzorky nativních žil statisticky významně menší lumen než zbylé dvě skupiny (hodnota pravděpodobnosti p je menší než 0.05), viz Tabulka 4.



Obrázek 23 – Vzorek nativní VSM s kroužky rozvinutými do roviny pro provedení rozměrové analýzy vzorku

Vzorek	H ± SD [mm]	D _i ± SD [mm]
Nativ_1	0.196	2.74
Nativ_2	0.219	3.47
Nativ_3	0.256	2.70
Nativ_4	0.295	2.31
Nativ_5	0.319	3.07
Nativ_6	0.262	2.74
Průměr Nativ	0.258 ± 0.046	2.84 ± 0.39
KryoP_1	0.335	3.62
KryoP_2	0.459	4
KryoP_3	0.285	3.69
KryoP_4	0.248	3.93
KryoP_5	0.258	3.59
KryoP_6	0.241	3.54
Průměr KryoP	0.304 ± 0.083	3.73 ± 0.20
KryoR_1	0.218	3.52
KryoR_2	0.221	3.32
KryoR_3	0.288	3.97
KryoR_4	0.464	4.51
KryoR_5	0.346	3.46
KryoR_6	0.303	3.79
Průměr KryoR	0.307 ± 0.092	3.76 ± 0.44

Tabulka 3 – Hodnoty naměřené při geometrické charakterizaci vzorků



Obrázek 24 – Grafy porovnání rozměrů jednotlivých skupin vzorků.
Vlevo: Tloušťka stěny H , Vpravo: Vnitřní poloměr D_i

Hodnoty pravděpodobnosti p	Nativ-KryoP	Nativ-KryoR	KryoP-KryoR
H [mm]	0.265	0.278	0.964
D_i [mm]	0.001	0.003	0.878

Tabulka 4 – Hodnoty pravděpodobnosti p získané provedením t -testu pro analýzu geometrických rozměrů vzorků

6.2 Mechanické testování

Pro zjištění mechanických vlastností vzorků byla zvolena metoda inflačně-extenzních testů. Vycházelo se přitom z předpokladů uvedených v kapitole 5.4. Žíly tedy byly považovány za dokonale válcovité trubice. Vzorky byly vertikálně umístěny mezi dva upínací trny, viz Obrázek 26. Horní upínací trn byl pevný, spodní trn umožňoval axiální deformace a krut kolem osy vzorku. Pro snímání axiální deformace byly voděodolným lakem vyznačeny na vzorcích markery. Během experimentů byla do vzorků pulsátorem pumpována voda. Rychlost zatěžování byla určována rychlostí pohybu pístu pulsátoru, který byl řízen počítačem. Přetlak vody byl snímán tlakovým modulem KTS s rozsahem do 200 kPa. Průběh tlaku v čase byl konvertován A/D převodníkem a ukládán do počítače. Vzorky byly snímány dvěma vysokofrekvenčními kamerami Basler acA2500 s rozlišením 5 MPx. Kamery byly umístěné v úhlu 90° kolem vzorku. Záznam tlaku a snímky kamer byly časově synchronizovány pomocí TTL signálu synchronizačního tlačítka. Vzorek byl při experimentu osvětlován svítilnami Helios Led 200.

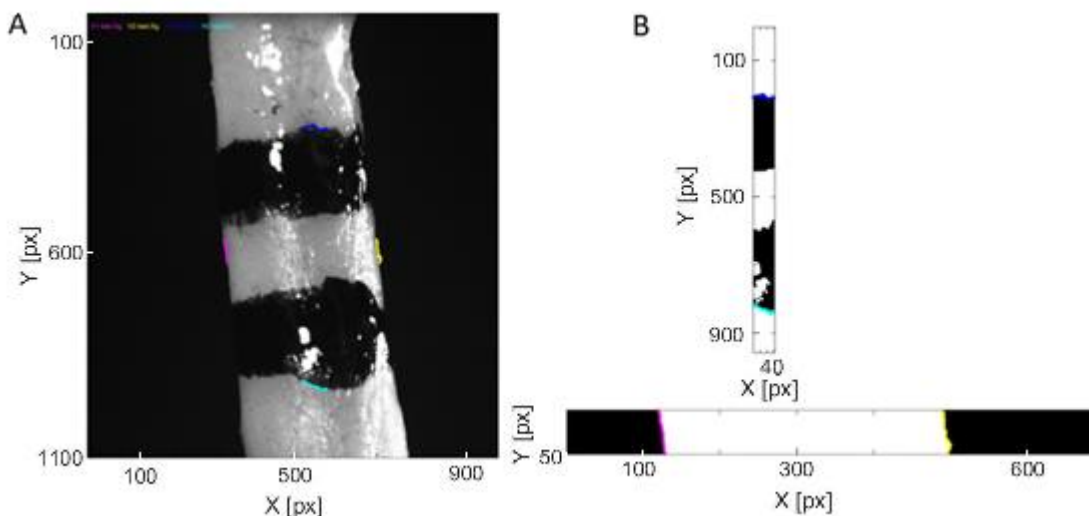
Výsledkem měření byly snímky vzorku v různých deformačních stavech. Rozlišení snímků bylo $0,01 \text{ mm/pixel}$. Snímky byly dále upraveny v rozhraní programu MATLAB. Nejprve byly fotografie naprahovány na binární mapu. Vzorky se v ní jevily jako bílé, okolí vzorku a markery jako černé, viz Obrázek 25. Poté byla na snímcích vyznačena oblast zájmu. V ní byla v každém vzorku měřena vzdálenost axiálních a radiálních hran, reprezentující vzdálenost markerů a vnější průměr vzorku. Ze všech bodů na hranách byla určena průměrná hodnota vzdáleností, přesnost měření tak byla vyšší než rozlišení snímků. Hodnoty byly průměrovány také v rámci obou kamer. Bylo tak učiněno, protože vzorky nebyly dokonale válcovité a v osové a obvodovém směru zcela homogenní. Průměrováním hodnot z kamer, které byly vůči sobě umístěny pod úhlem 90° okolo vzorku, je tak snížena nepřesnost měření, zejména pokud by vzorky významně nesplňovaly tyto

předpoklady. Konečným výstupem jednoho měření byly časově korelované hodnoty vnitřního tlaku, vnějšího průměru vzorku a axiální deformace získané jako poměr referenční a aktuální vzdálenosti markerů ($\lambda_{zz} = l/L$), viz Obrázek 27.

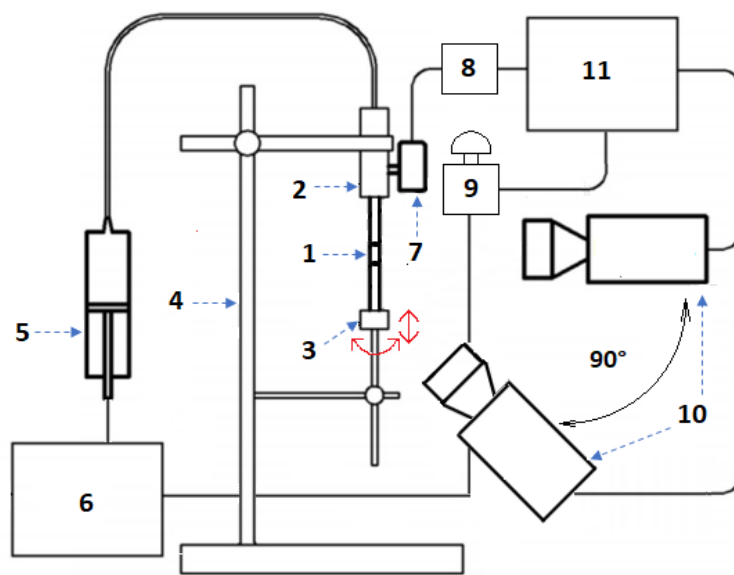
Jedním z cílů práce je zjistit vliv rychlosti zatěžování na mechanickou odezvu vzorků. Proto byl každý ze vzorků podroben 3 inflačně-extenzním testům s různými frekvencemi pulzace. Celkem tedy bylo provedeno 54 experimentálních měření. Nejprve byl experiment proveden s frekvencí $f = 0,04$ Hz, simulující statické zatížení. Následovaly testy o frekvencích pulzace $f = 0,5$ Hz a $f = 1$ Hz. Frekvence 1 Hz přitom přibližně odpovídá činnosti lidského srdce v klidové situaci. Dále budou jednotlivé rychlosti zatěžování označovány písmeny A, B, C. Mezi jednotlivými testy byl vzorek přibližně na 5 minut ponechán za nulového přetlaku (tlak vody byl roven atmosférickému tlaku). Předcyklování bylo provedeno před každý test znovu. Snímací frekvence kamer a tlakoměru byly voleny s ohledem na rychlost zatěžování tak, aby každému stavu deformace odpovídal vždy jeden údaj o tlaku pořízený ve stejný moment (f tlakoměru je beze zbytku dělitelná f kamer), viz Tabulka 5.

Značení	f pulzace [Hz]	f kamer [Hz]	f tlakoměru [Hz]
A	0.04	10	600
B	0.5	50	600
C	1	100	600

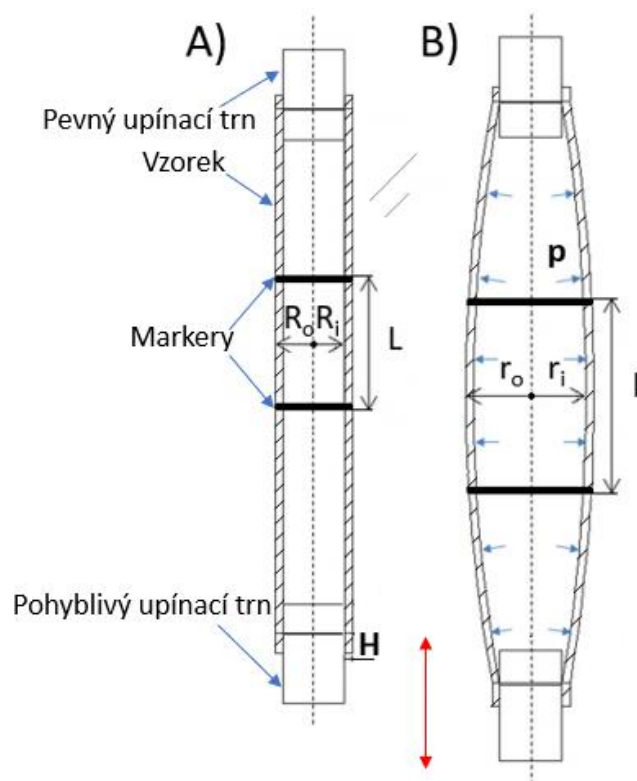
Tabulka 5 – Vzorkovací frekvence měřících přístrojů pro různé rychlosti zatěžování



Obrázek 25 – Ukázka zpracování dat z kamer. A) Snímek vzorku s vyznačenou oblastí zájmu pro detekci hran. B) Oblast zájmu převedena na binární mapu s vyznačenými hranami



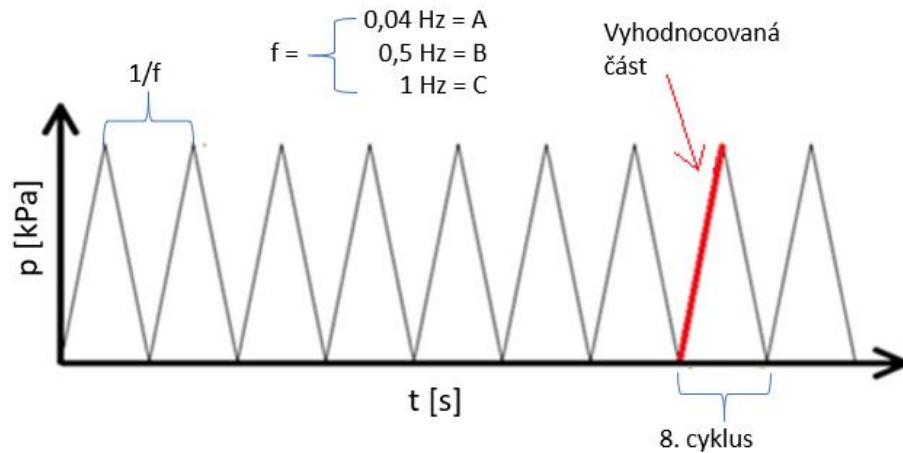
Obrázek 26 - Schéma měřicího systému pro inflačně-extenzní test, převzato z [64], upraveno:
 1 – Vzorek, 2 – Horní pevný upínací trn, 3 – Spodní pohyblivý upínací trn s vyznačením možnosti pohybu, 4 – Stojan, 5 – Pulsátor, 6 – Řídící počítač pulsátoru, 7 – Tlakový senzor, 8 – Analogově-digitální převodník, 9 – Synchronizační tlačítko, 10 – Kamerový systém sloužící jako videoextenzometr, 11 – Měřící počítač



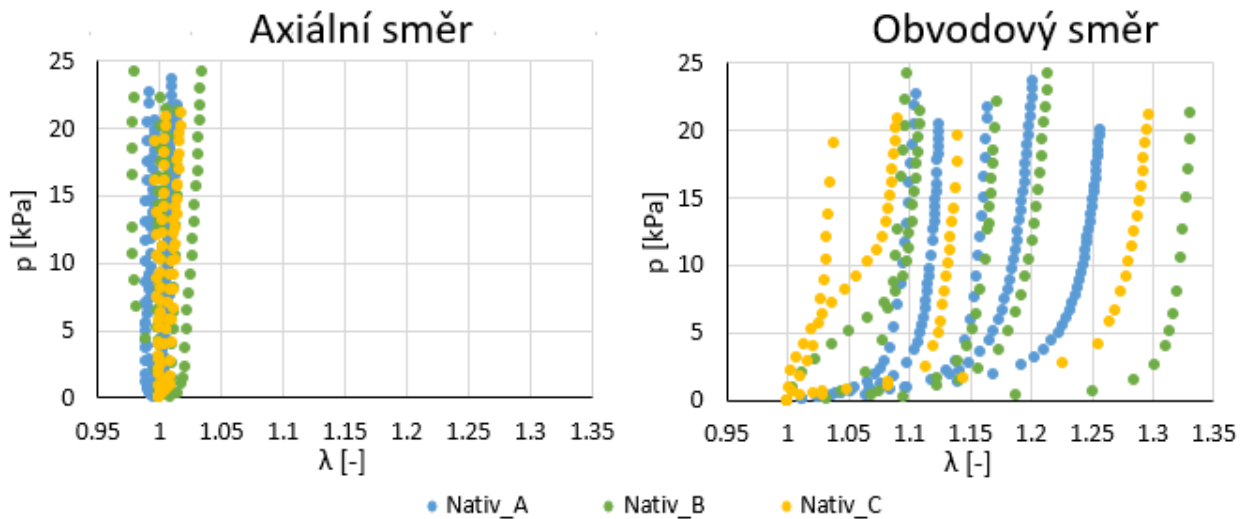
Obrázek 27 - Schematické znázornění inflačně-extenzního testu. Převzato z [83], upraveno
 A) vzorek v konfiguraci před zatížením B) vzorek ve zdeformované konfiguraci

Z důvodů diskutovaných v předchozích částech práce byly vzorky v rámci každého měření předcyklovány. Pro vyhodnocení byla na základě analýzy průběhu deformací určena zatěžovací část osmého cyklu, viz Obrázek 28, kdy byla deformační křivka dále neměnná a hystereze zanedbatelná.

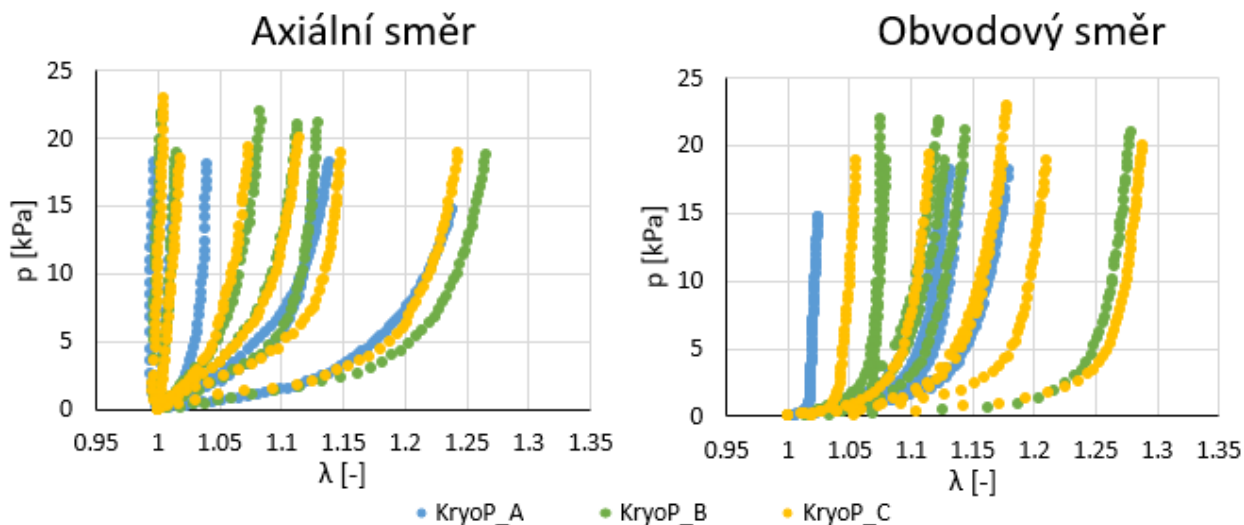
Výstupem experimentů byly závislosti tlak-streč pro jednotlivé vzorky a rychlosti zatěžování, viz Obrázek 29 až Obrázek 31. Pro určení strečů je za referenční uvažován stav před zatížením, tedy platí: $\lambda_{00} = r_0/R_0$



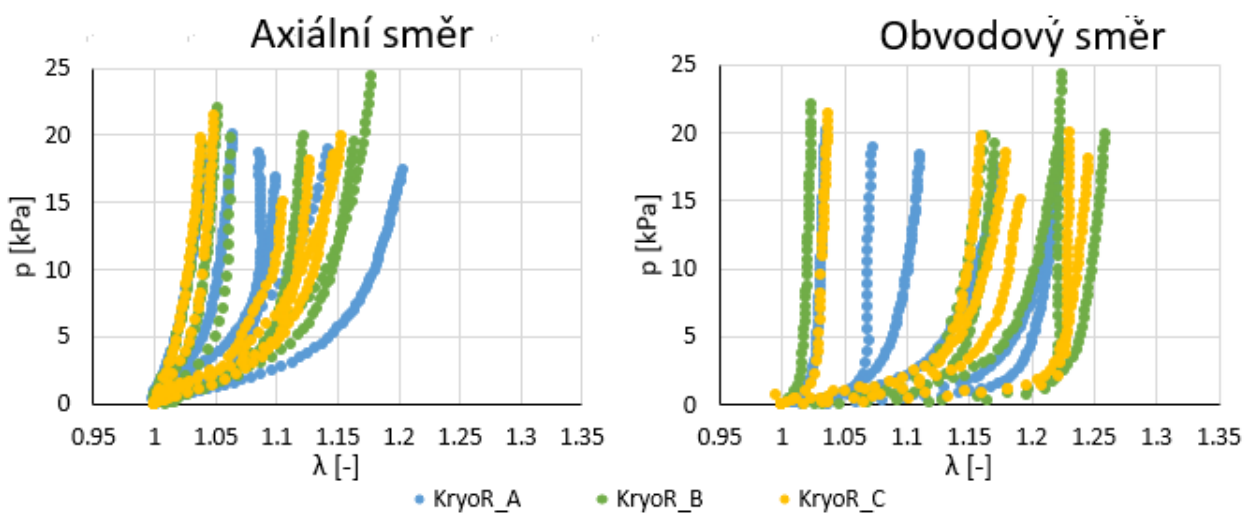
Obrázek 28 – Schéma průběhu tlaku v rámci jednoho měření



Obrázek 29 – Mechanické charakteristiky získané pomocí inflačně-extenzních testů vzorků *nativních* VSM při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modrá), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnějším poloměru



Obrázek 30 – Mechanické charakteristiky získané pomocí inflačně-extenzních testů vzorků **pomalou rozmrazených** kryoprezervovaných VSM při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modrá), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnějším poloměru



Obrázek 31 – Mechanické charakteristiky získané pomocí inflačně-extenzních testů vzorků **rychle rozmrazených kryoprezervovaných** VSM při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modrá), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnějším poloměru

Samotné provedení inflačně-extenzních testů nebylo součástí této diplomové práce. Příspěvek této práce je až v matematickém modelování mechanické odezvy pomocí testů získané a analýza výsledků. Výchozími údaji této práce jsou korelované hodnoty tlaku, vnějšího poloměru, axiálního streče a referenční šířky H vzorku z 51 provedených experimentů. (Vzorek Nativ_1 nebylo možné kvůli chybě při experimentu dále vyhodnocovat). Tyto údaje byly upraveny do formy hodnotových tabulek, viz Obrázek 32. Tabulky sloužily jako zdrojová data, na jejichž základě bylo provedeno matematické modelování mechanické odezvy.

Tlak p [kPa]	Vnější poloměr ro [mm]	Axial streč lambda [-]	Tloušťka stěny h [mm]
0	2.073395624	1	0.221
0.16491	2.130609761	1.000506	
0.43613	2.221020441	0.999028	
0.78216	2.29313264	1.000435	
1.25104	2.3446776	1.005466	
1.60538	2.372037949	1.012398	



Obrázek 32 – Ukázka části tabulky výchozích dat pro matematické modelování mechanické odezvy vzorků

7 Aplikace matematického modelu

Pro potřebu další práce s daty byly vzorky považovány za tlustostěnné rotačně symetrické nádoby. Pro porovnání vlastnosti jednotlivých skupin vzorků jsou VSM modelovány jako hyperelastické a nestlačitelné. Platí pro ně tedy předpoklady a vztahy z kapitol 5.4 (část o teorii tlustostěnných nádob) a 5.5. Popsáním vzorků pomocí konstitutivního modelu je možné sledovat, zda má kryoprezervace a rychlost zatěžování vliv na hodnoty jednotlivých parametrů modelu. Zprůměrováním materiálových parametrů jednotlivých skupin vzorků je pak možné vytvořit modelovou mechanickou odezvu konkrétní skupiny.

Při geometrické analýze vzorků nebyl proveden test úhlu rozevření α . Nebylo tak učiněno kvůli relativní nesnadnosti přesného měření – předpětí u žil je výrazně menší než u tepen a úhel je pak obtížnější přesně změřit kvůli velkému vlivu třecích sil podložky. Úhel rozevření byl proto začleněn jako jedna další neznámá materiálového modelu. Při prvních pokusech o identifikaci materiálových parametrů byl proto α optimalizován společně s ostatními parametry modelu. Při takto definované úloze ovšem jeho hodnota u mnohých měření stoupala na horní hranici pro tento parametr vytyčenou, případně jeho hodnota byla výrazně vyšší, než se dá u žily předpokládat. Jeho hodnota se navíc lišila pro různé rychlosti zatěžování stejné trubice. Identifikovaný parametr α by tedy každopádně neodpovídal reálnému úhlu rozevření daného vzorku. Z těchto důvodů byl α do modelu zadán napevno, na základě literatury. Jeho velikost byla zvolena jako 90° , měřeno ze středu myšlené rozevřené trubice, viz Obrázek 20. Tato hodnota je dle [99] průměrná pro VSM. Oproti možnosti, kdy byl úhel identifikován společně s ostatními parametry se významně snížila kvalita fitování.

Vzhledem k tomu, že je úhel rozevření u žil výrazně menší než u tepen a obtížněji měřitelný, může být pro další výzkum přínosné posoudit, k jak velké chybě by při identifikaci materiálových parametrů došlo, pokud by byl α považován za nulový. V takovém případě by se ztotožnil beznapětový stav se stavem před zatížením. Proto byla dodatečně provedena optimalizace parametrů při zadaném úhlu $\alpha = 0^\circ$, jejíž výsledky je poté možné porovnat s výsledky při uvažování průměrného úhlu rozevření $\alpha = 90^\circ$.

Pro popis cévy byl zvolen hyperelastický model HGO, viz Tabulka 2. Byl vybrán, protože jde o patrně nejčastěji používaný cévní model a žíly jím byly v minulosti úspěšně modelovány [95, 111]. Základními vztahy, které vážou zatížení a deformaci vzorků, jsou rovnice (45) a (49). Z provedených experimentů jsou známé hodnoty tlaku p_{exp} . Dle rovnice (45) by touto tlaku měl odpovídat deformační stav dle předpisu:

$$\int_{r_i}^{r_o} \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{\theta\theta}} \frac{dr}{r} = p_{\text{mod}} \quad (50)$$

představující modelový tlak p_{mod} . Obdobným způsobem lze upravit vztah (49) a vyjádřit modelovou sílu axiálního předpětí N_{mod} jako:

$$\pi \int_{r_i}^{r_o} \left(2\lambda_{zz} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{zz}} - \lambda_{\theta\theta} \frac{\partial W^*}{\partial \lambda_{\theta\theta}} \right) r dr = N_{\text{mod}} \quad (51)$$

Protože na vzorky nebylo při experimentu působeno dodatečnou axiální silou, platí $N_{exp} = 0$. Integrace ve výrazech (50), (51) byly počítány numericky pomocí lichoběžníkové metody, přičemž stěna vzorku byla virtuálně rozdělena na 20 úseků pro tvorbu pomyslných lichoběžníků.

Axiální streč λ_{zz} je považován za konstantní v radiálním a obvodovém směru a je možné ho získat jako poměr počáteční a aktuální vzdálenosti markerů. Obvodový streč $\lambda_{\theta\theta}$ je při uvažování beznapětové konfigurace (viz vztahy (19), (20)) roven:

$$\lambda_{\theta\theta} = \frac{2\pi}{2\pi - \alpha} \frac{r}{\rho} = k \frac{r}{\rho} \quad (52)$$

kde ρ a r jsou poloměry trubice v beznapětové konfiguraci a v konfiguraci po zatížení, přičemž je možné dosadit na základě (22):

$$\rho = \sqrt{k\lambda_{zz}(r^2 - r_i^2) + \rho_i^2} \quad (53)$$

kde ρ_i a r_i jsou vnitřní poloměry v beznapětové konfiguraci a v konfiguraci po zatížení. r_i lze na základě nestlačitelnosti materiálu vyjádřit jako:

$$r_i = \sqrt{r_o^2 - \frac{R_o^2 - R_i^2}{\lambda_{zz}}} \quad (54)$$

kde R_o a R_i jsou vnější a vnitřní poloměry v konfiguraci před zatížením a jsou známé z měření rozměrů vzorků. r_o je vnější poloměr po zatížení a je znám ze zpracování experimentálních dat. Vnější a vnitřní poloměr v beznapětové konfiguraci ρ_o , ρ_i lze vyjádřit při uvažování nestlačitelnosti a využitím faktu, že střední obvod vzorku v beznapětové konfiguraci a v konfiguraci před zatížením je stejný:

$$\rho_i = \frac{(4\pi - \alpha)R_i + R_o\alpha}{4\pi - \alpha}, \quad \rho_o = \frac{(4\pi - \alpha)R_o + R_i\alpha}{4\pi - \alpha} \quad (55)$$

Pro identifikaci materiálových parametrů μ , k_1 , k_2 a β je možné formulovat optimalizační úlohu, která by minimalizovala odchylky modelových a experimentálních silových účinků. Na základě literatury [115, 116] byla zvolena optimalizace formou minimalizace cílové funkce CF (horní index i je pouze značení pořadí, nikoliv mocninový):

$$CF = \sum_{i=1}^m \left(w_P \cdot (p_{exp}^i - p_{mod}^i)^2 + w_N \cdot N_{mod}^i \right) \quad (56)$$

Cílovou funkcí je tedy součet kvadratických odchylek mezi modelovými a změřenými silovými účinky v m naměřených hodnotách v rámci každého vyhodnocovaného experimentu. w_P a w_N jsou váhové koeficienty pro odchylky modelového tlaku, respektive axiální síly. Výsledkem optimalizace mají být hodnoty μ , k_1 , k_2 a β takové, aby byla cílová funkce co nejmenší. Částečně na základě literatury [116] byly zvoleny váhové koeficienty:

$$w_p = \frac{1}{\bar{p}_{\text{exp}}^2}, \quad w_N = \frac{1}{100000} \quad (57)$$

kde \bar{p}_{exp} je průměrná hodnota tlaku v rámci m změřených hodnot jednoho experimentu. Tlak je přitom dosazován v kPa, síly N proto vycházejí v mN.

Jako parametry popisující přesnost fitování modelu na naměřená data byly na základě [111, 116] zvoleny střední kvadratická odchylka tlaku $\text{RMSE}(p)$ a střední hodnota modelové síly předpětí v absolutní hodnotě $|\bar{N}_{\text{mod}}|$. Ty jsou definovány jako:

$$\text{RMSE}(p) = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (p_{\text{exp}}^i - p_{\text{mod}}^i)^2}{m-4}}}{\bar{p}_{\text{exp}}} \quad (58)$$

$$|\bar{N}_{\text{mod}}| = \frac{\sum_{i=1}^m |N_{\text{mod}}^i|}{m} \quad (59)$$

kde \bar{p}_{exp} je průměrná hodnota experimentálního tlaku v rámci m hodnot jednoho experimentu. Hodnota $m-4$ odpovídá počtu stupňů volnosti při počtu 4 hledaných parametrů.

Pro minimalizaci CF byl naprogramován skript v prostředí programu Maple. K řešení byla použita funkce `NLPSolve`, využívající k optimalizaci kvadratického sekvenčního programování. Pro identifikaci byly zvoleny počáteční hodnoty a meze parametrů, viz Tabulka 6. Při těchto hodnotách byla optimalizace na základě několika pokusů vyhodnocena jako nejúspěšnější.

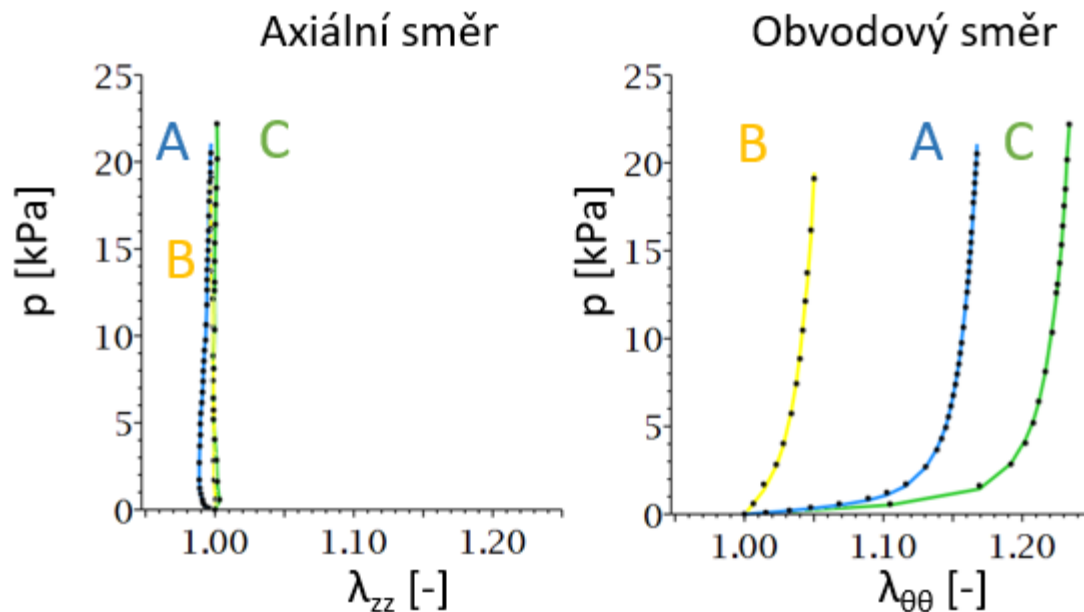
Parametr	μ [kPa]	β [°]	k_1 [kPa]	k_2 [-]
Počáteční hodnota	20	52	50	12
Meze	0.1-500	0.1-69	0.1-5000	0.1-500

Tabulka 6 – Počáteční hodnoty a meze parametrů použité při optimalizační úloze

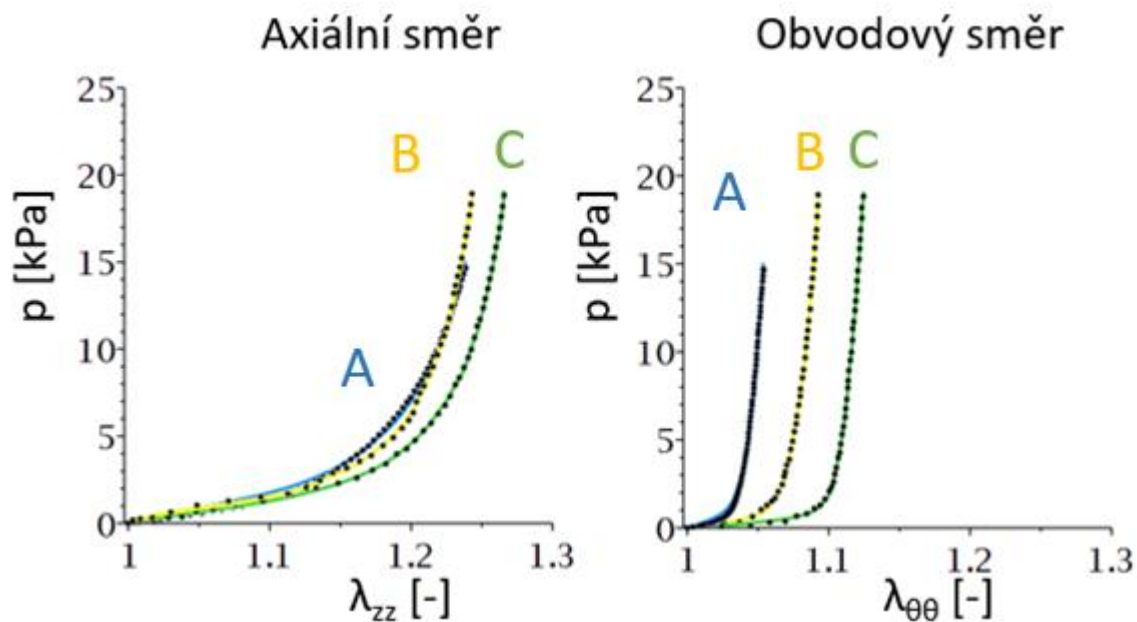
8 Výsledky

S každým z 18 vzorků byly provedeny mechanické testy dle popisu v kapitole 6.2. Při experimentu se vzorkem Nativ_1 došlo během experimentu k chybě, a proto nebyl dále zpracováván. Na každé z měření byl pak fitován HGO hyperelastický model (viz Tabulka 2) dle kapitoly 7. Parametry modelů pro každé z měření uvádí Dodatek 1. Úspěšnost fitování modelu na mechanické odezvy vybraných vzorků ukazují

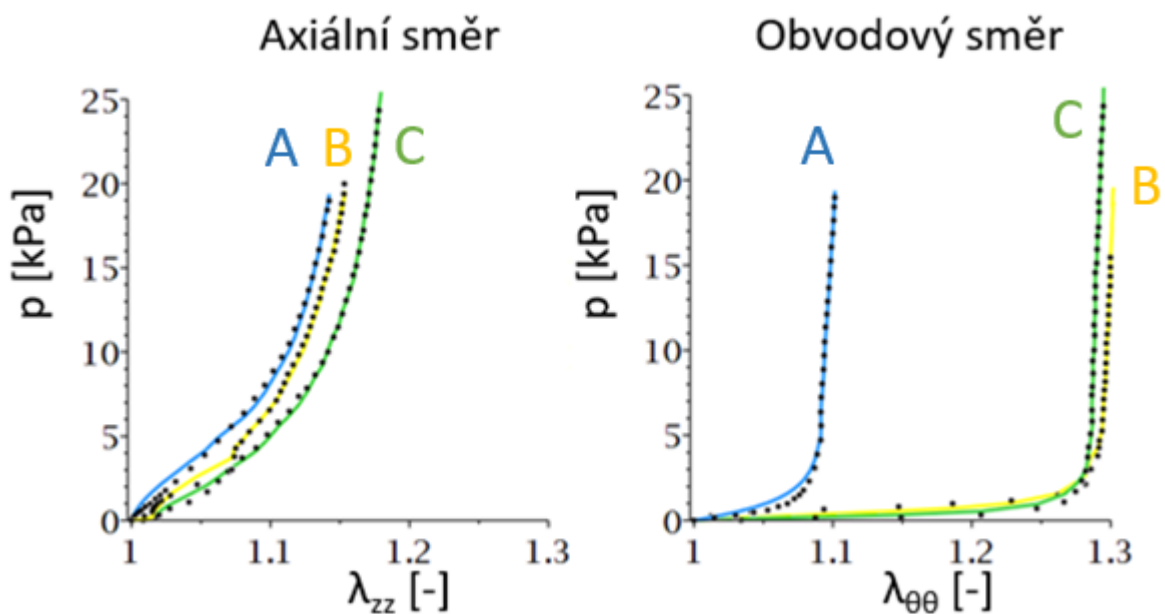
Obrázek 33 až Obrázek 35. Aby bylo možné vytvořit modelovou mechanickou odezvu reprezentující každou skupinu vzorků při každé rychlosti zatěžování, byly hodnoty parametrů z jednotlivých měření průměrovány. Z tvorby průměrných hodnot byly vyňaty údaje vzorků Nativ_4 a KryoR_5. Jejich parametrické hodnoty se jeví výrazně odlišné od parametrů ostatních vzorků. V případě vzorku Nativ_4 byla při vyhodnocování viditelná neobvyklá počáteční odezva při rychlostech B a C. Na odezvě vzorku KryoR_5 nebyla spatřena zřejmá odlišnost od ostatních vzorků. Minimum optimalizační funkce ovšem bylo identifikováno ve významně odlišném bodě než u ostatních vzorků skupiny KryoR. Proto by nemělo smysl tato data zahrnout do průměrných hodnot. Modelové hodnoty parametrů jednotlivých skupin byly tedy vytvořeny na základě: 4 vzorků pro skupinu Nativ, 6 vzorků pro skupinu KryoP a 5 vzorků pro skupiny KryoR. Výsledné průměrné parametry a jejich směrodatné odchylky uvádí Tabulka 7 a graficky znázorňují Obrázek 36 až Obrázek 39.



Obrázek 33 – Modelová mechanická odezva pro vzorek Nativ_6 při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnitřním poloměru. Experimentálně změřené hodnoty jsou znázorněny černými body



Obrázek 34 – Modelová mechanická odezva pro vzorek **KryoP_1** při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnitřním poloměru. Experimentálně změřené hodnoty jsou znázorněny černými body

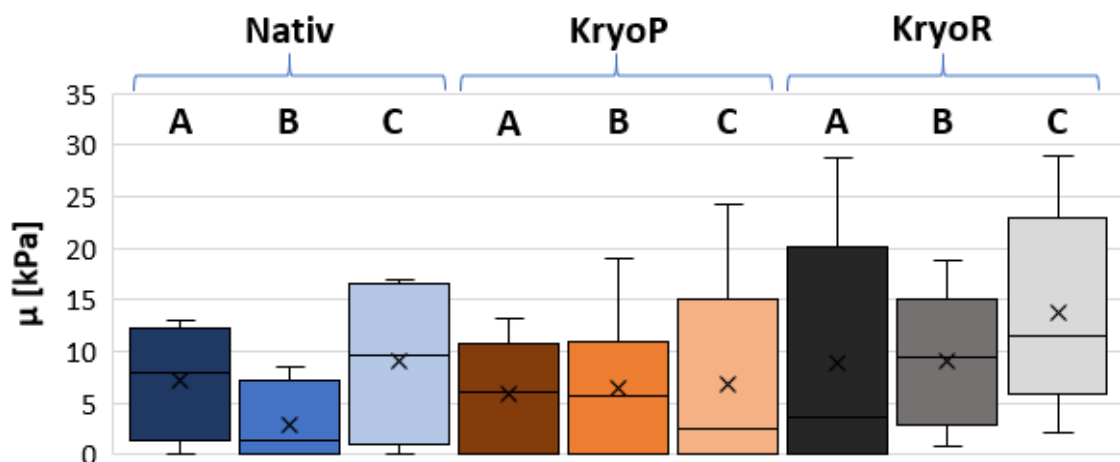


Obrázek 35 – Modelová mechanická odezva pro vzorek **KryoR_1** při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnitřním poloměru. Experimentálně změřené hodnoty jsou znázorněny černými body

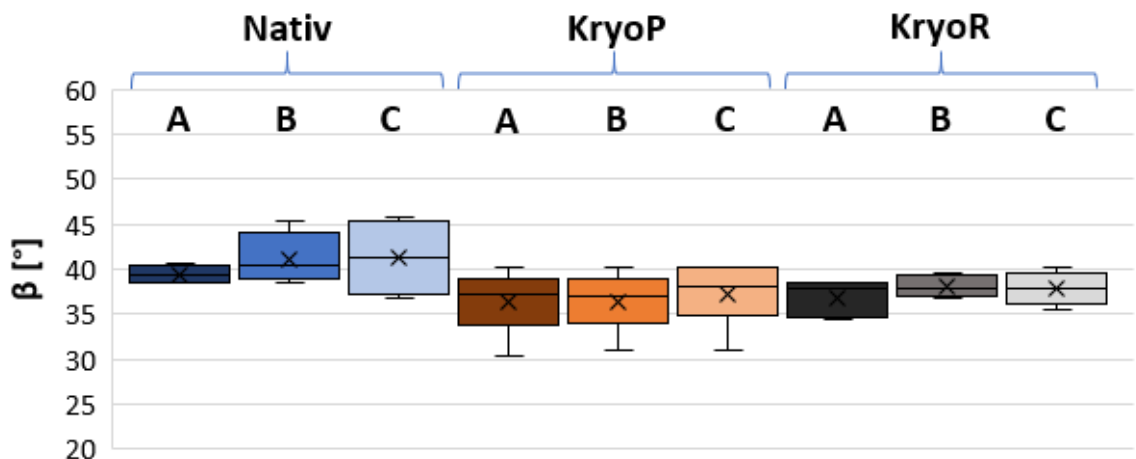
Vzorek	μ [kPa]	SD [kPa]	β [°]	SD [°]	k_1 [kPa]	SD [kPa]	k_2 [-]	SD [-]
Nativ_A	7.18	5.71	39.39	0.98	7.85	10.77	100.61	48.67
Nativ_B	2.88	3.98	41.11	2.94	7.02	11.77	92.29	89.70
Nativ_C	9.02	8.45	41.25	4.18	36.03	67.84	154.35	221.92
KryoP_A	5.90	5.51	36.38	3.47	23.77	16.60	38.72	15.27
KryoP_B	6.48	6.99	36.38	3.30	21.63	24.24	49.75	34.48
KryoP_C	6.88	9.65	37.24	3.55	13.05	9.30	31.99	11.52
KryoR_A	8.81	12.09	36.78	1.96	15.76	15.87	31.92	15.27
KryoR_B	9.05	6.78	38.04	1.19	3.18	2.48	27.58	12.06
KryoR_C	13.78	9.99	37.82	1.81	3.67	3.40	25.31	8.73

Tabulka 7 – Průměrné hodnoty materiálových parametrů a jejich směrodatné odchylky (SD) jednotlivých skupin vzorků při uvažování úhlu rozevření $\alpha = 90^\circ$

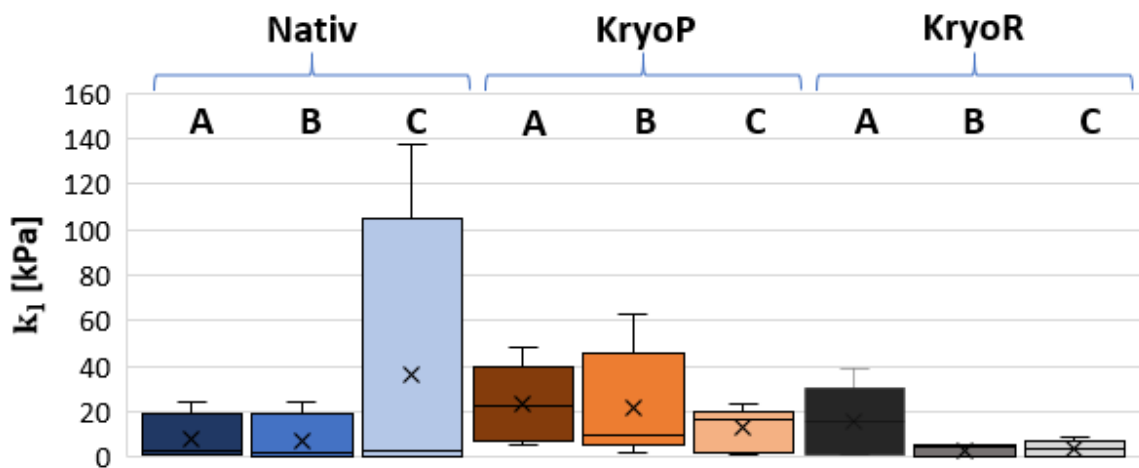
Tyto průměrné hodnoty materiálových parametrů byly dosazeny do předpisu hustoty deformační energie dle modelu HGO. Na základě tohoto předpisu a průměrných geometrických rozměrů jednotlivých skupin (viz Tabulka 3) byla vytvořena modelová mechanická odezva pro každou rychlost zatěžování každé skupiny vzorků. Vycházelo se přitom ze vztahů odvozených v kapitolách 5.5 a 7, při uvažování úhlu rozevření $\alpha = 90^\circ$, dodatečné axiální síly $N = 0$ a tlaku p jdoucího od 0 do 19.5 kPa. Výsledkem je závislost tlak-streč, přičemž streče v jednotlivých směrech byly získány řešením rovnic (45) a (49). Výpočet byl proveden numericky v programu Maple využitím funkce fsolve. Pro výpočet strečů v obvodovém směru je za referenční považována konfigurace ve stavu před zatížením, tedy platí: $\lambda_{\theta 0} = r_o/R_o$. Modelové mechanické odezvy jednotlivých skupin vzorků znázorňují Obrázek 40 až Obrázek 42.



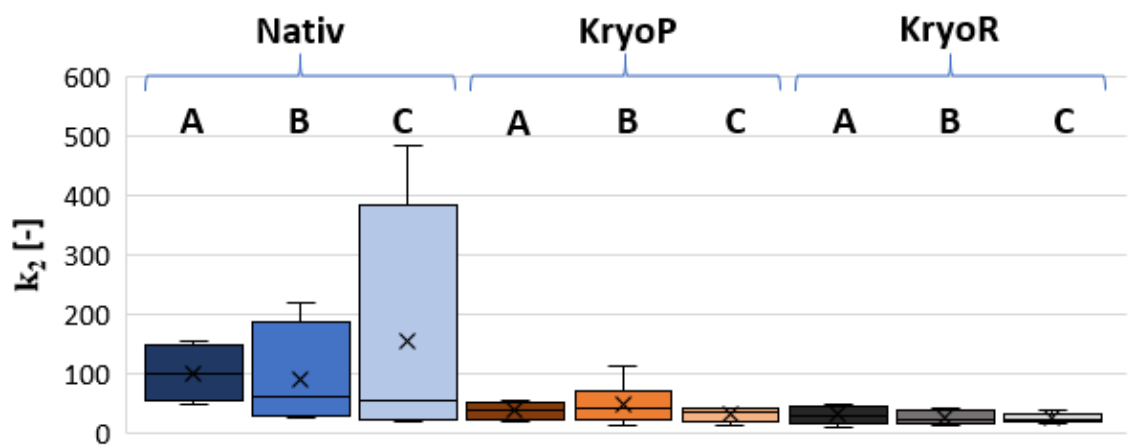
Obrázek 36 – Porovnání materiálového parametru μ konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování



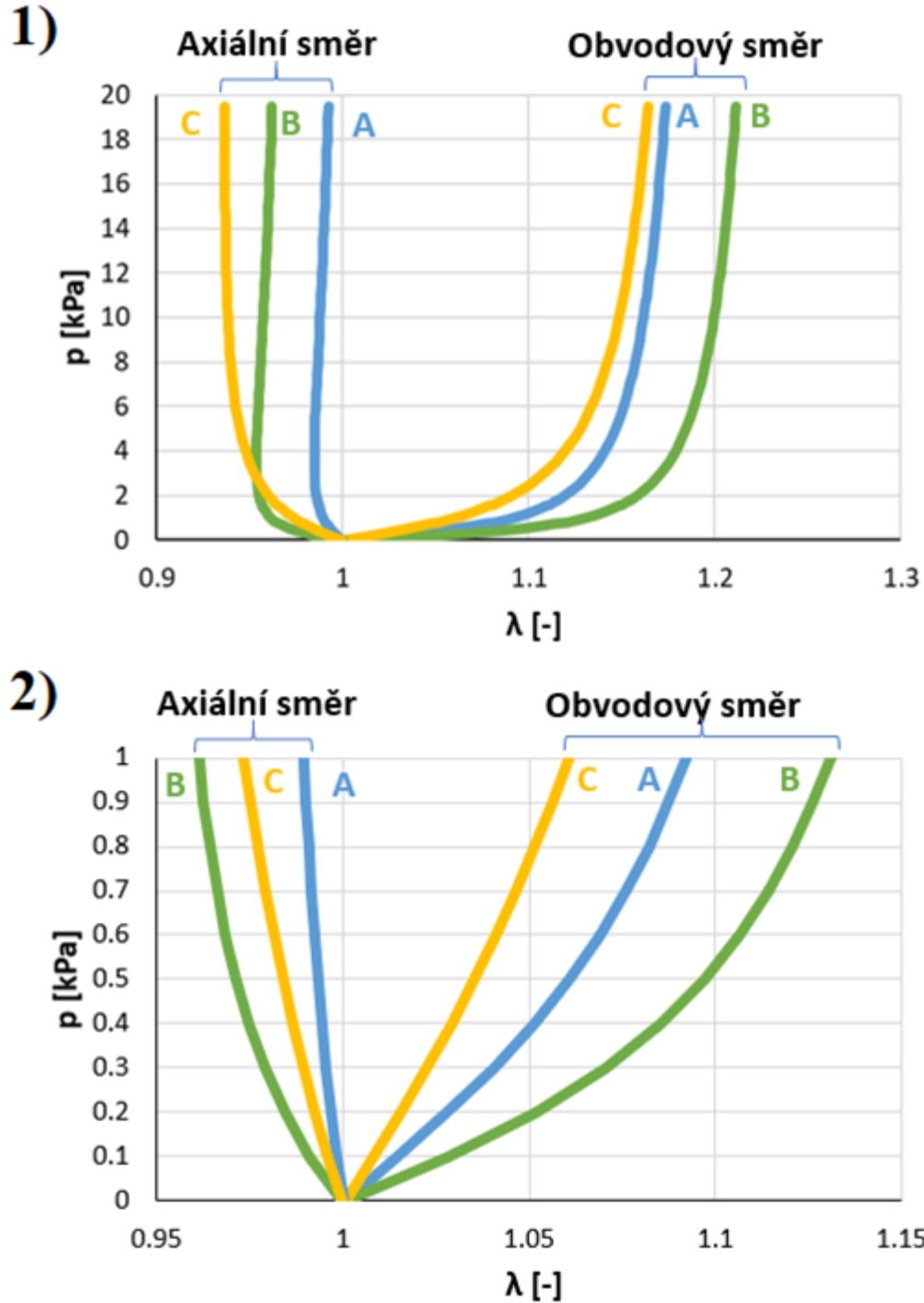
Obrázek 37 – Porovnání materiálového parametru β konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování



Obrázek 38 – Porovnání materiálového parametru k_1 konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování



Obrázek 39 – Porovnání materiálového parametru k_2 konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování

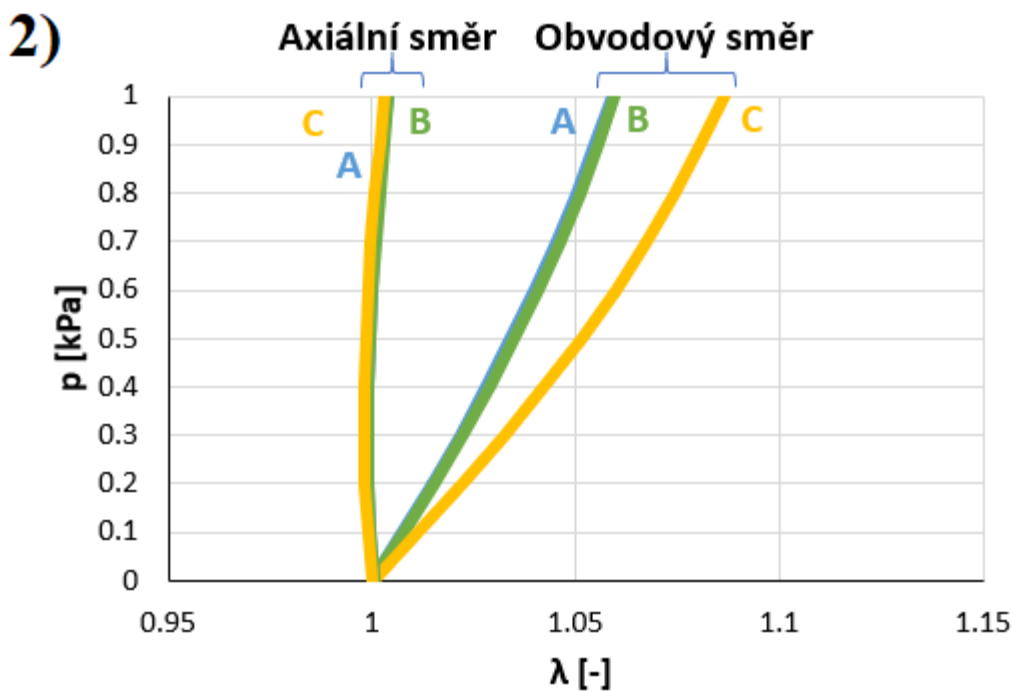
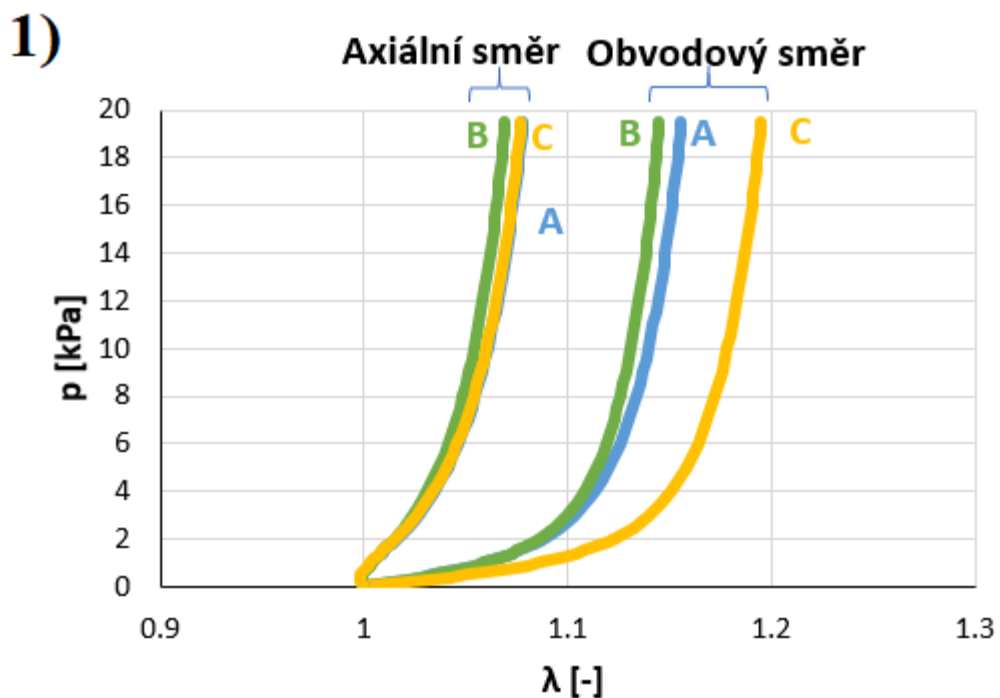


Obrázek 40 – Modelová mechanická odezva získaná použitím HGO hyperelastického modelu při dosažení průměrných hodnot materiálových parametrů pro skupinu vzorků **Nativ**. Obvodová deformace na vnitřním poloměru

Rychlosti zatěžování: 0,04 Hz = A (modrá), 0,5 Hz = B (zelená), 1 Hz = C (žlutá).

1) Modelovaná odezva v rozsahu tlaku $p = 0-19.5$ kPa pro porovnání vlastností při tepenném zatížení

2) Výšek z grafu v rozsahu tlaku $p = 0-1$ kPa pro porovnání vlastností při žilním zatížení



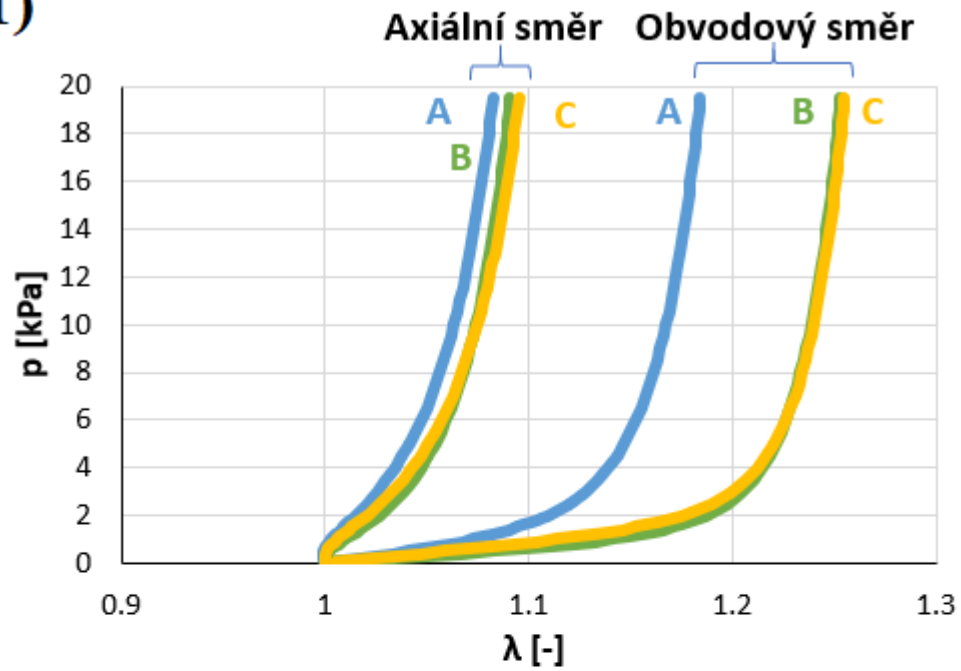
Obrázek 41 – Modelová mechanická odezva získaná použitím HGO hyperelastického modelu při dosazení průměrných hodnot materiálových parametrů pro skupinu vzorků **KryoP**. Obvodová deformace na vnitřním poloměru

Rychlosti zatěžování: 0,04 Hz = A (modrá), 0,5 Hz = B (zelená), 1 Hz = C (žlutá).

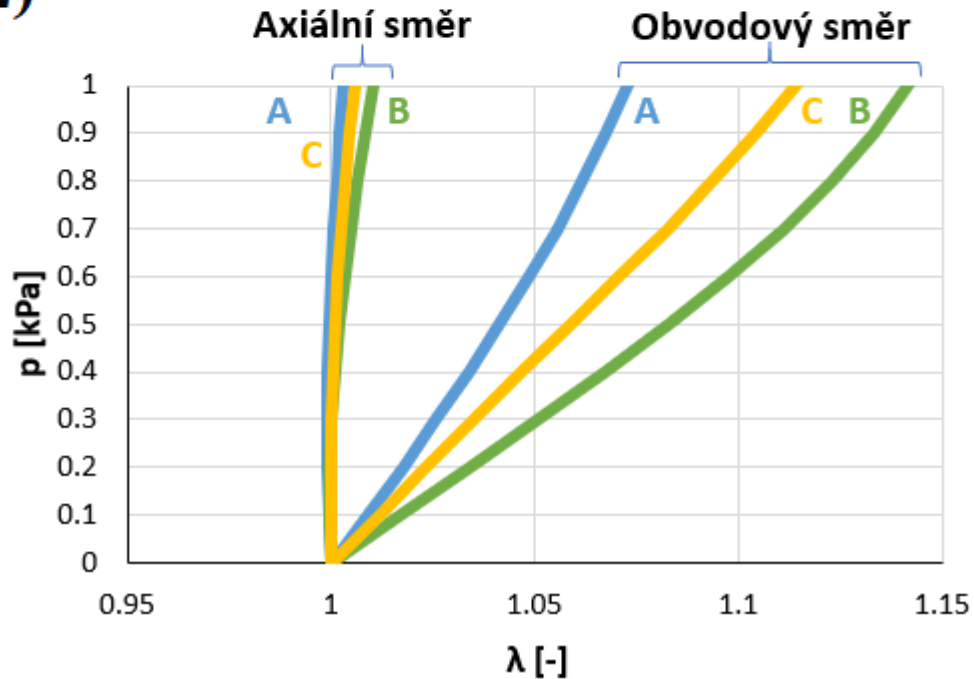
1) Modelovaná odezva v rozsahu tlaku $p = 0-19.5$ kPa pro porovnání vlastností při tepenném zatížení

2) Výsek z grafu v rozsahu tlaku $p = 0-1$ kPa pro porovnání vlastností při žilném zatížení

1)



2)



Obrázek 42 – Modelová mechanická odezva získaná použitím HGO hyperelastického modelu při dosazení průměrných hodnot materiálových parametrů pro skupinu vzorků **KryoR**. Obvodová deformace na vnitřním poloměru

Rychlosti zatěžování: 0,04 Hz = A (modrá), 0,5 Hz = B (zelená), 1 Hz = C (žlutá).

1) Modelovaná odezva v rozsahu tlaku $p = 0\text{--}19.5$ kPa pro porovnání vlastností při tepenném zatížení

2) Výsek z grafu v rozsahu tlaku $p = 0\text{--}1$ kPa pro porovnání vlastností při žilném zatížení

Identifikace materiálových parametrů a následná modelování reprezentativní materiálové odezva byly provedeny za uvažování úhlu rozevření $\alpha = 90^\circ$. Tyto výsledky jsou pro práci stěžejní a slouží pro hodnocení vlivu kryoprezervace na mechanické vlastnosti žil. Pro odhadnutí odchylek, ke kterým by při identifikaci parametrů došlo, pokud by byl úhel rozevření měřen pro každý vzorek, byla provedena další optimalizace při dosažení $\alpha = 0^\circ$. V ostatních ohledech zůstala úloha neměnná, viz kapitola 7. Výsledkem byly hodnoty materiálových parametrů pro každý vzorek, viz Dodatek 2, a jejich průměrné hodnoty pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování, viz Tabulka 8. Pro porovnání výsledků obou optimalizací byly provedeny t-tety: oboustranný párový t-test, viz Tabulka 9, a oboustranný dvouvýběrový t-test s různými rozptyly, viz Tabulka 10. Testy byly prováděny na hladině spolehlivosti 95 %, tedy hraniční hodnota významnosti je $p = 0.05$.

Vzorek	μ [kPa]	SD [kPa]	β [°]	SD [°]	k_1 [kPa]	SD [kPa]	k_2 [-]	SD [-]
Nativ_A	6.53	5.31	39.82	1.19	8.78	11.47	90.16	46.30
Nativ_B	2.58	3.72	41.40	3.15	7.88	13.08	84.27	84.58
Nativ_C	4.68	7.18	41.40	4.82	49.86	94.98	142.58	204.98
KryoP_A	5.51	5.24	36.86	3.67	24.37	16.70	36.38	13.86
KryoP_B	6.09	6.54	36.57	3.08	22.37	24.65	46.05	30.23
KryoP_C	6.73	9.52	37.34	3.54	13.50	9.58	30.12	10.78
KryoR_A	8.61	11.97	36.78	1.96	16.21	16.15	29.91	13.89
KryoR_B	8.59	6.75	38.16	1.04	3.45	2.67	25.59	10.96
KryoR_C	13.37	10.10	37.70	1.37	3.96	3.59	23.40	7.04

Tabulka 8 – Průměrné hodnoty materiálových parametrů a jejich směrodatné odchylky (SD) jednotlivých skupin vzorků při uvažování úhlu rozevření $\alpha = 0^\circ$

p hodnoty	μ [kPa]	β [°]	k_1 [kPa]	k_2 [-]
Nativ_A	0.095	0.058	0.087	0.027
Nativ_B	0.182	0.182	0.282	0.080
Nativ_C	0.352	0.718	0.383	0.259
KryoP_A	0.049	0.141	0.001	0.021
KryoP_B	0.084	0.175	0.019	0.102
KryoP_C	0.076	0.363	0.013	0.002
KryoR_A	0.076	1.000	0.088	0.071
KryoR_B	0.004	0.374	0.069	0.052
KryoR_C	0.019	0.799	0.105	0.078

Tabulka 9 – Hodnoty pravděpodobnosti p párových oboustranných t-testů pro porovnání hodnot získaných optimalizací při dosažení $\alpha = 90^\circ$ a $\alpha = 0^\circ$

p hodnoty	μ [kPa]	β [°]	k_1 [kPa]	k_2 [-]
Nativ_A	0.873	0.598	0.910	0.766
Nativ_B	0.915	0.899	0.926	0.901
Nativ_C	0.464	0.966	0.821	0.940
KryoP_A	0.902	0.822	0.952	0.786
KryoP_B	0.921	0.920	0.959	0.847
KryoP_C	0.980	0.964	0.936	0.778
KryoR_A	0.979	1.000	0.966	0.833
KryoR_B	0.918	0.875	0.872	0.792
KryoR_C	0.950	0.913	0.902	0.714

Tabulka 10 – Hodnoty pravděpodobnosti p dvouvýběrových oboustranných t-testů s různým rozptylem výběrů pro porovnání hodnot získaných optimalizací při dosažení $\alpha = 90^\circ$ a $\alpha = 0^\circ$

9 Diskuse

Tato práce je součástí dlouhodobého výzkumu, jehož cílem je popsání vlivu kryoprezervace na vlastnosti cévních štěpů. Jedním z parametrů kryoprezervačního postupu, který je v současnosti zkoumán, je vliv rychlosti rozmrazení kryoprezervovaných žilních štěpů. Skutečnost, že při rychlém rozmrazení dochází ke vzniku pnutí a poškození buněk, je dlouho známa [37]. Obvykle ovšem bývá pozorována u arterií. Jak ale ukázal výzkum, na nějž tato práce navazuje, mechanické charakteristiky VSM určené pro implantaci nebyly významně odlišné při rychlém a standardním rozmrazení při kvazistatickém zatěžování [36, 117, 118].

Aby bylo možné ověřit, zda má kryoprezervace vliv na mechanické vlastnosti VSM, byly v této práci analyzovány výsledky inflačně-extenzních testů provedených na 3 skupinách vzorků. První skupinou byly úseky nativní VSM, druhou skupinou byly úseky kryoprezervovaných pomalu rozmrazených (120 min) VSM, třetí skupinou byly úseky kryoprezervovaných rychle rozmrazených (5 min) VSM. Z experimentálních dat byly získány charakteristiky pro každý vzorek, viz Obrázek 29 až Obrázek 31. Aby bylo možné lépe popsat rozdíly mezi jednotlivými skupinami a chování na vnitřním průměru cév, bylo provedeno matematické modelování odezvy každého vzorku, jak je detailně popsáno v kapitole 7. Bylo přitom využito hyperelastického modelu HGO. Hodnoty materiálových parametrů získané optimalizací uvádí Dodatek 1. Tyto hodnoty byly následně průměrovány pro jednotlivé skupiny a rychlosti zatěžování pro určení jejich reprezentativních mechanických vlastností, viz Tabulka 7. Průměrné hodnoty materiálových parametrů byly dosazeny do předpisu hustoty deformační energie HGO a byla vytvořena modelová mechanická odezva každé skupiny vzorků. Byl přitom uvažován vnitřní tlak jdoucí od 0 do 19.5 kPa a nulová síla vnějšího axiálního zatížení. Protože byla trubice uvažována jako tlustostěnná, bylo pak možné vyjádřit závislost tlak-streč na jejím vnitřním poloměru, kde budou obvodové streče největší. Tyto výsledné charakteristiky uvádějí Obrázek 40 až Obrázek 42 a slouží jako hlavní data pro hodnocení vlivu kryoprezervace na mechanické vlastnosti VSM.

Do průměrných hodnot nebyly zahrnuty výsledky optimalizací, při nich byly nalezeny minima cílové funkce ve výrazně odlišném bodě. Vzhledem ke komplexitě předpisu deformační energie, který není lineární, totiž každý z parametrů ovlivňuje modelovou mechanickou odezvu odlišně. Křivky mechanické odezvy tak nemusí být příliš rozdílné ani pro výrazně odlišné materiálové parametry. Naopak, pokud by byla tvořena průměrná hodnota parametrů také z odchýlených hodnot, bylo by možné, že průměrná křivka nebude věrně popisovat danou skupinu. Parametry jednotlivých vzorků se i při eliminaci odlehklých hodnot poměrně lišily, což je patrné z hodnot směrodatných odchylek, viz Tabulka 7. Zdánlivě se tak může zdát, že průměrná hodnota není vhodnou metrikou pro tvorbu reprezentativní mechanické odezvy. Tato úvaha byla při tvorbě reprezentativních modelů brána v potaz. Vysoká variabilita hodnot materiálových parametrů je ovšem způsobena faktem, že jednotlivé skupiny nesestávaly ze vzorků, které by měly být ideálně totožné – céva každého dárce má unikátní geometrii a vlastnosti. Vysoká hodnota směrodatné odchylky je tak při jejich zkoušení nevyhnutelná a předpokládaná (narozdíl například od arteficiálně vyrobených náhrad). Při eliminaci odchýlených hodnot parametrů tak může být jejich průměrná hodnota považována za přínosnou informaci, kterou lze smysluplně využít při tvorbě reprezentativní mechanické odezvy dané skupiny vzorků.

Hlavním cílem práce bylo posoudit, zda při kryoprezervaci dochází ke změnám mechanických vlastností VSM a případně, jak velkou roli hraje rychlost jejich rozmrazení. Zcela zřejmým a základním rozdílem mezi odezvou nativních a obou skupin kryoprezervovaných VSM je patrný v axiálním směru. Zatímco charakteristiky nativních žil vykazují při zvyšujícím se tlaku streče velmi blízké 1 nebo záporné, viz Obrázek 29 a Obrázek 40, axiální streče vén kryoprezervovaných jsou v drtivé většině kladné a dosahují větších hodnot strečů (deformací). Při pohledu na zdrojová data je zřejmé, že všechny kryoprezervované vzorky se v axiálním směru prodlužovaly, viz Obrázek 30 a Obrázek 31. To je zásadní rozdíl. V provedené rešerši nebyl nalezen zdroj, kde by tento fenomén byl pozorován a diskutován. Tento výsledek naznačuje, že při kryoprezervaci dochází k částečné ztrátě anizotropních vlastností materiálu a ten pak vykazuje podobnější vlastnosti v axiálním a obvodovém směru. Průběhy charakteristik v pozorovaných směrech se k sobě přibližují. Takovou modifikaci materiálových vlastností by bylo možné předpokládat při změnách ve struktuře kolagenních snopců či změnou jejich orientace. Patrně ovšem neexistuje publikace, která by takové změny v kolagenní struktuře při kryoprezervaci popisovala. Každopádně je pozorování tohoto jevu překvapivým zjištěním a bylo by vhodné ho dále experimentálně ověřit. Pokud by se podařilo tato zjištění potvrdit, bylo by možné o kryoprezervaci uvažovat jako o způsobu homogenizace mechanických vlastností v různých směrech anizotropních měkkých tkání bez ztráty jejich funkčnosti. Zda bude tato modifikace vlastností ovlivňovat funkčnost a životnost náhrady lze těžko predikovat, měla by ovšem být brána v potaz při implantační operaci, kdy se bude kryoprezervovaná náhrada na rozdíl od nativní cévy po voperování protahovat. To, že se mechanické odezvy různých vzorků od sebe liší méně, naopak může být výhodou například při řešení inženýrských úloh týkajících se simulace mechanické odezvy kryoprezervovaných náhrad.

V obvodovém směru nebyly pozorovány žádné podstatné rozdíly mezi odezvou nativních a kryoprezervovaných pomalu rozmrazených cév při kvazistatickém zatěžování. Kryoprezervované žily vykazovaly o něco tužší odezvu při tlaku odpovídajícímu žilnímu řečišti než žily nativní, viz Obrázek 40 2) a Obrázek 41 2). Vzhledem k tomu, jak se mohou lišit mechanické vlastnosti jednotlivých VSM se ovšem nejednalo o rozdíl zásadní. Při tlacích odpovídajících tepennému řečišti, kterým by byly náhrady vystaveny například při jejich použití jako koronární bypassy, byly křivky prakticky totožné. To je ve shodě s literaturou [71, 119, 120]. Charakteristiky při vyšších rychlostech zatěžování se mezi těmito dvěma skupinami liší. Nativní cévy dosahují větších deformací při rychlosti zatěžování B zejména kvůli větší počáteční poddajnosti, viz Obrázek 40 2). Oproti tomu při rychlosti C byla počáteční odezva u nativní skupiny tužší než při rychlosti A. U pomalu rozmrazených vzorků tomu bylo u obou rychlostí přesně naopak. Vzhledem k tomu, že nebylo možné stanovit zřejmou závislost mechanické odezvy na rychlosti zatěžování a odezva jednotlivých vzorků se výrazně liší, se nezdají být rozdíly mezi těmito dvěma skupinami zásadně velké ani při rychlostech B a C. Z analýzy tedy vyplývá, že standardní kryoprezervace s pomalým rozmrazením nezpůsobuje významnou změnu mechanických vlastností VSM při žádné rychlosti zatěžování. Lze tak usuzovat, že v současnosti využívaný postup kryoprezervace neovlivňuje mechanické vlastnosti v obvodovém směru.

Jiné závěry je možné učinit ohledně kryoprezervovaných, rychle rozmrazených cévních štěpech. Při kvazistatickém zatěžování se v obvodovém směru rozdíl mezi touto skupinou a nativními cévami nezdá být zásadní – při nižších tlacích je odezva obou skupin prakticky totožná, viz Obrázek 40 2) a Obrázek 42 2). Celkový maximální streč v obvodovém směru je sice větší, nikoliv však významně. Při rychlostech zatěžování B a C je ovšem mechanická odezva výrazně odlišná jak od odezvy této skupiny při rychlosti A, tak od reprezentativních křivek ostatních

skupin. Při rychlostech B a C této skupiny je možné pozorovat výrazně menší tuhost při zatížení tlaky odpovídajícím žilnímu řečišti, viz Obrázek 42 2) a celkově pomalejší zvyšování tuhosti, viz Obrázek 42 1). Následkem tohoto jevu pak vzorky při daných rychlostech zatěžování dosahovaly výrazně větších deformací, přestože tuhost při tlacích odpovídajících tepennému řečišti byla přibližně stejná jako u nativních VSM, viz Obrázek 40 1) a Obrázek 42 1). Podobný jev je pozorován také v [76], viz Obrázek 14 B). V tomto případě byly zkoumány vlastnosti kryoprezervovaných iliakálních arterií zatěžovaných kvazistaticky při inflačním testu, které byly také rychle rozmrazeny ve vodní lázni. Tato modifikace vlastností by mělo po implantaci za následek výraznější zvětšení lumen. K tomu by ovšem docházelo také přirozeně remodelací, pokud by byla náhrada umístěna do tepenného řečiště. Při vyšších tlacích byla tuhost podobná jako u nativních VSM. Nelze tedy jistě určit, zda by pozorovaná změna vlastností měla negativní účinek při umístění do tepenné části řečiště. Je ovšem otázkou, zda větší počáteční tuhosti nepoukazuje na poškození cévní stěny, které by mohlo mít další negativní důsledky. Pomalejší zvyšování tuhosti může poukazovat např. na poškození či modifikace kolagenních vláken, které do mechanické odezvy začínají přispívat až při vyšších hodnotách deformací. Proč by se tak mělo dít pouze při vyšších rychlostech zatěžování, jak bylo pozorováno v této práci, ovšem není jasné. Dalším možným vysvětlením by mohlo být poškození cév, ke kterému by došlo až po prvním experimentu s danými vzorky. Protože byly prováděny testy v pořadí rychlostí A, B, C, bylo by možné předpokládat chování pozorované u rychle rozmrazených vzorků, pokud by došlo k jejich poškození během předcyklování rychlostí B. Pro ověření této hypotézy by bylo vhodné další experimenty s rychle rozmrazenými VSM provádět nejprve frekvenci pulzace 0,5 Hz či vyšší. Pokud by pak mechanická odezva při kvazistatickém zatěžování vykazovala stejné chování, jako tomu bylo v tomto výzkumu při rychlostech B a C, potvrdila by se tato domněnka. V každém případě vykazovaly rychle rozmrazené VSM při vyšších rychlostech zatěžování výrazně odlišnou odezvu od vén nativních a zdají se tak být kryoprezervací ovlivněny více než pomalu rozmrazené náhrady.

Co se týče vlivu rychlosti zatěžování na mechanickou odezvu cév, jsou výsledky velmi nejasné a rozporuplné. Předpokládaná závislost, při níž by VSM vykazovala tužší odezvu při vyšších rychlostech zatěžování [18], není v reprezentativních křivkách pozorovatelná v žádné ze skupin vzorků. Jednotlivé vzorky sice takové chování vykazovaly, byla jich však menšina, viz Obrázek 29 až Obrázek 32. Ve většině případů je závislost na rychlosti zatěžování poměrně nejasná a nalezené rozdíly se nezdají být dostatečně velké pro určení konkrétní závislosti. Zdá se tedy, že rychlost zatěžování nehraje podstatnou roli. Jedinou výjimkou je obvodový směr rychle rozmrazených VSM. Zde je pozorovatelný výrazný rozdíl mezi zatěžovací křivkou při kvazistatickou a vyššími rychlostmi zatěžování, viz Obrázek 42. Tento rozdíl byl již diskutován při hodnocení vlivu rychlosti rozmrazení.

Z hlediska matematického modelování by bylo pro tuto práci vhodnější provedení měření úhlu rozevření. V ideálním případě by byl α naměřen pro každý ze vzorků a poté dosazen do konstitutivních relací mezi vnějším zatížením a deformacemi. Díky tomu by bylo možné přesněji určit materiálové parametry hyperelastického modelu. Přesné měření úhlu rozevření žil ovšem není lehké, protože je vzhledem k jejich geometrii a velikosti předpětí obtížné eliminovat třecí sílu podložky, která ovlivňuje výsledek měření. Prvním vyzkoušeným řešením bylo uvažování α jako páteho neznámého parametru, jehož hodnota byla pomocí optimalizačních algoritmů hledána. Výsledné hodnoty úhlu ovšem byly vyšší, než se dá u vén předpokládat, a navíc odlišné pro různé rychlosti zatěžování. Protože by tak nalezený α a skutečný úhel rozevření vzorku byly odlišné,

byla zvolena varianta s dosazením průměrného α VSM dle literatury [99]. Jistě tak dochází k zavedení nepřesnosti do výpočtu hodnot materiálových parametrů. Je vhodné zdůraznit, že tato chyba nemění zásadním způsobem křivky reprezentující mechanickou odezvu jednotlivých skupin vzorků. Vzhledem k tomu, že ty vznikly výpočty založenými na fitování modelu na naměřená data, byla by závislost tlak-streč obdobná při zvolení libovolného α . Hyperelastický model by ovšem již nepředstavoval konstitutivní vztah pro popis materiálu, ale pouze by předepisoval druh křivky, která má být prokládána naměřenými daty.

Jedním z přínosů práce mohou být právě identifikované parametry materiálového modelu, který může být v případě potřeby využit v inženýrských pružnostních výpočtech týkajících se VSM. Aby bylo možné zhodnotit, jak velké je možné očekávat odchytky parametrů oproti případu, kdy by byl úhel rozevření každého vzorku změřen, byla provedena druhá optimalizace parametrů, při níž byl dosazován $\alpha = 0^\circ$. Výsledky pro jednotlivé vzorky uvádí Dodatek 2 a průměrné parametry skupin Tabulka 8. Pro analýzu dat byl zvolen oboustranný párový t-test, viz Tabulka 9, a oboustranný dvouvýběrový t-test s různými rozptyly výběrů, viz Tabulka 10. V párovém t-testu tvořily páry vždy výsledné parametry pro tentýž vzorek při dosazení $\alpha = 90^\circ$ a $\alpha = 0^\circ$. Vyplývá z něho, že při položení $\alpha = 0$ může docházet k výrazným rozdílům, pokud se porovnávají hodnoty parametrů pro konkrétní žílu, viz Tabulka 9. Lze tedy uvažovat případ, kdy bude simulována odezva konkrétního štěpu VSM s možností provedení identifikace materiálových parametrů a měření úhlu rozevření z nevyužité části žíly. V takovém případě by se mohlo dojít k výrazně odlišným výsledkům než v případě využití průměrných parametrů uvedených v této práci. Jak ovšem vyplývá z dvouvýběrového testu, viz Tabulka 10, průměrné reprezentativní hodnoty se pro $\alpha = 0^\circ$ a $\alpha = 90^\circ$ významně neliší. Směrodatná odchylna naměřených úhlů rozevření VSM přitom dle [99] činila pouze 36° . Zdá se tedy, že průměrné hodnoty parametrů při $\alpha = 90^\circ$ mohou smysluplně posloužit při simulacích, při nichž nebylo možné provést identifikaci parametrů konkrétní žíly.

Pro komparativní výzkum je vhodné, aby se vzorky jednotlivých zkoumaných skupin co nejméně lišily vlastnostmi, které nejsou předmětem srovnávání. Bylo by proto lepší, pokud by nativní VSM neměly statisticky významně menší průměr než kryoprezervované štěpy, viz Tabulka 3. Vliv tloušťky vzorku byl ovšem eliminováno fyzikální formulací optimalizační úlohy, která do výpočtu závislostí tlak-streč rozměry vzorků zahrnuje.

Váha výsledků této práce je limitována množstvím testovaných vzorků. Počet 6 testovaných vzorků každé skupiny, z nichž ne všechny byly vhodné pro tvorbu reprezentativních mechanických charakteristik, nabízí vzhled do dané problematiky, jistě ovšem netvoří dostatečný základ pro vyvození jistých závěrů.

Pro potvrzení výsledků této práce by bylo vhodné provést další experimentální měření. Zvláštní zřetel by přitom měl být brán na rychle rozmrazené kryoprezervované vény zatěžované vyššími frekvencemi pulzace. Bylo by vhodné zjistit, zda po zatěžování vyššími rychlostmi nedochází k trvalým změnám v mechanické odezvě. Pokud by taková změna vlastností byla opravdu pozorována, bylo by přínosné vzorky analyzovat mikroskopicky za cílem odhalení změn či poškození buněčné i nebuněčné části cévní stěny. Také by bylo vhodné ověřit, zda se tyto změny nepromítnou do pevnostních mezí žil.

10 Závěr

Cílem práce bylo zhodnotit vliv kryoprezervace na mechanickou odezvu VSM. Byly analyzovány tři skupiny vzorků: nativní VSM, VSM kryoprezervované a rozmrazené dle standardního protokolu užívaného v České republice (pomalu rozmrazené 120 min) a VSM kryoprezervované rychle rozmrazené (5 min). Vzorky žil byly cyklicky zatěžovány vnitřním tlakem během inflačně-extenzních testů. Každá ze tří skupin obsahovala 6 vzorků VSM. Před experimentem byly z konců vzorků separovány tenké kroužky. Ty byly poté rozstříženy a rozvinuty do roviny a bylo na nich provedeno měření geometrie vzorku: na 5 místech po obvodu tloušťka stěny a z rozvinuté délky proužku pak střední hodnota středního průměru vzorku. Každý ze vzorků byl namáhán postupně třemi rychlostmi zatěžování. Kvazistaticky frekvencí pulzace 0.04 Hz (rychlost značena A), dále frekvencí pulzace 0.5 Hz (B) a 1 Hz (C). Bylo provedeno 7 předcyklů a vyhodnocena byla zatěžující část 8 cyklu. Celkem tedy bylo provedeno 54 experimentálních měření. Výstupem těchto experimentů byly v čase synchronizované hodnoty vnitřního tlaku, vnějšího poloměru a axiální deformace vzorku.

Pro fyzikální popis experimentu byly vzorky považovány za dokonale válcovité tlustostěnné trubice, které byly modelovány jako hyperelastické pomocí HGO předpisu hustoty deformační energie s uvažováním nestlačitelnosti materiálu. Na základě údajů z experimentů a údajů o geometrii pak byly optimalizační úlohou identifikovány parametry materiálového modelu tak, aby co nejpřesněji popisoval mechanickou odezvu daného vzorku. Průměrné hodnoty parametrů každé skupiny vzorků při každé rychlosti zatěžování pak byly použity pro tvorbu reprezentativních mechanických charakteristik jednotlivých skupin vzorků a rychlostí zatěžování. Charakteristiky byly získány simulací mechanické odezvy trubice při zvyšujícím se vnitřním přetlaku $p = 0$ až 19.5 kPa a nulové vnější axiální síle. Takto vytvořené reprezentativní charakteristiky sloužily pro porovnání mechanické odezvy jednotlivých skupin vzorků. Na základě jejich analýzy se dospělo k následujícím závěrům:

Kryoprezervací dochází k modifikaci mechanické odezvy v axiálním směru. Zatímco nativní VSM se při zvyšujícím se tlaku jak prodlužovaly, tak zkracovaly, u kryoprezervovaných vzorků obou skupin bylo možné pozorovat pouze prodlužování, viz Obrázek 29 až Obrázek 31. Tato modifikace vlastností značí ztrátu anizotropie vzorků a pokud by byla potvrzena v dalším výzkumu, bylo by možné kryoprezervaci využít pro eliminaci anizotropie měkké tkáně. Tuto vlastnost vykazovaly vzorky pomalu i rychle rozmrazených náhrad při všech rychlostech zatěžování.

Kryoprezervované a standardně (pomalu) rozmrazené žíly se v obvodovém směru při kvazistatickém zatěžování odezvou prakticky nelišily od cév nativních. Při rychlostech B a C byl pozorován větší rozdíl mezi nativními a kryoprezervovanými VSM, nebyly ovšem vyhodnoceny jako signifikantní, viz Obrázek 40 a Obrázek 41. Na základě výsledků této práce tedy lze tvrdit, že **kryoprezervací dle současně používaných postupů nedochází k negativním změnám v mechanických vlastnostech VSM v obvodovém směru.**

Rychle rozmrazené vzorky vykazovaly mimo změnu vlastností v axiálním směru také odlišné vlastnosti ve směru obvodovém, viz Obrázek 42. Při rychlosti zatěžování A nebyla v obvodovém směru pozorována významná odchylka od nativních cév. Při rychlostech zatěžování B a C byla ovšem v obvodovém směru zřejmá menší počáteční tuhost a její pomalejší růst. To mělo za následek celkově významně větší dosažené deformace, přestože tuhost při tlacích odpovídajícím

tepennému řečišti byla zhruba stejná jako u nativních cév. V důsledku toho vykazovaly rychle rozmrazené vzorky při vyšších rychlostech zatěžování výrazně odlišné vlastnosti, a to jak od nativních cév, tak od odezvy této skupiny při rychlosti zatěžování A. To je **jediný zřejmý vliv rychlosti zatěžování** na mechanickou odezvu, který byl v této práci pozorován. Na základě získaných poznatků tedy u rychle rozmrazených VSM dochází ke změně mechanických vlastností v porovnání s nativními vzorky. Vysvětlení je zřejmě možné hledat v poškození buněčné a nebuněčné části cévní stěny. Proto se zdá, že **rychlé rozmrazení může mít nepříznivý vliv na mechanické vlastnosti VSM** a jedná se tak o potenciálně rizikovější postup.

11 Literatura

- [1] RAHMAN, Mohammed S. a Kevin WOOLLARD. . Cham: Springer International Publishing. , 2017. Atherosclerosis. . 121-144 s. ISBN 0065-2598.
- [2] MOTTET, N. K. arteriosclerosis [online]. McGraw-Hill Education, 2019. [cit. 15.12.2020]. ISBN 9780071422895;0071422897;.
- [3] LU, Hong a Alan DAUGHERTY. Atherosclerosis. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2015, vol. 35, no. 3, s. 485-491. ISSN 1524-4636;1079-5642;.
- [4] YAO, Lu et al. Association of carotid atherosclerosis and stiffness with abdominal aortic aneurysm: The atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. Atherosclerosis. 2018, vol. 270, s. 110-116. ISSN 0021-9150.
- [5] BYRNE, Robert A. et al. Coronary balloon angioplasty, stents, and scaffolds. The Lancet (British Edition). 2017, vol. 390, no. 10096, s. 781-792. ISSN 0140-6736.
- [6] KATAOKA, Masaharu et al. Balloon Pulmonary Angioplasty (Percutaneous Transluminal Pulmonary Angioplasty) for Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension: A Japanese Perspective. JACC. Cardiovascular Interventions. 2019, vol. 12, no. 14, s. 1382-1388.
- [7] WARD, Leah Beth. Angioplasty. Yakima Herald-Republic [online]. 2011. [cit. 16.12.2020].
- [8] FU, Y.Q. HUANG, W.M. LUO, J.K., LU H.. 9 - Polyurethane shape-memory polymers for biomedical applications. Editor(s): L'Hocine Yahia. In Woodhead Publishing Series in Biomaterials. Shape Memory Polymers for Biomedical Applications. Woodhead Publishing. 2015. s. 167-195. ISBN 9780857096982.
- [9] CIRSE. Angioplasty And Stenting – CIRSE [online]. 2020. [cit. 27.12.2020] Dostupné z: <https://www.cirse.org/patients/ir-procedures/angioplasty-and-stenting>
- [10] MÄKIKALLIO, Timo et al. Percutaneous coronary angioplasty versus coronary artery bypass grafting in treatment of unprotected left main stenosis (NOBLE): a prospective, randomised, open-label, non-inferiority trial. The Lancet (British Edition). 2016, vol. 388, no. 10061, s. 2743-2752. ISSN 0140-6736;1474-547X;.
- [11] MONTALESCOT, Gilles et al. 2013 ESC GUIDELINES ON THE MANAGEMENT OF STABLE CORONARY ARTERY DISEASE. Российский кардиологический журнал. 2014, no. 7, s. 7-79. ISSN 1560-4071.
- [12] BRADBURY, Andrew W. et al. Bypass versus Angioplasty in Severe Ischaemia of the Leg (BASIL) trial: An intention-to-treat analysis of amputation-free and overall

- survival in patients randomized to a bypass surgery-first or a balloon angioplasty-first revascularization strategy. *Journal of Vascular Surgery*. 2010, vol. 51, no. 5, s. 5S-17S. ISSN 0741-5214.
- [13] COHEN, David J. et al. Quality of Life after PCI with Drug-Eluting Stents or Coronary-Artery Bypass Surgery. *The New England Journal of Medicine*. 2011, vol. 364, no. 11, s. 1016-1026. ISSN 1533-4406;0028-4793;.
- [14] TOMOI, Y. et al. P5184Drug-eluting stent implantation vs. bypass surgery for in-stent occlusion after FP stenting. *European Heart Journal*. 2017, vol. 38, no. suppl_1. ISSN 0195-668X.
- [15] Anastomosis [online]. HealthJade. [cit. 20.6.2021]. Dostupné z: https://healthjade.net/anastomosis/#End-to-end_anastomosis.
- [16] BENRASHID, Ehsan et al. Tissue engineered vascular grafts: Origins, development, and current strategies for clinical application. *Methods (San Diego, Calif.)*. 2016, vol. 99, s. 13-19. ISSN 1046-2023.
- [17] LEE, Kee-Won, et al. A biodegradable synthetic graft for small arteries matches the performance of autologous vein in rat carotid arteries. *Biomaterials*, 2018, 181: 67-80.
- [18] ELLIOTT, Morgan B., et al. Regenerative and durable small-diameter graft as an arterial conduit. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116.26: 12710-12719.
- [19] LORBEER, Roberto, et al. Reference values of vessel diameters, stenosis prevalence, and arterial variations of the lower limb arteries in a male population sample using contrast-enhanced MR angiography. *PloS one*, 2018, 13.6: e0197559.
- [20] LEE, J. Michael; WILSON, Gregory J. Anisotropic tensile viscoelastic properties of vascular graft materials tested at low strain rates. *Biomaterials*, 1986, 7.6: 423-431.
- [21] SARKAR, S., et al. The mechanical properties of infrainguinal vascular bypass grafts: their role in influencing patency. *European journal of vascular and endovascular surgery*, 2006, 31.6: 627-636.
- [22] ONG, Chin Siang, et al. Tissue engineered vascular grafts: current state of the field. *Expert review of medical devices*, 2017, 14.5: 383-392.
- [23] CHAKFÉ, Nabil, et al. Editor's Choice–European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2020 clinical practice guidelines on the management of vascular graft and endograft infections. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2020, 59.3: 339-384.

- [24] HEO, S.-H., et al. Recent results of in situ abdominal aortic reconstruction with cryopreserved arterial allograft. *European journal of vascular and endovascular surgery*, 2017, 53.2: 158-167.
- [25] BERGER, P. et al. Cumulative Incidence of Graft Infection after Primary Prosthetic Aortic Reconstruction in the Endovascular Era. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2015, vol. 49, no. 5, s. 581-585. ISSN 1078-5884.
- [26] NOEL, Audra A. et al. Abdominal aortic reconstruction in infected fields: Early results of the United States cryopreserved aortic allograft registry. *Journal of Vascular Surgery*. 2002, vol. 35, no. 5, s. 847-852. ISSN 0741-5214.
- [27] WEISS, Salome, et al. Long-term results of cryopreserved allografts in aorto-iliac graft infections. *Journal of vascular surgery*, 2020.
- [28] TÖPEL, I., et al. Xenografts in septic vascular surgery. *Gefässchirurgie*, 2016, 21.2: 55-58.
- [29] HUBEL, Allison; SKUBITZ, Amy PN. Principles of cryopreservation. In: *Biobanking of Human Biospecimens*. Springer, Cham, 2017. p. 1-21.
- [30] RIGGS, Ryan, M.D et al. Does storage time influence postthaw survival and pregnancy outcome? An analysis of 11,768 cryopreserved human embryos. *Fertility and Sterility*. 2010, vol. 93, no. 1, s. 109-115. ISSN 0015-0282.
- [31] MARQUEZ-CURTIS, Leah A. et al. Mesenchymal stromal cells derived from various tissues: Biological, clinical and cryopreservation aspects. *Cryobiology*. 2015, vol. 71, no. 2, s. 181-197. ISSN 0011-2240.
- [32] GAO, Doyong a J. K. CRITSER. Mechanisms of Cryoinjury in Living Cells. *ILAR Journal*. 2000, vol. 41, no. 4, s. 187-196. ISSN 1084-2020.
- [33] McGANN, Locksley E., YANG, Hongyou, WALTERSON, Michele. Manifestations of cell damage after freezing and thawing, *Cryobiology*, 1988 vol. 25, no. 3, s. 178-185. ISSN 0011-2240.
- [34] TEIXEIRA, Aline S., M. Elena GONZÁLEZ-BENITO a Antonio D. MOLINA-GARCÍA. Measurement of cooling and warming rates in vitrification-based plant cryopreservation protocols. *Biotechnology Progress*. 2014, vol. 30, no. 5, s. 1177-1184. ISSN 8756-7938.
- [35] MÜLLER-SCHWEINITZER, Else. Cryopreservation of vascular tissues. *Organogenesis*. 2014;2009;, vol. 5, no. 3, s. 97-104. ISSN 1555-8592;1547-6278;.
- [36] ŠPAČEK, Miroslav, et al. Comparison of Different Thawing Protocols in Human Cryopreserved Venous Grafts. *Annals of vascular surgery*, 2020, 64: 347-354.

- [37] PEGG, David E., Monica C. WUSTEMAN a Serena BOYLAN. Fractures in Cryopreserved Elastic Arteries. *Cryobiology*. 1997, vol. 34, no. 2, s. 183-192. ISSN 0011-2240.
- [38] WUSTEMAN, M. C. a D. E. PEGG. Differences in the requirements for cryopreservation of porcine aortic smooth muscle and endothelial cells. *Tissue Engineering*. 2001, vol. 7, no. 5, s. 507-518. ISSN 1076-3279.
- [39] HUGHES, Jill. The study of cardiovascular tissue processing in the United Kingdom. 2008. disertační práce. University of Bedfordshire.
- [40] JASHARI, R., et al. Banking of cryopreserved arterial allografts in Europe: 20 years of operation in the European Homograft Bank (EHB) in Brussels. *Cell and tissue banking*, 2013, 14.4: 589-599.
- [41] ŠPAČEK, Miroslav, et al. Current vascular allograft procurement, cryopreservation and transplantation techniques in the Czech Republic. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2019, 28.4: 529-534.
- [42] HRUBY, Jan, et al. Influence of the new standardized clinical cryopreservation/slow thawing protocol on immunogenicity of arterial allografts in rats. *PloS one*, 2020, 15.3: e0230234.
- [43] ŠPAČEK, Miroslav, et al. Organization model for allotransplantations of cryopreserved vascular grafts in Czech Republic. *Cell and tissue banking*, 2018, 19.3: 437-445.
- [44] CHENG, Hwee Ming; JUSOF, Felicita. *Defining Physiology: Principles, Themes, Concepts Cardiovascular, Respiratory and Renal Physiology*.
- [45] Funkce buněk a lidského těla [online]. 3. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy. [cit. 17.8.2020]. Dostupné z: <http://www.fblt.cz/skripta/x-srdce-a-obeh-krve/2-krevni-obeh/>.
- [46] HORNÝ, Lukáš; ADÁMEK, Tomáš; KULVAJTOVÁ, Markéta. A comparison of age-related changes in axial prestretch in human carotid arteries and in human abdominal aorta. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 2017, 16.1: 375-383.
- [47] HORNÝ, Lukáš. *Biomechanika I* [online]. 2021 [cit. 2.3.2021]. Dostupné z: <http://users.fs.cvut.cz/~hornyluk/files/Biomechanika-I-Krevni-obeh-a-mechanika-cev.pdf>
- [48] GAO, Yuansheng.. *Architecture of the Blood Vessels*. Singapore: Springer Singapore. , 2017.. 3-12 s. ISBN 9811048096;9789811048098;.

- [49] RHODIN, Johannes. Architecture of the Vessel Wall. 2011. 10.1002/cphy.cp020201.
- [50] TELSER, Alvin. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition. Shock (Augusta, Ga.). 2002, vol. 18, no. 3, s. 289. ISSN 1073-2322.
- [51] HOLZAPFEL, Gerhard 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.
- [52] MARTINEZ-LEMUS, Luis A. The Dynamic Structure of Arterioles. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2012, vol. 110, no. 1, s. 5-11. ISSN 1742-7835.
- [53] AZADANI, Ali N., PhD et al. Comparison of Mechanical Properties of Human Ascending Aorta and Aortic Sinuses. The Annals of Thoracic Surgery. 2012, vol. 93, no. 1, s. 87-94. ISSN 0003-4975.
- [54] SOKOLIS, D. P. Passive mechanical properties and structure of the aorta: segmental analysis. Acta Physiologica. 2007, vol. 190, no. 4, s. 277-289. ISSN 1748-1716;1748-1708;.
- [55] PETERSON, R. D. a BRONZINO, J. D.. 4th. Taylor & Francis. Mechanics of Blood Vessels. 2015. 1-1 s. ISBN 1439825181;9781439825181.
- [56] TIAN, Lian, WANG, Zhijie, LAKES Rhoderic S, CHESLER, Naomi C. Comparison of approaches to quantify arterial damping capacity from pressurization tests on mouse conduit arteries. J Biomech Eng. 2013.
- [57] ĎOUBAL Stanislav; KLEMER, Petr; ĎOUBAL, Jan. Viskoelasticita – teorie, měření, aplikace [online]. DELTER v.o.s. 2014 [cit. 12.12.2020]. Dostupné z: <https://www.viskoelasticita.cz/soubor/monografie-viskoelasticity/>
- [58] WANG, Zhijie, GOLOB, Mark J., CHESLER, Naomi C.. Viscoelastic Properties of Cardiovascular Tissues, Viscoelastic and Viscoplastic Materials. IntechOpen. 2016.
- [59] RICKABY, S. R. a N. H. SCOTT. A cyclic stress softening model for the Mullins effect. International Journal of Solids and Structures. 2013;2020;, vol. 50, no. 1, s. 111-120. ISSN 0020-7683.
- [60] MONSON, Keneth L., BARBARO, Nicholas M., GOLDSMITH, Werner, MANDLEY, Geoffrey. Static and dynamic mechanical and failure properties of human cerebral vessels [online]. 2000. [cit. 6.12.2020]. dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/247640952_Static_and_dynamic_mechanical_and_failure_properties_of_human_cerebral_vessels

- [61] LIANG, Yu-Lu et al. EFFECTS OF HEART RATE ON ARTERIAL COMPLIANCE IN MEN. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*. 1999, vol. 26, no. 4, s. 342-346. ISSN 1440-1681;0305-1870;.
- [62] SHAH, Chirag S. et al. Dynamic biaxial tissue properties of the human cadaver aorta. *Stapp Car Crash Journal*. 2006, vol. 50, s. 217-246. ISSN 1532-8546.
- [63] KAMENSKIY, Alexey V., et al. Effects of age on the physiological and mechanical characteristics of human femoropopliteal arteries. *Acta biomaterialia*, 2015, 11: 304-313.
- [64] VESELÝ, Jan., HORNÝ, Lukáš, CHLUP, Hynek, ŽITNÝ, Rudolf.. Inflation Tests of Vena Saphena Magna for Different Loading Rates. *IFMBE Proceedings*. 41. 1041-1044. 2014. 10.1007/978-3-319-00846-2_258.
- [65] KOMOROWSKA-TIMEK, Ewa, et al. Effect of cryopreservation on patency and histological changes of arterial isogenic and allogeneic grafts in the rat model. *Annals of plastic surgery*, 2002, 49.4: 404-409.
- [66] GIGLIA, Joseph S.; OLLERENSHAW, Jeremy D.; DAWSON, Patti E. Cryopreservation Prevents Arterial Allograft.
- [67] VISCHJAGER, Manfred, et al. Function of cryopreserved arterial allografts under immunosuppressive protection with cyclosporine A. *Journal of vascular surgery*, 1996, 24.5: 876-882.
- [68] OSAKO, M., et al. Alloimmune response may be involved in neointimal hyperplasia in cryopreserved aortic allografts. In: *Transplantation proceedings*. 2001. p. 2566-2570.
- [69] BELLÓN, J. M., et al. Long-term behavior of an arterial autograft: a new role for intimal hyperplasia?. *Journal of Vascular Research*, 1996, 16.5: 240-249.
- [70] PASCUAL, G., et al. Patency and structural changes in cryopreserved arterial grafts used as vessel substitutes in the rat. *Journal of Surgical Research*, 2005, 124.2: 297-304.
- [71] BIA, Daniel, et al. Cryopreservation procedure does not modify human carotid homografts mechanical properties: an isobaric and dynamic analysis. *Cell and Tissue Banking*, 2006, 7.3: 183-194.
- [72] BIA, Daniel, et al. Femoral arteries energy dissipation and filtering function remain unchanged after cryopreservation procedure. *Transplant international*, 2005, 18.12: 1346-1355.

- [73] LANGERAK, Susan E., et al. Impact of current cryopreservation procedures on mechanical and functional properties of human aortic homografts. *Transplant international*, 2001, 14.4: 248-255.
- [74] MASSON, Ingrid, et al. Mechanical properties of arteries cryopreserved at– 80° C and– 150° C. *Medical engineering & physics*, 2009, 31.7: 825-832.
- [75] VENKATASUBRAMANIAN, Ramji T., et al. Effects of freezing and cryopreservation on the mechanical properties of arteries. *Annals of Biomedical engineering*, 2006, 34.5: 823-832.
- [76] BLONDEL, Walter CPM, et al. Rheological properties of fresh and cryopreserved human arteries tested in vitro. *Rheologica Acta*, 2000, 39.5: 461-468.
- [77] TIAN, Lian; CHESTER, Naomi C. In vivo and in vitro measurements of pulmonary arterial stiffness: a brief review. *Pulmonary circulation*, 2012, 2.4: 505-517.
- [78] ZHANG, Jidong, et al. Correlation between coronary artery disease and obstructive sleep apnea syndrome and analysis of risk factors. *Experimental and therapeutic medicine*, 2018, 15.6: 4771-4776.
- [79] NAKATANI, Satoshi, et al. Assessment of coronary artery distensibility by intravascular ultrasound: application of simultaneous measurements of luminal area and pressure. *Circulation*, 1995, 91.12: 2904-2910.
- [80] HOLZAPFEL, Gerhard A., et al. Determination of layer-specific mechanical properties of human coronary arteries with nonatherosclerotic intimal thickening and related constitutive modeling. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2005, 289.5: H2048-H2058.
- [81] O'LEARY, Siobhan A.; DOYLE, Barry J.; MCGLOUGHLIN, Tim M. Comparison of methods used to measure the thickness of soft tissues and their influence on the evaluation of tensile stress. *Journal of biomechanics*, 2013, 46.11: 1955-1960.
- [82] CHOUDHURY, Nusrat, et al. Local mechanical and structural properties of healthy and diseased human ascending aorta tissue. *Cardiovascular Pathology*, 2009, 18.2: 83-91.
- [83] MACRAE, Ryley A.; MILLER, Karol; DOYLE, Barry J. Methods in mechanical testing of arterial tissue: a review. *Strain*, 2016, 52.5: 380-399.
- [84] PIERCE, David M., et al. Human thoracic and abdominal aortic aneurysmal tissues: Damage experiments, statistical analysis and constitutive modeling. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2015, 41: 92-107.

- [85] MULVIHILL, J. J., et al. Mechanical, biological and structural characterization of in vitro ruptured human carotid plaque tissue. *Acta biomaterialia*, 2013, 9.11: 9027-9035.
- [86] KASYANOV, V., et al. Toward organ printing: Design characteristics, virtual modelling and physical prototyping vascular segments of kidney arterial tree. *Virtual and Physical Prototyping*, 2011, 6.4: 197-213.
- [87] AZADANI, Ali N., et al. Comparison of mechanical properties of human ascending aorta and aortic sinuses. *The Annals of thoracic surgery*, 2012, 93.1: 87-94.
- [88] ZHANG, Dong Sheng; AROLA, Dwayne D. Applications of digital image correlation to biological tissues. *Journal of Biomedical Optics*, 2004, 9.4: 691-699.
- [89] FAROTTO, Dario, et al. The role of biomechanics in aortic aneurysm management: requirements, open problems and future prospects. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2018, 77: 295-307.
- [90] SACKS, Michael S. Biaxial mechanical evaluation of planar biological materials. *Journal of elasticity and the physical science of solids*, 2000, 61.1: 199-246.
- [91] DESYATOVA, Anastasia; MACTAGGART, Jason; KAMENSKIY, Alexey. Constitutive modeling of human femoropopliteal artery biaxial stiffening due to aging and diabetes. *Acta biomaterialia*, 2017, 64: 50-58.
- [92] BRUNET, J., et al. A Novel Method for In Vitro 3D Imaging of Dissecting Pressurized Arterial Segments Using X-Ray Microtomography. *Experimental Mechanics*, 2021, 61.1: 147-157.
- [93] JERRAMS, Stephen; MURPHY, Niall; HANLEY, John. The significance of equibiaxial bubble inflation in determining elastomeric fatigue properties. *Advanced Elastomers, Technology, Properties and Applications*, 2012, 379-381.
- [94] DOYLE, Barry J., et al. Identification of rupture locations in patient-specific abdominal aortic aneurysms using experimental and computational techniques. *Journal of biomechanics*, 2010, 43.7: 1408-1416.
- [95] CHLUP, Hynek, et al. Constitutive equations for human saphenous vein coronary artery bypass graft. *International Journal of Biological and Life Sciences*, 2010, 6.4: 200-203.
- [96] SCHULZE-BAUER, Christian AJ; REGITNIG, Peter; HOLZAPFEL, Gerhard A. Mechanics of the human femoral adventitia including the high-pressure response. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2002, 282.6: H2427-H2440.
- [97] MICHALEC, Jiří. *Pružnost a pevnost I. České vysoké učení technické*, 2009.

- [98] SOKOLIS, Dimitrios P., et al. Regional distribution of circumferential residual strains in the human aorta according to age and gender. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2017, 67: 87-100.
- [99] VESELY, Jan, et al. Opening angle of human saphenous vein. In: *COMPLAS XIII: proceedings of the XIII International Conference on Computational Plasticity: fundamentals and applications*. CIMNE, 2015. p. 457-462.
- [100] HORNÝ, Lukáš. Patobiomechanika srdečněcévního systému I. díl [online]. 2014. cit [4.1.2021]. dostupné z: <http://users.fs.cvut.cz/~hornyluk/files/Patobiomechanika-srdcecevnihho-systemu-I.pdf>
- [101] LABROSSE, Michel R., et al. Mechanical characterization of human aortas from pressurization testing and a paradigm shift for circumferential residual stress. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2013, 17: 44-55.
- [102] ALASTRUÉ, Victor, et al. Assessing the use of the “opening angle method” to enforce residual stresses in patient-specific arteries. *Annals of biomedical engineering*, 2007, 35.10: 1821-1837.
- [103] LIMA, R. G., et al. Methodology for mechanical characterization of soft biological tissues: arteries. *Procedia Engineering*, 2015, 110: 74-81.
- [104] HOLZAPFEL, Gerhard A.; OGDEN, Ray W. Constitutive modelling of arteries. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2010, 466.2118: 1551-1597.
- [105] KAMENSKIY, Alexey V., et al. Passive biaxial mechanical properties and in vivo axial pre-stretch of the diseased human femoropopliteal and tibial arteries. *Acta biomaterialia*, 2014, 10.3: 1301-1313.
- [106] PLEŠEK, Jiří. Nelineární mechanika kontinua s příklady [online]. 2015. [cit. 4.1.2021]. Dostupné z: <https://www.it.cas.cz/wp-content/uploads/2020/03/mk.pdf>
- [107] HOLZAPFEL, Gerhard A. Nonlinear solid mechanics: a continuum approach for engineering science. *Meccanica*, 2002, 37.4: 489-490.
- [108] KIM, Beomkeun, et al. A comparison among Neo-Hookean model, Mooney-Rivlin model, and Ogden model for chloroprene rubber. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*, 2012, 13.5: 759-764.
- [109] KUMAR, Deepak; LATEEFI, Md Moonim; SARANGI, Somnath. A VISCO-HYPERELASTIC APPROACH TO MODELING THE CONSTITUTIVE BEHAVIOUR OF BIOLOGICAL TISSUE. In: *International Conference on Advanced Materials and Energy Technology (ICAMET)*. 2014.

- [110] CHAGNON, Grégory; REBOUAH, Marie; FAVIER, Denis. Hyperelastic energy densities for soft biological tissues: a review. *Journal of Elasticity*, 2015, 120.2: 129-160.
- [111] VESELÝ, J., et al. Constitutive modeling of human saphenous veins at overloading pressures. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2015, 45: 101-108.
- [112] GASSER, T. Christian; OGDEN, Ray W.; HOLZAPFEL, Gerhard A. Hyperelastic modelling of arterial layers with distributed collagen fibre orientations. *Journal of the royal society interface*, 2006, 3.6: 15-35.
- [113] BAEK, Seungik, et al. Theory of small on large: potential utility in computations of fluid–solid interactions in arteries. *Computer methods in applied mechanics and engineering*, 2007, 196.31-32: 3070-3078.
- [114] TAGHIZADEH, D. M.; BAGHERI, A.; DARIJANI, H. On the hyperelastic pressurized thick-walled spherical shells and cylindrical tubes using the analytical closed-form solutions. *International Journal of Applied Mechanics*, 2015, 7.02: 1550027.
- [115] SOMMER, Gerhard; HOLZAPFEL, Gerhard A. 3D constitutive modeling of the biaxial mechanical response of intact and layer-dissected human carotid arteries. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2012, 5.1: 116-128.
- [116] AURICCHIO, F.; CONTI, M.; FERRARA, A. How constitutive model complexity can affect the capability to fit experimental data: a focus on human carotid arteries and extension/inflation data. *Archives of Computational Methods in Engineering*, 2014, 21.3: 273-292.
- [117] WANG, Peitao, et al. The structural and cellular viability in cryopreserved rabbit carotid arteries. *Journal of Surgical Research*, 2006, 131.2: 241-251.
- [118] VIMROVÁ, Anežka. Vliv kryogenního skladování na mechanické vlastnosti cévních štěpů při kvazistatickém zatěžování. 2019. Bakalářská práce. ČVUT v Praze, Fakulta strojní.
- [119] STEMPER, Brian D., et al. Mechanics of fresh, refrigerated, and frozen arterial tissue. *Journal of Surgical Research*, 2007, 139.2: 236-242.
- [120] ADHAM, Mustapha, et al. Mechanical characteristics of fresh and frozen human descending thoracic aorta. *Journal of Surgical Research*, 1996, 64.1: 32-34.

12 Dodatky

Vzorek	μ [kPa]	β [°]	k_1 [kPa]	k_2 [-]	RMSE(p)	$ \bar{N}_{\text{mod}} $ [mN]
Nativ_2_A	0.1	38.39	23.92	154.8	0.098	0.47
Nativ_2_B	0.1	38.39	24.59	220.82	0.106	1.07
Nativ_2_C	3.53	38.96	5.77	85.74	0.034	0.2
Nativ_3_A	12.95	40.68	2.54	47.61	0.009	0.28
Nativ_3_B	2.77	40.68	2.77	34.07	0.02	0.66
Nativ_3_C	15.55	43.54	0.53	27.27	0.03	0.34
<i>Nativ_4_A</i>	<i>12.14</i>	<i>42.97</i>	<i>0.53</i>	<i>32.21</i>	<i>0.01</i>	<i>0.27</i>
<i>Nativ_4_B</i>	<i>112.94</i>	<i>38.96</i>	<i>0.23</i>	<i>218.86</i>	<i>0.046</i>	<i>1.34</i>
<i>Nativ_4_C</i>	<i>192.58</i>	<i>39.53</i>	<i>0.1</i>	<i>353.64</i>	<i>0.097</i>	<i>0.28</i>
Nativ_5_A	5.23	39.53	1.08	73.92	0.038	0.11
Nativ_5_B	0.1	45.26	0.1	27.51	0.195	7.4
Nativ_5_C	0.1	45.84	0.1	20.1	0.209	5.89
Nativ_6_A	10.43	38.96	3.85	126.1	0.023	0.27
Nativ_6_B	8.54	40.11	0.63	86.75	0.018	0.02
Nativ_6_C	16.9	36.67	137.72	484.3	0.045	0.13
KryoP_1_A	3.25	30.37	36.82	52.13	0.042	1.8
KryoP_1_B	4.88	30.94	6.11	35.06	0.016	0.06
KryoP_1_C	4.9	30.94	15.97	42.23	0.017	0.11
KryoP_2_A	8.9	38.39	5.14	55.88	0.025	2.22
KryoP_2_B	19.02	34.95	6.02	111.9	0.051	2.53
KryoP_2_C	0.1	36.67	18.38	42.07	0.018	0.2
KryoP_3_A	0.1	38.39	47.84	47.3	0.03	1.56
KryoP_3_B	0.1	38.39	39.63	53.21	0.016	1.55
KryoP_3_C	0.1	39.53	17.8	35.23	0.021	1.36
KryoP_4_A	13.09	36.10	8.16	20	0.015	1.61
KryoP_4_B	8.17	35.52	13.4	26.34	0.017	1.12
KryoP_4_C	24.15	36.10	1.75	20.34	0.026	2.74
KryoP_5_A	9.98	34.95	18.26	23.07	0.012	0.08
KryoP_5_B	6.61	40.11	2.03	14.44	0.015	0.51
KryoP_5_C	11.9	40.11	1.15	15.09	0.018	0.57
KryoP_6_A	0.1	40.11	26.38	33.95	0.036	1.45
KryoP_6_B	0.1	38.39	62.6	57.54	0.02	1.08
KryoP_6_C	0.1	40.11	23.24	36.96	0.014	1.36
KryoR_1_A	0.1	34.38	39.15	44.96	0.051	2.29
KryoR_1_B	5.13	37.24	0.51	21.94	0.02	1.94
KryoR_1_C	9.36	37.82	0.61	21.48	0.032	1.33

KryoR_2_A	28.74	38.39	1.45	26.14	0.033	1.2
KryoR_2_B	18.78	37.82	5.61	42.72	0.018	1.49
KryoR_2_C	28.91	36.67	3.28	24.5	0.032	2.04
KryoR_3_A	11.59	38.39	1.01	29.56	0.013	1.19
KryoR_3_B	9.42	38.96	0.5	23.46	0.019	0.57
KryoR_3_C	11.42	40.11	0.5	24.34	0.022	1.07
KryoR_4_A	0.1	37.82	21.9	48.34	0.019	0.3
KryoR_4_B	0.73	39.53	4.32	36.92	0.015	0.35
KryoR_4_C	2.17	38.96	5.49	39.79	0.017	0.408
KryoR_5_A	0.1	34.95	54.53	200.4	0.026	0.69
KryoR_5_B	0.1	34.95	98.79	324.09	0.03	0.59
KryoR_5_C	0.1	35.52	56.67	250	0.36	0.27
KryoR_6_A	3.53	34.95	15.31	10.61	0.01	0.34
KryoR_6_B	11.19	36.67	4.95	12.86	0.015	2.1
KryoR_6_C	17.03	35.52	8.49	16.42	0.022	3.17

Dodatek 1 – Tabulka materiálových parametrů vzorků při uvažování úhlu rozevření $\alpha = 90^\circ$. Zvýrazněny jsou odchýlená měření, která nebyla zahrnuta do průměrných hodnot jednotlivých skupin

Vzorek	μ [kPa]	β [°]	k_1 [kPa]	k_2 [-]	RMSE(p)	$ \bar{N}_{\text{mod}} $ [mN]
Nativ_2_A	0.1	38.39	25.85	145.87	0.1	0.44
Nativ_2_B	0.1	38.39	27.4	206.84	0.107	1.07
Nativ_2_C	2.54	38.96	6.45	79.86	0.034	0.27
Nativ_3_A	12.26	41.25	2.96	42.55	0.009	0.4
Nativ_3_B	2.14	40.68	3.17	30.99	0.021	0.77
Nativ_3_C	15.34	43.54	0.63	24.71	0.03	0.27
Nativ_4_A	11.87	43.54	0.7	27.58	0.01	0.19
Nativ_4_B	111.2	39.53	0.45	169.94	0.044	1.23
Nativ_4_C	193.37	40.11	0.1	305.74	0.087	0.51
Nativ_5_A	4.63	40.11	1.39	63.43	0.038	0.25
Nativ_5_B	0.1	45.84	0.1	25.15	0.18	7.06
Nativ_5_C	0.1	46.98	0.1	18.5	0.198	5.76
Nativ_6_A	9.11	39.53	4.92	108.78	0.23	0.14
Nativ_6_B	7.96	40.68	0.85	74.08	0.185	0.09
Nativ_6_C	0.74	36.10	192.26	447.26	0.045	0.07
KryoP_1_A	2.92	30.37	37.34	49.3	0.042	1.83
KryoP_1_B	4.61	31.51	6.35	32.92	0.017	0.08
KryoP_1_C	4.61	30.94	16.35	39.84	0.017	0.12
KryoP_2_A	7.96	40.11	5.84	50.32	0.025	2.35
KryoP_2_B	17.82	34.95	7.14	99.09	0.051	2.49

KryoP_2_C	0.1	37.24	19.09	39	0.019	0.08
KryoP_3_A	0.1	38.39	48.69	45.22	0.031	1.64
KryoP_3_B	0.1	38.39	40.61	50.68	0.017	1.63
KryoP_3_C	0.1	39.53	18.37	33.45	0.022	1.45
KryoP_4_A	12.67	36.67	8.46	19.13	0.015	1.62
KryoP_4_B	7.6	36.10	13.86	25.2	0.017	1.12
KryoP_4_C	23.84	36.10	1.87	19.24	0.026	2.75
KryoP_5_A	9.33	35.52	18.82	21.98	0.012	0.09
KryoP_5_B	6.28	40.11	2.19	13.61	0.015	0.4
KryoP_5_C	11.63	40.11	1.26	14.18	0.019	0.47
KryoP_6_A	0.1	40.11	27.04	32.3	0.037	1.51
KryoP_6_B	0.1	38.39	64.06	54.79	0.02	1.13
KryoP_6_C	0.1	40.11	24.03	35.03	0.014	1.44
KryoR_1_A	0.1	34.38	39.74	43.22	0.052	2.79
KryoR_1_B	4.86	37.24	0.57	20.59	0.02	1.86
KryoR_1_C	9.17	37.82	0.68	20.14	0.032	1.26
KryoR_2_A	28.39	38.39	1.58	24.69	0.033	1.23
KryoR_2_B	18.16	37.82	6	40.51	0.018	1.51
KryoR_2_C	28.57	36.67	3.47	23.31	0.032	2.05
KryoR_3_A	11.32	38.39	1.09	28.32	0.013	1.26
KryoR_3_B	9.13	38.96	0.54	22.44	0.19	0.65
KryoR_3_C	11.15	38.39	0.55	23.28	0.023	1.13
KryoR_4_A	0.1	37.82	23.06	43.16	0.02	0.55
KryoR_4_B	0.1	39.53	4.95	32.21	0.015	0.64
KryoR_4_C	1.36	39.53	6.28	34.65	0.017	0.68
KryoR_5_A	0.1	34.95	61.11	184.29	0.027	0.52
KryoR_5_B	0.1	34.95	116.71	303.507	0.032	0.43
KryoR_5_C	0.1	35.52	65.67	229.82	0.037	0.12
KryoR_6_A	3.13	34.95	15.59	10.17	0.01	0.34
KryoR_6_B	10.72	37.24	5.19	12.19	0.015	2.13
KryoR_6_C	16.6	36.10	8.8	15.6	0.22	3.17

*Dodatek 2 - Tabulka materiálových parametrů vzorků při uvažování úhlu rozevření $\alpha = 0^\circ$.
Zvýrazněny jsou odchýlená měření, která nebyla zahrnuta do průměrných hodnot jednotlivých skupin*

13 Seznam obrázků

Obrázek 1 – Grafické znázornění provedení angioplastiky a aplikace stentu [9]	10
Obrázek 2 Způsoby anastomózy cévní náhrady	11
Obrázek 3 – Mechanická odezva v obvodovém a axiálním směru získaná jednoosou tahovou zkouškou různých tepenných náhrad: A) Náhrady z pleteného a tkaného Dacronu, B) Náhrady z PTFE různých výrobců [20], upraveno	12
Obrázek 4 – Porovnání průchodnosti náhrad při použití autologní VSM a protéz z PTFE při femoropopliteálním a femorodistálním bypassu [21], upraveno	12
Obrázek 5 – Závislost přežití kryoprezervovaných buněk na rychlosti chlazení [32], upraveno ..	14
Obrázek 6 – Nejčastěji kryoprezervované části cévního systému [41]. A) Bifurkace aorty s iliakálními tepnami, B) Velké tepny dolní končetiny C) VSM	16
Obrázek 7 - Průběh krevního tlaku v cévním řečišti zdravého člověka v klidu [45]	17
Obrázek 8 – Samovolné rozevření tepenného kroužku po rozstřížení [47]	18
Obrázek 9 – Schematické znázornění struktury elastických tepen, převzato z [51], upraveno ...	20
Obrázek 10 – Schematické grafy mechanické odezvy elastického materiálu	21
Obrázek 11 – Schematické znázornění typické mechanické odezvy tepenné stěny v obvodovém směru při jednoosé tahové zkoušce [51], upraveno.	22
Obrázek 12 – Mechanická charakteristika cév.	23
Obrázek 13 – Zatěžovací křivky VSM při různých rychlostech zatěžování získaná inflačně-extenzním testem pro axiální (\square) a obvodový (\circ) směr [64]	24
Obrázek 14 – Vliv kryoprezervace na mechanické vlastnosti Tepen.	25
Obrázek 15 – Levá věnčitá tepna	26
Obrázek 16 – Ukázka stabilizace mechanické odezvy během předcyklování při jednoosé tahové zkoušce pásu tepenné stěny [80]	27
Obrázek 17 – Jednoosé tahové zkoušky cévních vzorků	28
Obrázek 18 – Vzorek stěny aorty při biaxiální tahové zkoušce upevněn pomocí háčků se zvýrazněnými body pro sledování deformace [89]	29
Obrázek 19 – Vzorky v experimentální sestavě pro provedení inflačních testů	31
Obrázek 20 – Úsek cévy v beznapětové konfiguraci Ω_0 , v konfiguraci bez zatížení Ω_1 a v konfiguraci po deformaci Ω_1 vlivem působení vnitřního přetlaku a axiální síly [51]. Upraveno	33
Obrázek 21 – Modely pro izotropní hyperelastický materiál při simulaci jednoosé tahové zkoušky	37
Obrázek 22 – Schematické znázornění šroubovic kolagenních svazků určujících preferovaný směr v cévní stěně. Preferovaný směr je natočen o úhel β od obvodového směru θ	39
Obrázek 23 – Vzorek nativní VSM s kroužky rozvinutými do roviny pro provedení rozměrové analýzy vzorku	45
Obrázek 24 – Grafy porovnání rozměrů jednotlivých skupin vzorků	46
Obrázek 25 – Ukázka zpracování dat z kamer. A) Snímek vzorku s vyznačenou oblastí zájmu pro detekci hran. B) Oblast zájmu převedena na binární mapu s vyznačenými hranami	47
Obrázek 26 - Schéma měřicího systému pro inflačně-extenzní test, převzato z [64], upraveno:	48

Obrázek 27 - Schematické znázornění inflačně-extensního testu. Převzato z [83], upraveno	48
Obrázek 28 – Schéma průběhu tlaku v rámci jednoho měření.....	49
Obrázek 29 – Mechanické charakteristiky získané pomocí inflačně-extenzních testů vzorků nativních VSM při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnějším poloměru	49
Obrázek 30 – Mechanické charakteristiky získané pomocí inflačně-extenzních testů vzorků pomalou rozmrazených kryoprezervovaných VSM při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnějším poloměru	50
Obrázek 31 – Mechanické charakteristiky získané pomocí inflačně-extenzních testů vzorků rychle rozmrazených kryoprezervovaných VSM při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnějším poloměru	50
Obrázek 32 – Ukázka části tabulky výchozích dat pro matematické modelování mechanické odezvy vzorků	51
Obrázek 33 – Modelová mechanická odezva pro vzorek Nativ_6 při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnitřním poloměru. Experimentálně změřené hodnoty jsou znázorněny černými body.....	55
Obrázek 34 – Modelová mechanická odezva pro vzorek KryoP_1 při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnitřním poloměru. Experimentálně změřené hodnoty jsou znázorněny černými body.....	56
Obrázek 35 – Modelová mechanická odezva pro vzorek KryoR_1 při frekvenci pulzace 0,04 Hz (modra), 0,5 Hz (zelená) a 1 Hz (žlutá). Obvodová deformace na vnitřním poloměru. Experimentálně změřené hodnoty jsou znázorněny černými body.....	56
Obrázek 36 – Porovnání materiálového parametru μ konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování	57
Obrázek 37 – Porovnání materiálového parametru β konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování	58
Obrázek 38 – Porovnání materiálového parametru k_1 konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování	58
Obrázek 39 – Porovnání materiálového parametru k_2 konstitutivního modelu pro jednotlivé skupiny vzorků a rychlosti zatěžování	58
Obrázek 40 – Modelová mechanická odezva získaná použitím HGO hyperelastického modelu při dosažení průměrných hodnot materiálových parametrů pro skupinu vzorků Nativ . Obvodová deformace na vnitřním poloměru	59
Obrázek 41 – Modelová mechanická odezva získaná použitím HGO hyperelastického modelu při dosažení průměrných hodnot materiálových parametrů pro skupinu vzorků KryoP . Obvodová deformace na vnitřním poloměru	60
Obrázek 42 – Modelová mechanická odezva získaná použitím HGO hyperelastického modelu při dosažení průměrných hodnot materiálových parametrů pro skupinu vzorků KryoR . Obvodová deformace na vnitřním poloměru	61

14 Seznam tabulek

Tabulka 1 - Charakteristika rozměrů cév v krevním řečišti [3], upraveno.....	18
Tabulka 2 – Modely pro hyperelastický materiál (bez Lagrangeova multiplikátoru).....	38
Tabulka 3 – Hodnoty naměřené při geometrické charakterizaci vzorků	45
Tabulka 4 – Hodnoty pravděpodobnosti p získané provedením t-testu pro analýzu geometrických rozměrů vzorků	46
Tabulka 5 – Vzorkovací frekvence měřících přístrojů pro různé rychlosti zatěžování	47
Tabulka 6 – Počáteční hodnoty a meze parametrů použité při optimalizační úloze	54
Tabulka 7 – Průměrné hodnoty materiálových parametrů a jejich směrodatné odchylky (SD) jednotlivých skupin vzorků při uvažování úhlu rozevření $\alpha = 90^\circ$	57
Tabulka 8 – Průměrné hodnoty materiálových parametrů a jejich směrodatné odchylky (SD) jednotlivých skupin vzorků při uvažování úhlu rozevření $\alpha = 0^\circ$	62
Tabulka 9 – Hodnoty pravděpodobnosti p párových oboustranných t-testů pro porovnání hodnot získaných optimalizací při dosazení $\alpha = 90^\circ$ a $\alpha = 0^\circ$	62
Tabulka 10 – Hodnoty pravděpodobnosti p dvouvýběrových oboustranných t-testů s různým rozptylem výběrů pro porovnání hodnot získaných optimalizací při dosazení $\alpha = 90^\circ$ a $\alpha = 0^\circ$..	62