

Západočeská univerzita v Plzni

Fakulta aplikovaných věd

Katedra mechaniky

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Experimentální modelování kloubů

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů.

V Plzni dne 13. srpna 2013

Mikaela Anna-Greta Aframova

Poděkování

Při této příležitosti bych ráda poděkovala vedoucímu bakalářské práce Prof. Ing. Jiřímu Křenovi, CSc. za motivaci ke studiu a vedení práce a Ing. Oldřichu Turečkovi, Ph.D., Ing. Liboru Loboenskému, Ph.D., MUDr. Otto Kottovi, CSc., Ing. Janu Krystkovi a Ing. Petře Kochové, Ph.D. za všechny cenné rady a věnovaný čas.

Abstrakt

Hlavním cílem této práce bylo ověření metod pro měření šelestí v kolenním kloubu, nalezení matematického popisu chování hyalinní chrupavky a určení mezních hodnot deformace, při kterých se chrupavka poruší. Nejdříve proběhl výzkum zaměřený na šelestění v kolenním kloubu. Bylo vyzkoušeno několik měřících metod a několik různých poloh snímačů. Toto měření proběhlo za pomoci akcelerometrů. Byla nalezena jedna metoda, která se bude v budoucnu vylepšovat a také byly navrženy nové postupy pro budoucí práci. Poté proběhl výzkum zaměřený na popis chování kloubní chrupavky při zátěži, která odpovídá skutečnému namáhání v organismu. Výsledné hodnoty byly převedeny do grafické podoby a následně aproximovány metodou nejmenších čtverců. Tímto způsobem byl nalezen matematický model popisující chování kloubní chrupavky v organismu. Nakonec byly naměřeny mezní hodnoty deformace a napětí, ve kterých dojde k poškození chrupavky. Bylo provedeno porovnání vlastností mezi chrupavkou z vepřového kolene, vepřové kyčle a lidské kyčle a zároveň mezi vzorky uchovanými ve fyziologickém roztoku a vzorky konzervovanými ve formolu.

Abstract

The main objective of this study is to prove rustle in knee joints measuring method, finding mathematical characterization of a hyaline cartilage behaviour and define limit deformation when the cartilage will be damaged. The very first step was the familiarization with rustle measuring. There were tried several measuring methods and some different locations of measuring sensors. The sensors used for this measuring were accelerometers. There was found one method which will be improved in a future research and there were also suggest new procedures for this research. Next step was to get familiar with study survey to mechanical properties of joint cartilage by loading which correspond to real loading in organism. Results were transformed, painted to a graph and approximated by least squares method. Mathematical characterization of joint cartilage behaviour in organism was found this way. At least there were define limit deformations and stresses when the cartilage will be damaged. Results of pig knee, pig hip and humman hip properties were compared. There were compared also results of samples kept in physiological solution (brine) and samples kept in formol (formalin).

Obsah

1. Úvod	2
2. Anatomie chrupavky	3
2.1 Chrupavka a její stavba	3
2.2 Vlastnosti chrupavky	4
2.3 Druhy chrupavek.....	4
2.3.1 Hyalinní chrupavka	5
2.3.2 Struktura kloubní chrupavky.....	5
2.4 Mechanické vlastnosti chrupavky	6
2.5 Degenerativní změny kloubní chrupavky	8
3. Experimentální měření.....	11
3.1 Měření šelestí v kolenním kloubu	11
3.1.1 Měření	11
3.1.2 Experimentální výsledky	16
3.1.3 Diskuse.....	26
3.2 Měření mechanických vlastností chrupavky	27
3.2.1 Měření mechanických vlastností hyalinní chrupavky.....	27
3.2.2 Způsob měření	29
3.2.3 Experimentální výsledky	30
3.2.4 Metoda nejmenších čtverců.....	35
3.2.4 Diskuse.....	36
4. Závěr	38

1. Úvod

Předložená bakalářská práce je úvodem do problematiky experimentálního modelování a měření mechanických vlastností intaktní kloubní chrupavky. Práce se skládá ze dvou základních částí, anatomického popisu chrupavky a vlastního experimentálního modelování. Těžištěm práce je druhá část, která je ještě rozdělena do dvou úrovní, a to na experimentální měření šelestí v lidském kolenním kloubu a měření mechanických vlastností vybraných typů chrupavky.

V rámci úvodu do problematiky se první část této práce zabývá anatomii chrupavky, jejími druhy, vlastnostmi a degenerativními změnami, ke kterým je vztahován zbytek této práce. Je zde popsáno, z čeho se chrupavka skládá a jaké má vlastnosti. Dále jsou zde popsány mechanické vlastnosti chrupavky.

V rámci experimentálního měření šelestí v lidském kolenním kloubu byla snaha najít relevantní závislosti mezi naměřeným šelestem kloubu a jeho stupněm poškození. Původním cílem experimentu bylo ukázat závislosti mezi šelestem a stupněm artrózy v kolenním kloubu, resp. na základě experimentálně naměřeného šelestu stanovit stupeň poškození kloubu. Nicméně kvůli nedostatku času a vhodných probandů s prokazatelnou artrózou, byl cíl bakalářské práce modifikován na zjištění, zda lze rozlišit zdravý kloub od kloubu nemocného. Pokud se podaří prokázat rozdíl mezi zdravým a nemocným kloubem, tak na tuto práci naváže výzkum, který se bude zabývat artrotickými pacienty a stupněm poškození jejich kloubů. Tato samotná práce uvádí pouze možné základní metody měření šelestí v kolenním kloubu a zjišťování mechanických vlastností hyalinní chrupavky.

Připomeňme, že artróza je degenerativní změna kloubu způsobená osifikací chrupavky a jejím úbytkem. Podle rozsahu úbytku chrupavky rozlišujeme čtyři stupně artrózy. V dnešní době se stupeň artrózy dá určit například z rentgenového snímku nebo při artroskopii. První dva stupně jsou méně bolestivé. Třetí a čtvrtý stupeň artrózy se obvykle řeší radikálně aplikací endoprotézy, resp. umělého kloubu.

V oblasti experimentálního měření mechanických vlastností chrupavky je bakalářská práce zaměřena na chování chrupavky při opakovaném zatížení napodobující skutečné reálné zatěžování chrupavky v organismu. Dále je tato část zaměřena na zjišťování mezní deformace a napjatosti před porušením chrupavky. V této práci bylo analyzováno několik vepřových vzorků, a to jak z kolenního, tak i z kyčelního kloubu a dále několik vzorků lidské kyčle. Všechny vzorky chrupavky byly extrahovány z in vitro intaktních kloubů s tím, že vepřové vzorky byly dodány ve fyziologickém roztoku, kdežto lidské vzorky byly konzervované ve formolu. Z tohoto hlediska byl porovnáván nejen rozdíl mezi lidskými a vepřovými vzorky, ale také rozdíl mezi "čerstvými" a konzervovanými vzorky.

Tuto bakalářskou práci je nutno chápat spíše jako zkušební projekt a skutečný úvod do problematiky experimentálního modelování chrupavky. Cílem práce je především osvojit si základní metody experimentálního měření šelestí v kloubu a experimentálního měření základních mechanických vlastností chrupavek. Práce je ilustrována mimo jiné za pomoci obrázků z následujících monografií a knížek: [6], [7], [9], [10].

Do budoucna se samozřejmě musí experimentálně měřit a vyhodnotit podstatně více lidských vzorků chrupavky s různými stupni artrózy.

2. Anatomie chrupavky

2.1. Chrupavka a její stavba

Chrupavka je tuhá pojivová tkáň tvořená mezibuněčnou hmotou, jejímiž základními stavebními složkami jsou buňky, tzv. chondrocyty, a kolagenní vlákna, která tyto buňky obklopují. Celá chrupavka je pak pokryta tenkou vazivovou vrstvou, tzv. perichondriem, které nahrazuje cévní zásobení a plní vyživovací funkci chrupavky [2].

Perichondrium je složeno z tuhého kolagenního vaziva a elastických vláken a dále obsahuje velké množství krevních a lymfatických cév a také nervů. Jeho (základní) funkcí je zásobování chrupavky novými buňkami (chondrocyty) a výživa těchto buněk. Přechod perichondria v chrupavku je plynulý, v důsledku čehož je perichondrium od chrupavky jen těžko oddělitelné. Zvláštní skupinu mezi chrupavkami tvoří chrupavky kloubní, které perichondrium neobsahují.

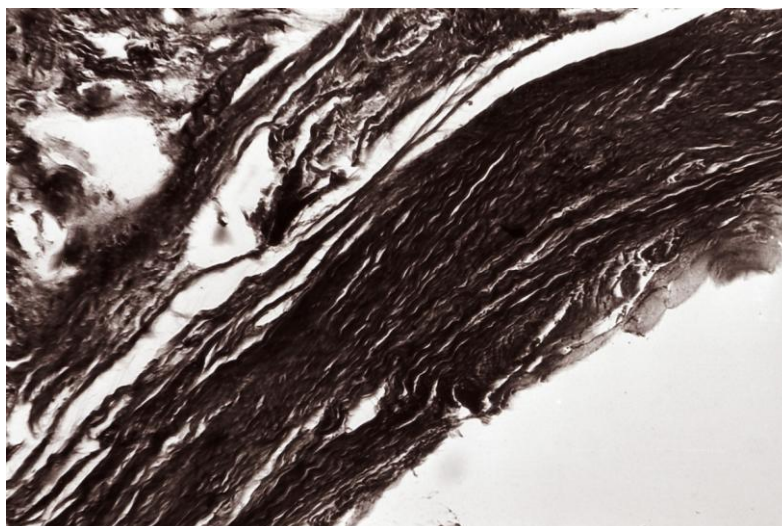
Mezibuněčná hmota, tzv. matrix, je amorfního původu a kromě vysokého podílu vody obsahuje také proteoglykany, glykoproteiny, kolageny a kyselinu hyaluronovou. Zatímco mezibuněčná hmota tvoří až 90 % celkové hmotnosti chrupavky, zbylých 10 % její hmotnosti je tvořeno chondrocyty [9].

Chondrocyty jsou jednojaderné buňky, jejichž tvar závisí převážně na umístění v chrupavce. Zatímco v blízkosti perichondria se nacházejí chondrocyty vřetenovitého tvaru, se zvyšující se vzdáleností je jejich tvar spíše kulovitý. Chondrocyty se v době vývoje derivují z jedné mezenchymové buňky. V tomto období zůstávají pohromadě a tvoří tzv. izogenetické skupiny složené ze dvou až osmi buněk. Tyto skupiny bývají kulovitého tvaru a mají společné pouzdro. Syntéza a stabilita vnitřního prostředí mezibuněčné hmoty je zprostředkována chondrocyty.

Nejvýznamnější součástí chondrocytů je bazofilní cytoplazma, která je tvořena organelami, lipidovými kapkami a granulami glykogeny. Chondrocyty jsou vyživovány difúzí látek mezibuněčné hmoty a jejich metabolismus je kvůli nepřítomnosti cév anaerobní.

Kolagenní vlákna mají bílou barvu, pro kterou bývají nazývána "bílá vlákna" (obr. 2.1.1). Tato vlákna, jak již název napovídá, obsahují protein kolagen. Jsou uložena v hydratovaném gelu, který je tvořen převážně glykoproteinem a proteoglykany. Kolagenní vlákna jsou různě dlouhá a jejich šířka se pohybuje mezi 1 a 20 [μm]. V tkáních mají rovný nebo vlnitý průběh a mohou vytvářet buď řídké sítě, nebo husté svazky. Vlákna jako taková jsou jen velmi málo deformovatelná maximálně o 4 %, jejich mez pevnosti v tahu je 50–100 [MPa] a modul pružnosti v tahu $E=10^3$ [MPa], ale zároveň jsou měkká a ohebná. Jejich složitá stavba je tvořena tenkými vlákny, tzv. *fibrily* (0.3 až 0.5 [μm]), které určují vlastnosti chrupavky. Vznikají polymerizací základní hmoty chrupavkových buněk (prekursorů) a skládají se z mikrofibril (20 až 100 [nm]). Mikrofibrily jsou příčně pruhované (periodické) v intervalu 64 [nm], plst'ově uspořádané a tvoří vláknitou složku chrupavky [1].

Kolagen již není pokládán za jednoduchý protein, jako tomu bylo v minulosti. Existuje bezmála 20 typů kolagenu, přičemž prvních pět typů je nejdůležitějších. Typ I v organismu zastupuje 90 % objemu a vyskytuje se zejména ve škáře, šlachách, zubovině, kostech a vazivu. Typ II je zastoupen především v hyalinní a elastické chrupavce. Typ III je obsažen v retikulárních vlákních a laminae fibroreticulares bazálních membrán. Typ IV se vyskytuje v laminae basales v bazálních membránách a nakonec typ V nalezneme např. v oblastech plodu.



Obr. 2. 1. 1. Kolagenní vlákna

Kyselina hyaluronová slouží k udržování vnitřního prostředí a viskoelasticitě chrupavky. Je obsažena v pojivových, epiteliálních a nervových tkáních. Větší množství obsahuje oční sklivce, synoviální tekutina a kůže. Tvoří také jednu z hlavních složek mezibuněčné tekutiny. Mimo jiné se také používala k léčbě popálenin a kožních vředů.

Glykoproteiny zajišťují přilnavost chondrocytů ke kolagenové síti. Je to bílkovina obsahující sacharidy mající převážně neutrální charakter. Některé glykoproteiny tvoří součást buněčné membrány.

2.2. Vlastnosti chrupavky

Pevnost chrupavky vůči tahu a tlaku je dána počtem tzv. *chondronů*. Chondrony jsou obklopeny svalovými vlákny a v chrupavce mají funkci malých polštářků.

Chondrony jsou celky obsahující chondrocyty izogenetických skupin a dvorce mezibuněčné hmoty. Jejich rozmístění je závislé na tlakových poměrech. Při tlaku působícím přímo na povrch tkáně (pod perichondriem) se chondrony rozkládají do ploch a v řezu jsou pak vidět izogenetické řady. Naopak při působení tlaku všemi směry se chondrony difúzně rozptylují.

Přestože je chrupavka vyživována pouze difúzí cév perichondria, a její metabolismus je tudíž anaerobní (viz výše), může z důvodu nedostatečné výživy docházet k její degeneraci. Tato degenerace se nazývá *asbestová degenerace* a jejími znaky jsou úbytek amorfní hmoty, ztráta příčného pruhození kolagenních fibril a matný vzhled chrupavky.

2.3. Druhy chrupavek

Chrupavka se podle morfologických znaků (množství buněk, mezibuněčné hmoty a druhu a množství fibril) dělí do čtyř skupin:

- chrupavka buněčná,
- chrupavka hyalinní,
- chrupavka elastická,
- chrupavka vazivová.

V této práci se budeme zabývat pouze hyalinní chrupavkou, protože tato pokrývá většinu kloubních ploch.

2.3.1. Hyalinní chrupavka

Hyalinní chrupavka bývá díky svému poloprůhlednému vzhledu také nazývána chrupavkou sklovitou. Její barva je mléčná, lehce namodralá. Vzhledem k tomu, že je až z 95 % tvořena mezibuněčnou hmotou, může se ve světelném mikroskopu zdát homogenní.

Hyalinní chrupavka, s výjimkou chrupavek kloubních, je pokryta perichondriem. Její chondrocyty, které mají kuloidní tvar, se v mezibuněčné hmotě objevují jednotlivě. Samostatně se vyskytující chondrocyty jsou součástí zhuštěné mezibuněčné hmoty. Tento jev se nazývá *lakuna*. Ve svém dalším vývoji se chondrocyty začínají dělit a i nadále zůstávají v malých skupinkách zapouzdřené ve zhuštěné mezibuněčné hmotě. Skupiny chondrocytů vzniklé opakovaným dělením se nazývají *izogenetické skupiny*. Tyto skupiny v místech osifikace nalezneme v charakteristických buněčných sloupcích.

Co se umístění v lidském těle týče, hyalinní chrupavka tvoří převážně kloubní chrupavku, přední části žeber, mečovité výběžek hrudní kosti, část nosní přepážky, zevní nos, skoro celý hrtan, průdušnici a bronchy a v době prenatalního vývoje tvoří skelet plodu.

Kloubní chrupavka je speciální typ chrupavky hyalinní. Jedná se o speciální mezenchymální tkáň, ve které se mezibuněčná hmota nachází v pevné konzistenci. Mezibuněčná hmota má v kloubní chrupavce důležitou roli, protože poskytuje chrupavce pevnost a pružnost. Tím se chrupavka stává odolná vůči tlaku vzniklém při zatěžování, a to bez trvalé deformace. Chrupavka má hladký povrch, který snižuje tření. Díky těmto vlastnostem tlumí chrupavka nárazy, a kosti se tak mohou volně pohybovat, aniž by se o sebe třely.

Intraartikulární chrupavka je pokryta tzv. *chondrální membránou*, která je tvořena vrstvou polysacharidů a jež plní funkci kluzké plochy mezi jednotlivými částmi kloubu. Díky tomu vzniká mezi dvěma chrupavkami tření až pětkrát nižší než mezi dvěma ledy.

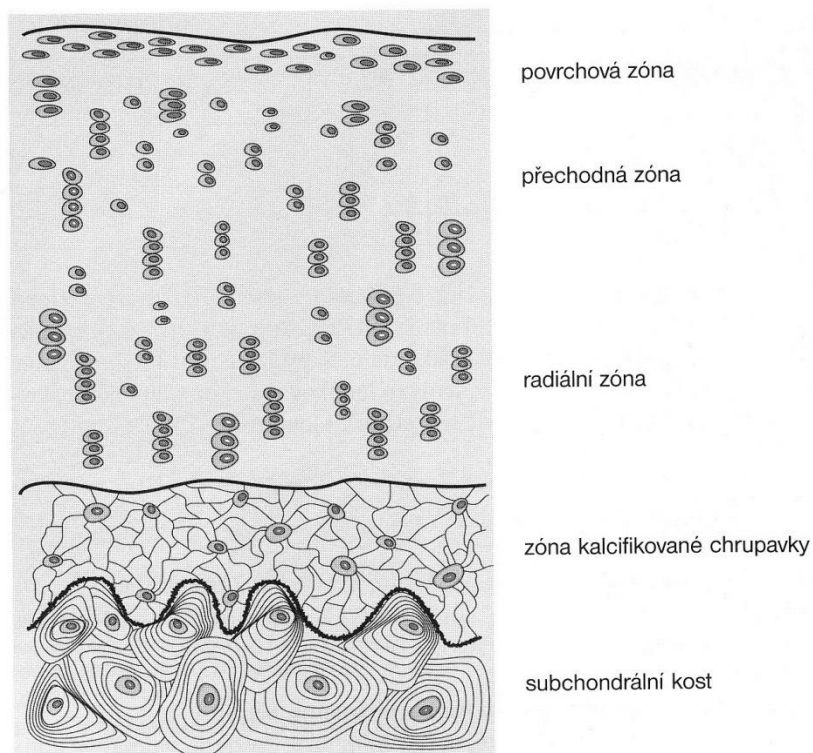
Kloubní chrupavka dlouhodobě odolává cyklickému zatěžování (přibližně 10^6 cyklů pohybů za rok), což vypovídá o její trvanlivosti a odolnosti. Je schopna odolávat vysokému kontaktnímu tlaku odpovídajícímu čtyřnásobku celkové tělesné hmotnosti organismu [9][1].

2.3.2. Struktura kloubní chrupavky

Chrupavka se skládá ze čtyř vrstev:

- povrchové vrstvy,
- střední (přechodné) vrstvy,
- hluboké (radiální) vrstvy,
- zvánatělé (mineralizované, zóna kalcifikované chrupavky) vrstvy.

Každá vrstva se liší v řadě parametrů, avšak jednotlivé vrstvy v sebe přecházejí a neutvářejí tedy přesně ohraničené celky. Vrstvy se liší jak tvarem, velikostí a orientací buněk vzhledem ke kloubnímu pouzdru, tak metabolickou aktivitou (obr. 2.3.2.1) [9][7].



Obr. 2.3.2.1. Vrstvy hyalinní chrupavky

2.4. Mechanické vlastnosti chrupavky

Hyalinní chrupavka, která je z hlediska biomechaniky nejvýznamnější, tvoří tenkou vrstvu v průměru tloušťky 2–3 [mm] [7]. Chrupavka je považována za látku nehomogenní, anizotropní, stlačitelnou, vykazující velké deformace. Vykazuje creep a relaxaci. Obsahuje až 65–85 % vody, která může být při zatěžování vytlačována. Obsah vody se ve vrstvách chrupavky mění. Od povrchu, kde je vody nejvíce, obsah vody směrem do nitra chrupavky klesá. V průběhu zatěžování se voda v chrupavce přemisťuje, a to dvěma způsoby:

- postup kapaliny napříč chrupavkou v důsledku tlakového gradientu,
- pohyb vnitřní kapaliny (tzv. vmezeření) uvnitř chrupavky vlivem stlačování.

Oba jevy probíhají zároveň a vzájemně se ovlivňují. Stlačování vrstvy chrupavky vyvolává vytlačování vmezeřené kapaliny a snížení propustnosti napříč chrupavkou.

Prostup kapaliny napříč se popisuje Darcyho zákonem [7]:

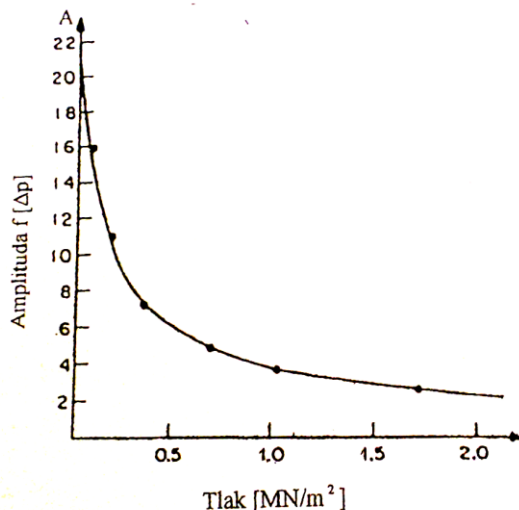
$$\dot{Q} = \frac{Ak_z \Delta p}{h}, \quad (2.4.1.)$$

kde $Q[m^3/s]$ je průtokový objem, $A[m^2]$ je plocha povrchu chrupavky, $h[m]$ je její tloušťka, $\Delta p[Nm^{-2}]$ je tlakový spád a $k_z[m^4/Ns]$ je zdánlivá propustnost.

Hodnota k_z je proměnná - na povrchu činí $0,25 \cdot 10^{-15}$, ve střední vrstvě $0,38 \cdot 10^{-15}$ a v hluboké vrstvě $0,15 \cdot 10^{-15}$. Kromě vzdálenosti od povrchu závisí hodnota k_z také na deformaci chrupavky v příčném směru. Platí zde vztah

$$k_z = f(\Delta p)e^{\alpha \varepsilon}. \quad (2.4.2)$$

Průběh funkce $f(\Delta p)$ je znázorněn na obr. 2.3.2.2.



Obr. 2.3.2.2. Průběh funkce $f(\Delta p)$ [7]

Jak již bylo uvedeno výše, chrupavka má výrazné viskoelastické vlastnosti (creep a relaxaci), a to díky pohybu vmezeřené kapaliny. Při creepovém zatížení dochází k vytlačování této kapaliny, kdežto při relaxaci dochází pouze k redistribuci této kapaliny [7].

Pro creepový posuv $u(t)$ na povrchu vzorku chrupavky o tloušťce h je možné použít vztah [7]

$$\frac{u(t)}{h} = \frac{P_0}{H \left[1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{\alpha_n} \exp\left(-\frac{\alpha_n H k t}{h^2}\right) \right]}, \quad (2.4.3)$$

kde P_0 je působící síla, H je konečná tloušťka vzorku a k je propustnost (permeabilita) a pro součinitel α_n platí

$$\alpha_n = \left(n + \frac{1}{2}\right)^2 \pi^2.$$

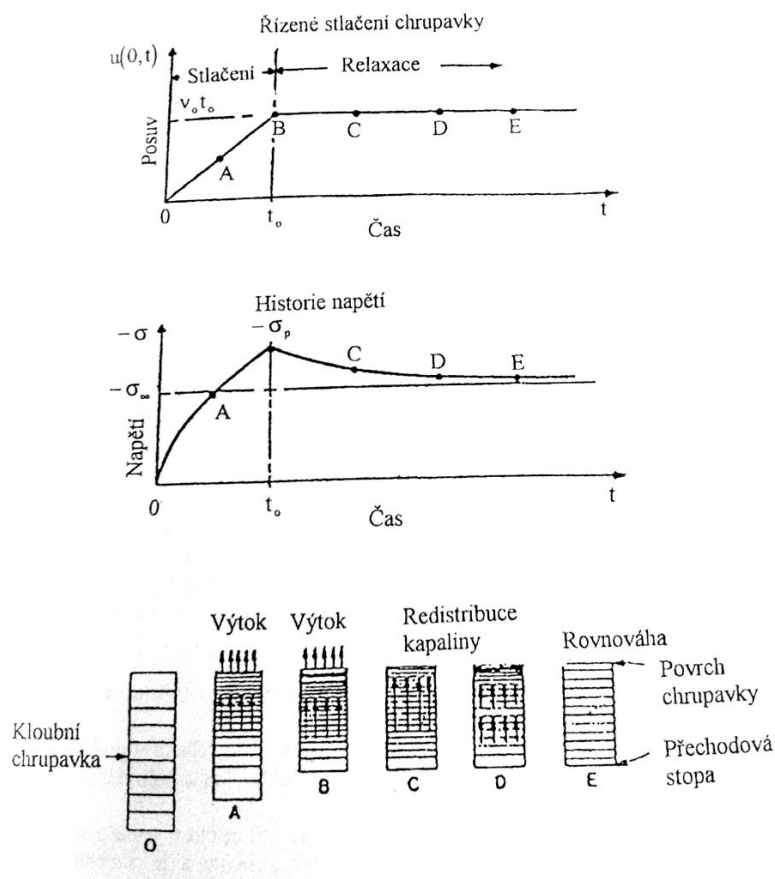
Tahová napětí v chrupavce vznikají při kontaktním namáhání chrupavky v celé její hloubce. Pro jeho popis se používá vztah [7]

$$\frac{d\sigma}{d\varepsilon} = B\sigma + C, \quad (2.4.4)$$

kde B, C jsou materiálové konstanty, σ je napětí a ε je deformace, resp.

$$\sigma = A(e^{B\varepsilon} - 1), C = A.B, \quad (2.4.5)$$

kde A je integrační konstanta.



Obr. 2.3.2.3. Odezva kloubní chrupavky na zatížení [7]

2.5. Degenerativní změny kloubní chrupavky

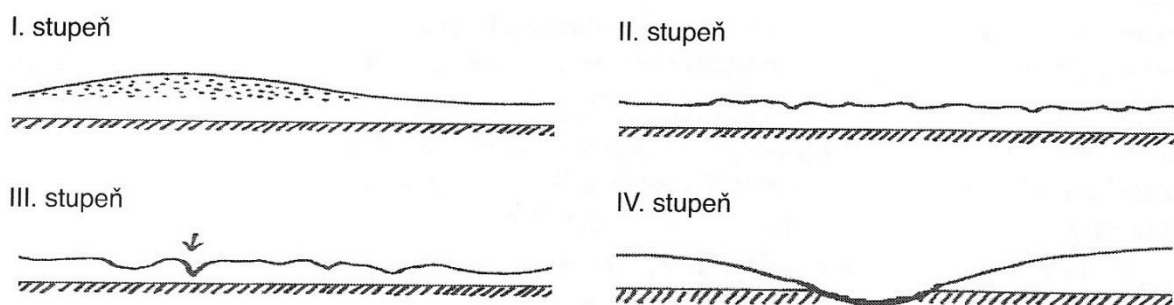
Jednou ze závažných degenerativních změn kloubní chrupavky je *artróza*. Při artróze, která postihuje především nosné klouby, chrupavka měkne, ztrácí lesk, vznikají v ní trhliny, deskvamace a ulcerace a v konečné fázi chrupavka zcela vymizí. Jedná se o takové selhání kloubu, při kterém chrupavka, subchondrální kost a synoviální vrstva kloubního pouzdra nejsou schopny realizovat biomechanické nároky kladené na kloub (ze sborníku MUDr. Kotta, [10]). Vazy a menisky podléhají těžkým regresivním změnám a ve finálních stádiích artrózy zcela vymizí [6].

Rozeznáváme čtyři stupně artorózy:

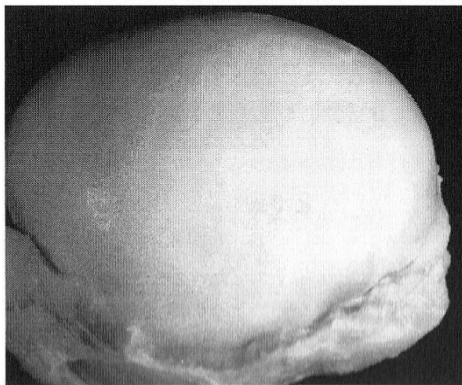
- I. stupeň
Chrupavka na povrchu rozvláknuje, ztrácí hedvábný lesk.
- II. stupeň

Povrchové vrstvy chrupavky jsou více obroušeny, defekty jsou patrné po celé povrchové vrstvě a zasahují až ke střední vrstvě. Na obvodu chrupavky se začínají tvořit nízké a zaoblené kostní výrůstky - osteofyty.

- III. stupeň
Na kloubní chrupavce se tvoří hlubší léze, zasahující do zevně hluboké vrstvy, osteofyty viditelně přesahují okraje styčných ploch a kloubní konec se může deformovat.
- IV. stupeň
V tomto stádiu dochází k obnažení subchondrální kosti, která reaguje přeměnou ve vazivovou tkáň. Osteofyty jsou v tomto stupni artrózy nejvýraznější a takto postižená chrupavka má ostruhovitý vzhled.



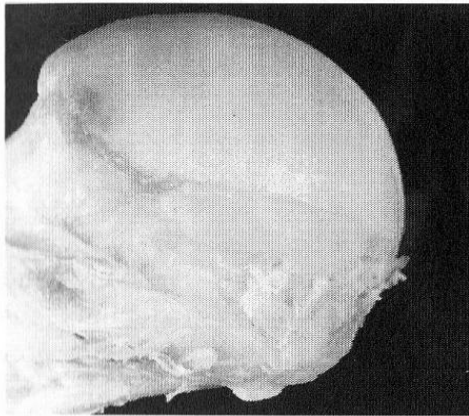
Obr. 2.5.1. Schematické znázornění čtyř základních stupňů artrózy



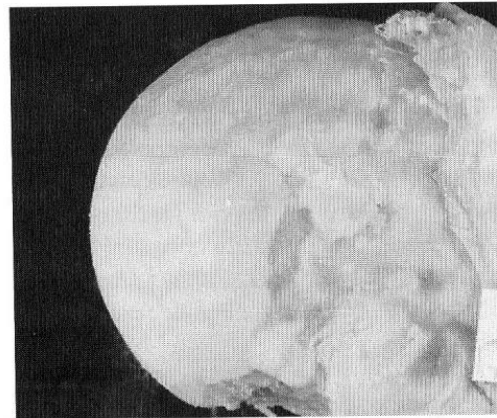
Obr. 2.5.2. Zdravý kloub



Obr. 2.5.3. Kloub postižený (1. stupeň artrózy)



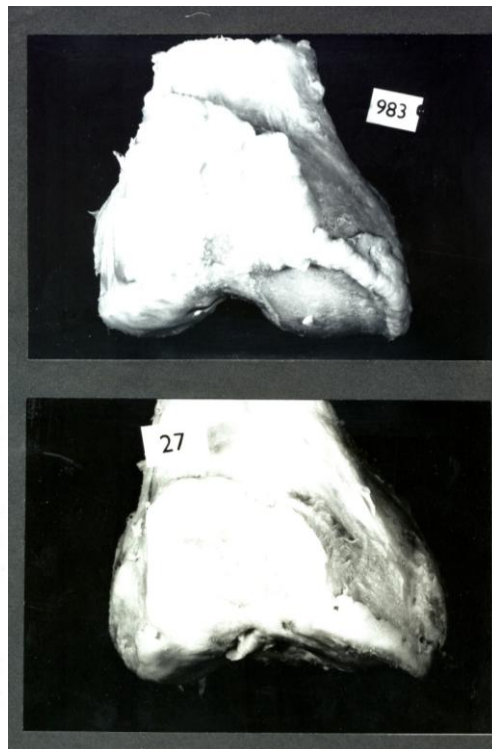
Obr. 2.5.4. Kloub postižený
(2. stupeň artrózy)



Obr. 2.5.5. Kloub postižený
(3. stupeň artrózy)



Obr. 2.5.6. Kloub postižený
(4. stupeň artrózy)



Obr. 2.5.7. Artróza kolenního kloubu

3. Experimentální měření

Pro tuto práci byla uskutečněna experimentální měření dvojího druhu. Prvním z nich bylo měření šelestí v kolenním kloubu, v rámci kterého jsme se pokoušeli najít metodu vhodnou pro rozpoznání rozdílu mezi zdravým a nemocným kloubem. Tato metoda by v budoucnu mohla sloužit k určení zdravotního stavu kloubu (tj. zda je kloub zdravý či poškozený) a jeho případné léčebné terapie.

V druhé části výzkumu jsem se pak zabývala experimentální metodou pro určení mechanických vlastností chrupavky. Tato metoda by v dalším výzkumu mohla být použita pro zjišťování mechanických vlastností chrupavek s různým stupněm postižení artrózou.

3.1. Měření šelestí v kolenním kloubu

Za účelem vyvinutí nové neinvazivní metody pro určení stavu poškození kolenního kloubu bylo provedeno experimentální měření, jehož průběhem a výsledky se budeme zabývat v následující části této práce.

3.1.1. Měřicí smyčka

K měření šelestí v kolenním kloubu byl použit jednoosý akcelerometr (typ BK4507) a mikrofon pro tiché měření s nízkým šumovým pozadím (typ 4955), snímající od 2 [Hz] do 20 [kHz]. Data získaná z akcelerometru i mikrofonu byla poté zpracována analyzátozem (typ BK3560C), pomocí FFT (Fast Fourier Transformation) a třetinooktanové (CPB) analýzy. Pro FFT analýzu bylo měřeno 6 400 spektrálních čar s šířkou pásma 6.4 [kHz] pro průměr 10 spekter. Citlivost akcelerometru byla 10 [mV / ms⁻²].

Jak bude později vysvětleno v odstavci 3.1.2., stěžejní pro tuto práci se stala FFT analýza. Naměřená data byla zpracována analyzátozem podle následujících matematických vztahů pro Fourierovu diskretní transformaci [8]:

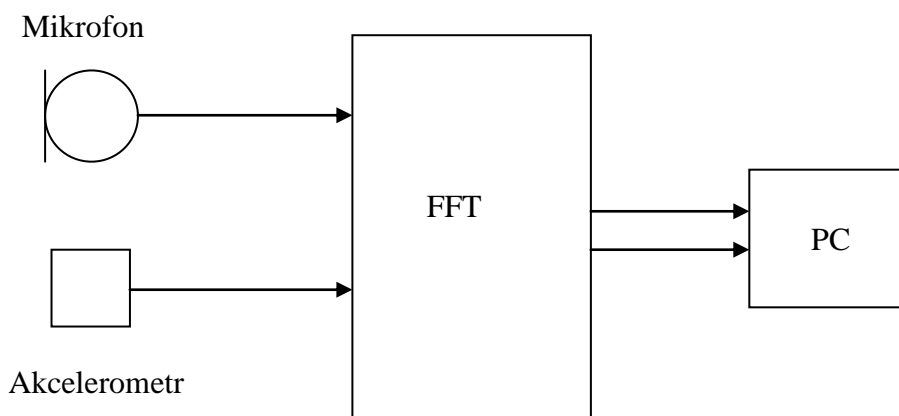
$$X(\omega) = \frac{1}{T_s} \sum_{i=1}^N x[n] e^{\frac{-j2\pi kn T_s}{N}}, \quad (3.1.1.1)$$

kde $x[n]$ je hodnota n -tého prvku diskretní posloupnosti, T_s je vzorkovací perioda, N je počet prvků naměřené posloupnosti a j je imaginární jednotka. Platí

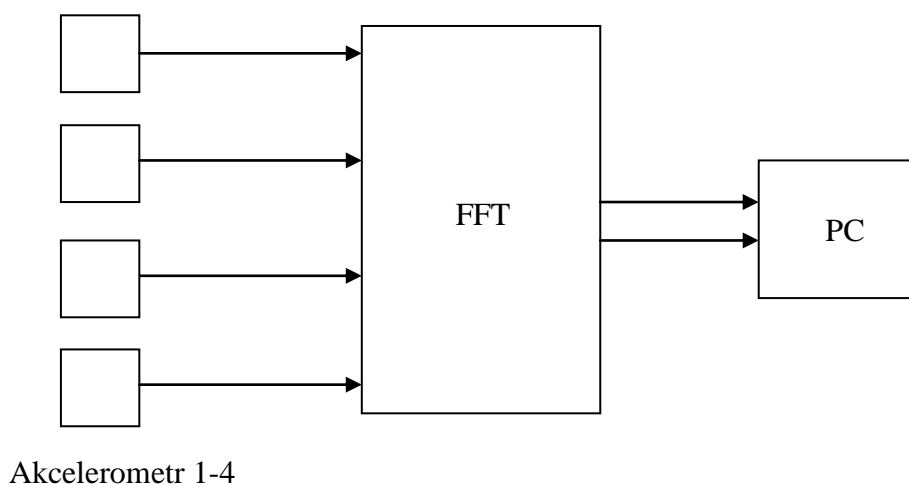
$$X(\omega) = \int_0^T x(t) e^{-j\omega t} dt, \quad (3.1.1.2)$$

kde $\omega = 2\pi f$, f je frekvence, t je čas a $x(t)$ je signál v časové oblasti a j je imaginární jednotka. Tento vztah se používá pro spojité funkce.

Při vlastním experimentu bylo aplikováno několik základních metod měření šelestí v lidském kolenním kloubu. Na obr. 3.1.1.1 je znázorněno schéma měření pro metodu 1 a na obr. 3.1.1.2 pak schéma měření metody 2 a 3.



Obr. 3.1.1.1. Schéma měření (metoda 1)



Obr. 3.1.1.2. Schéma měření (metody 2 a 3)

Metoda 1

Měření probíhalo v bezdrazové komoře za použití akcelerometru a mikrofonu. Akcelerometr byl umístěn na umělohmotné podložce v tzv. sáňkách a připevněn pomocí saténové stužky nad čěšku (obr. 3.1.1.3). Zrychlení bylo snímáno akcelerometrem v kolmém směru. Mikrofon byl umístěn distálně od kolenního kloubu ve vzdálenosti přibližně 5 cm (na mediální straně dolní končetiny).

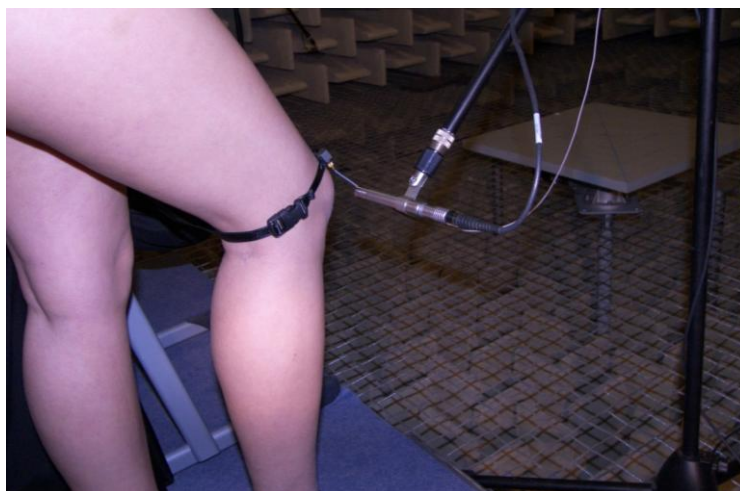
Měřený proband byl usazen na židli tak, aby se nedotýkal podlahy (obr. 3.1.1.3). Snímán byl kývavý pohyb bérce směrem dopředu a zpět. Dále byl měřen pohyb ve stoje,

kdy se proband opíral o židli, stojnou nohu měl nataženou a měřenou nohu mírně pokrčenou (obr. 3.1.1.4). Pohyb bérce byl opět kyvadlový, ale tentokrát s větším rozsahem.

Vzhledem k použití mikrofону ke snímání zvuku bylo potřeba odstranit nežádoucí šum (snížit "hlukové pozadí" na minimum). Z tohoto důvodu měl proband v průběhu snímání zadržovaný dech. Při snímání zvuku v sedě byla židle pokryta saténovou látkou, která sloužila ke snížení hluku způsobeného třením pokožky o židli.



Obr. 3.1.1.3. Měření šelestí v kloubu (metoda 1, poloha v sedě)



Obr. 3.1.1.4. Měření šelestí v kloubu (metoda 1, poloha ve stoje)

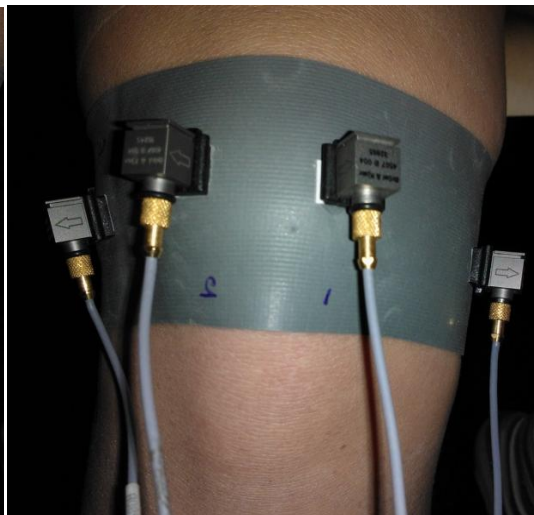
Metoda 2

Jak se ukázalo při prvním měření, nemá moc velký smysl snímat zvukový záznam "šelestí". Protože zvukový záznam v této metodě nebyl pořizován, bylo nejprve změřeno pozadí pro porovnání rozdílu mezi vibracemi naměřenými v situaci, kdy proband dýchá

a kdy má zadrženy dech. Takto bylo dokázáno, že když proband dýchá, netřese končetinou, a tudíž není nutné při měření zadržovat dech. Pro rychlejší určení nejlepší polohy snímání vibrací byla druhá metoda upravena na snímání za pomoci čtyř jednoosých akcelerometrů a měření bylo provedeno pouze v sedě. V této metodě byly akcelerometry připevněny k Esmarchovu obinadlu ve dvou různých kombinacích. Samotné obinadlo bylo připevněno k noze pomocí suchých zipů, aby nikde nevznikaly nežádoucí přehyby. Umístění a realizace tohoto měření jsou znázorněny na obr. 3.1.1.5 a obr. 3.1.1.6.



Obr. 3.1.1.5. Uspořádání akcelerometrů (metoda 2, poloha 1)



Obr. 3.1.1.6. Uspořádání akcelerometrů (metoda 2, poloha 2)

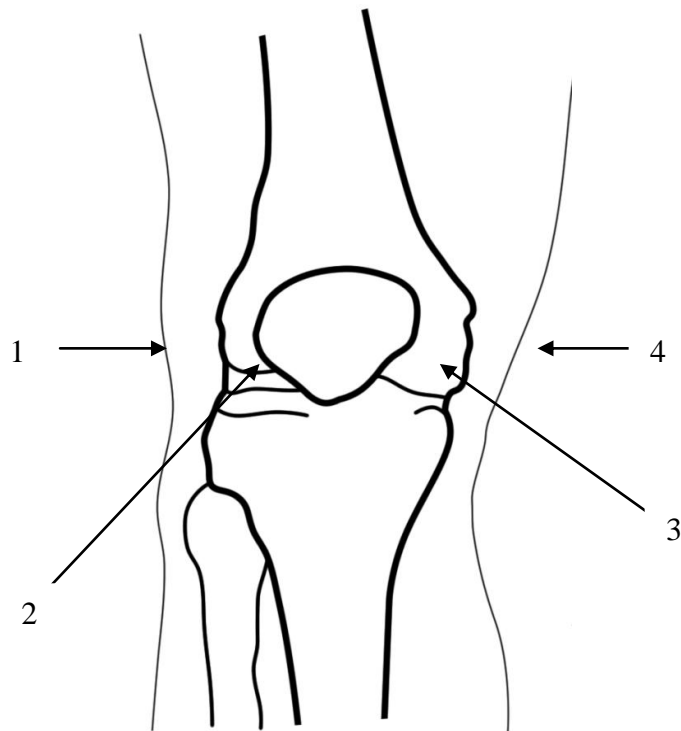
Měření bylo stejné jako v metodě 1, pohyb bérce kýmavým pohybem, a to pohyb se dvěma různými rychlostmi a dále pak byly měřeny jednotlivé výkopy.

Metoda 3

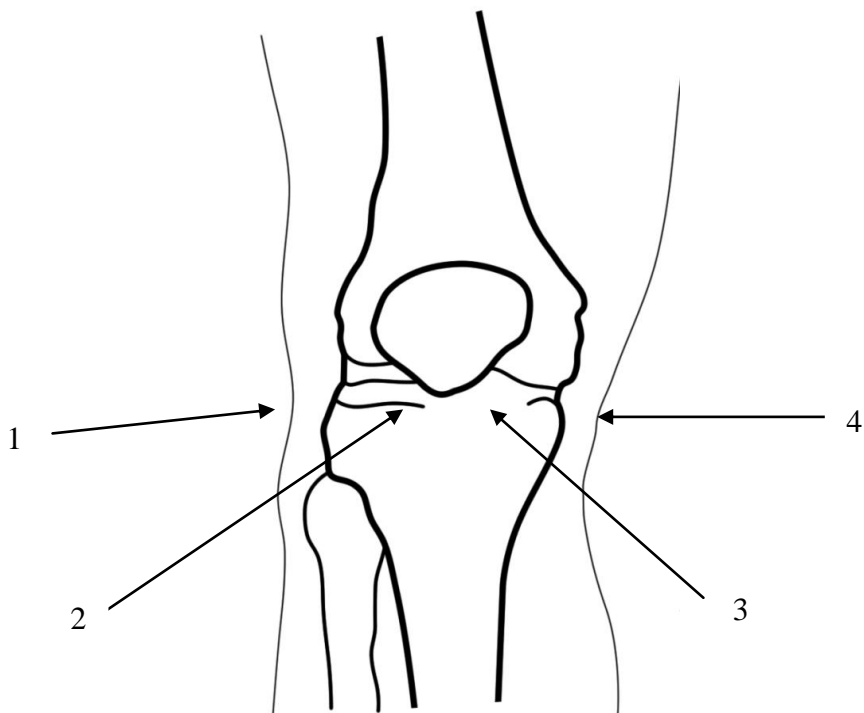
Třetí metoda je shodná s metodou 2 jen s tím rozdílem, že akcelerometry nebyly připevněny na Esmarchovo obinadlo, nýbrž byly umístěny pod ním. Esmarchovo obinadlo je vyrobeno z gumy, což může mít za následek pohlcování důležitých informací potřebných pro vyhodnocení. Z tohoto důvodu bylo zapotřebí umístit akcelerometry co nejbližší k odhadovanému centru potíží bez použití jakýchkoli mezičlánků. Stažení Esmarchova obinadla přes akcelerometry sloužilo nejen k udržení akcelerometrů na místě, ale také k tomu, aby se nenakláněly ze strany na stranu při pohybu. Toto měření bylo uskutečněno ve dvou kombinacích poloh akcelerometrů (obr. 3.1.1.7 a obr. 3.1.1.8).

Obdobně jako v metodě 2 byl v tomto případě měřen pohyb dvěma různými rychlostmi a jednotlivé výkopy, a navíc byla ještě měřena chůze po rovině. Pro tuto metodu bylo měřeno více probandů - starší pán s nemocným a zdravým kolenem, dva mladí fotbalisté a mladí studenti nespportovci.

Poloha 2 metody 2 a poloha 1 metody 3 byly shodné - tato měření byla mezi sebou porovnána.



Obr. 3.1.1.7. Schéma uložení akcelerometrů (metoda 3, poloha 1)



Obr. 3.1.1.8. Schéma uložení akcelerometrů (metoda 3, poloha 2)

3.1.2. Experimentální výsledky

Vyhodnocování jednotlivých měření bylo prováděno v programu Microsoft Excel, kde byly výsledky získané FFT analýzou zpracovány a převedeny do grafické podoby.

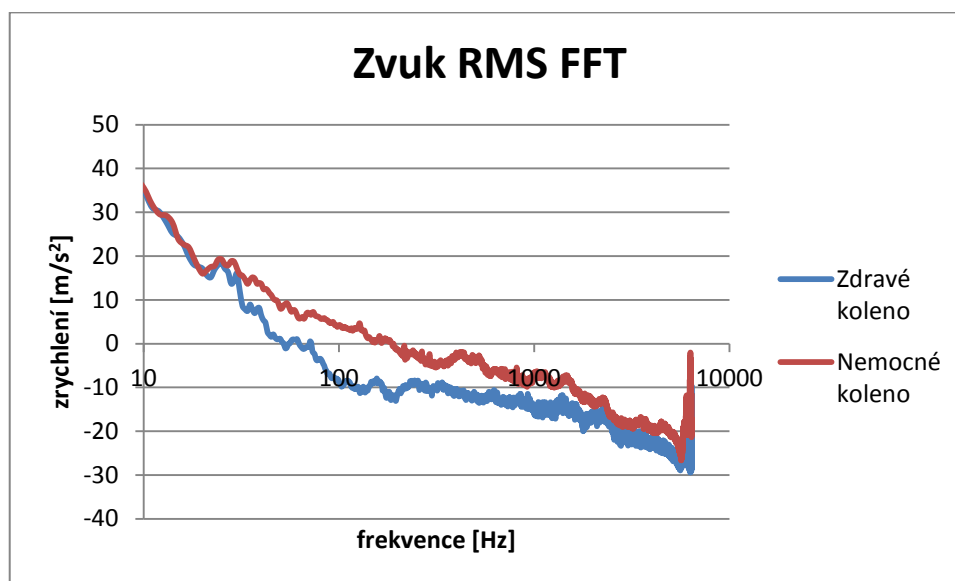
Metoda 1

Pro každé měření bylo získáno 6 400 spektrálních čar a 40 hodnot ze třetinooktanové analýzy. Obě metody vyhodnocování byly použity pro vyhodnocení zvuku i zrychlení.

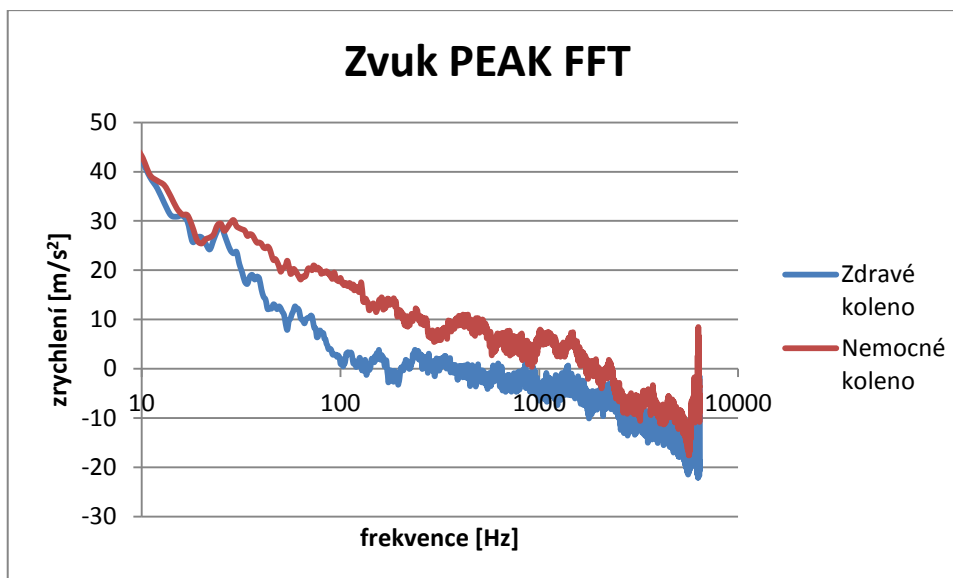
Při měření byly sledovány hodnoty jak efektivní (RMS), tak špičkové (PEAK). Každé měření bylo opakováno několikrát a následně byly vyhodnoceny průměry těchto několika opakování. Nakonec byly zprůměrované hodnoty, získané při jednotlivých měřeních, přeneseny do grafu.

V jednotlivých grafech pro průměrné a špičkové hodnoty byly mezi sebou porovnány vždy hodnoty naměřené u zdravého kolena a kolena nemocného.

Jak je patrné z grafů znázorněných na obr. 3.1.2.1 a obr. 3.1.2.2, průběhy křivek pro zdravé koleno jsou stejné pro RMS i pro PEAK, pouze se liší v rozsahu hodnot. To samé platí i pro nemocné koleno. Z toho lze usuzovat, že stačí vyhodnocovat pouze RMS nebo jen PEAK.



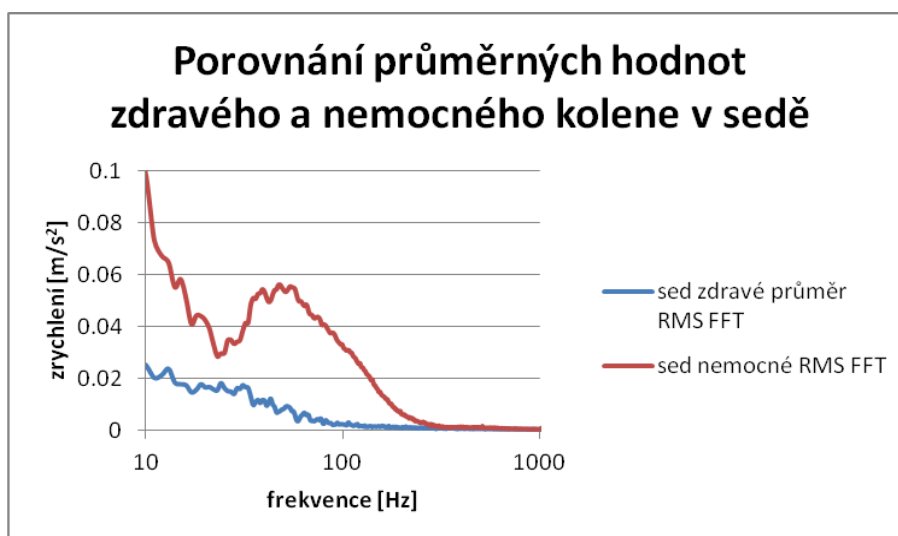
Obr. 3.1.2.1. Porovnání zvukového záznamu zdravého a nemocného kloubu (metoda 1)



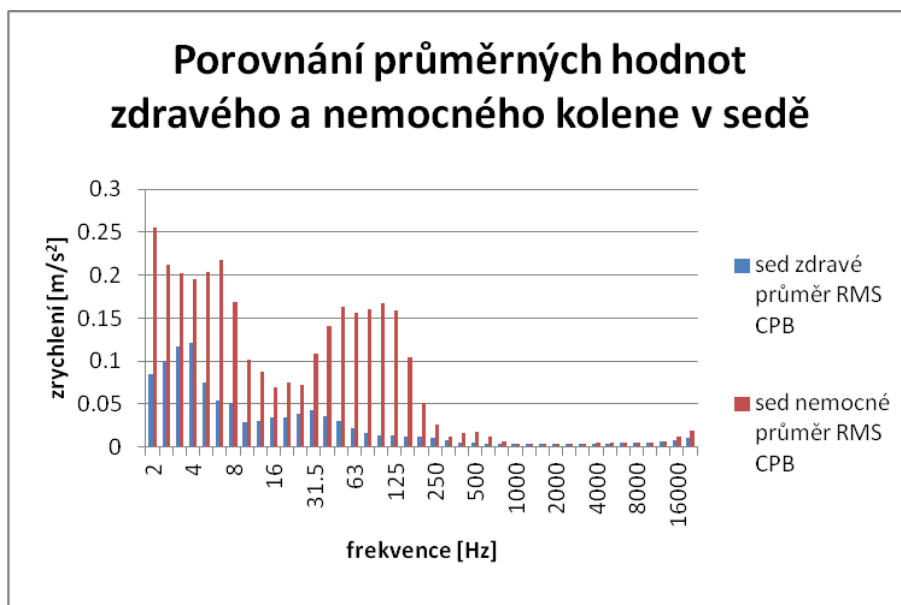
Obr. 3.1.2.2. Porovnání zvukového záznamu zdravého a nemocného kloubu (metoda 1)

Z výše uvedených grafů vyplývá prokazatelný rozdíl mezi zdravým a nemocným kolenem. Po porovnání zvukového pozadí bez pohybu ovšem tento rozdíl vychází velmi podobně. Pokud se ale podíváme na průběh funkcí nemocného kloubu na grafu znázorněném na obr. 3.1.2.1 a na obr. 3.1.2.2 vidíme, že obě funkce mají stejný průběh a liší se jen v mezích. Tento rozdíl není natolik velký, abychom s jistotou mohli říct, že je způsoben šelestmi. Je velice pravděpodobné, že tento rozdíl způsobují spíše vnější vlivy jako např. oblečení, které šustí při pohybu, což uvádí i proband. Z toho lze usuzovat, že naměřené hodnoty neodpovídají stavu kolena, nýbrž odpovídají ve větší míře ostatním (vnějším) vlivům. Z tohoto důvodu jsme soustředili naši pozornost na vyhodnocování vibrací.

Dále byla prováděna měření pohybu v sedě a ve stoje. Tato měření byla vyhodnocena FFT i třetinooktanovou analýzou. Obě analýzy vykazují značný rozdíl mezi zdravým a nemocným kolenem. Zdá se tedy, že FFT analýza je pro účely této práce dostatečná, obr. 3.1.2.3 a obr. 3.1.2.4.



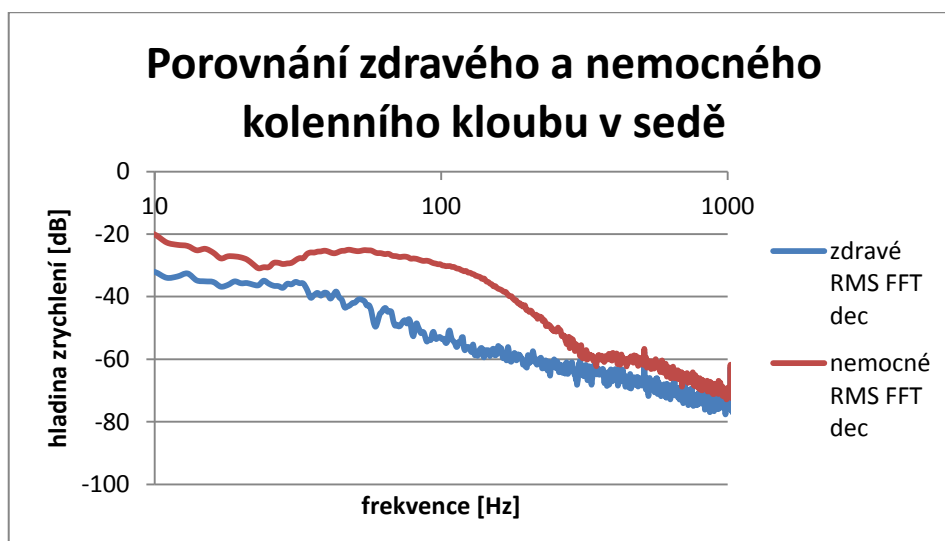
Obr. 3.1.2.3. Porovnání vibrací zdravého a nemocného kolena (metoda 1, FFT analýza)



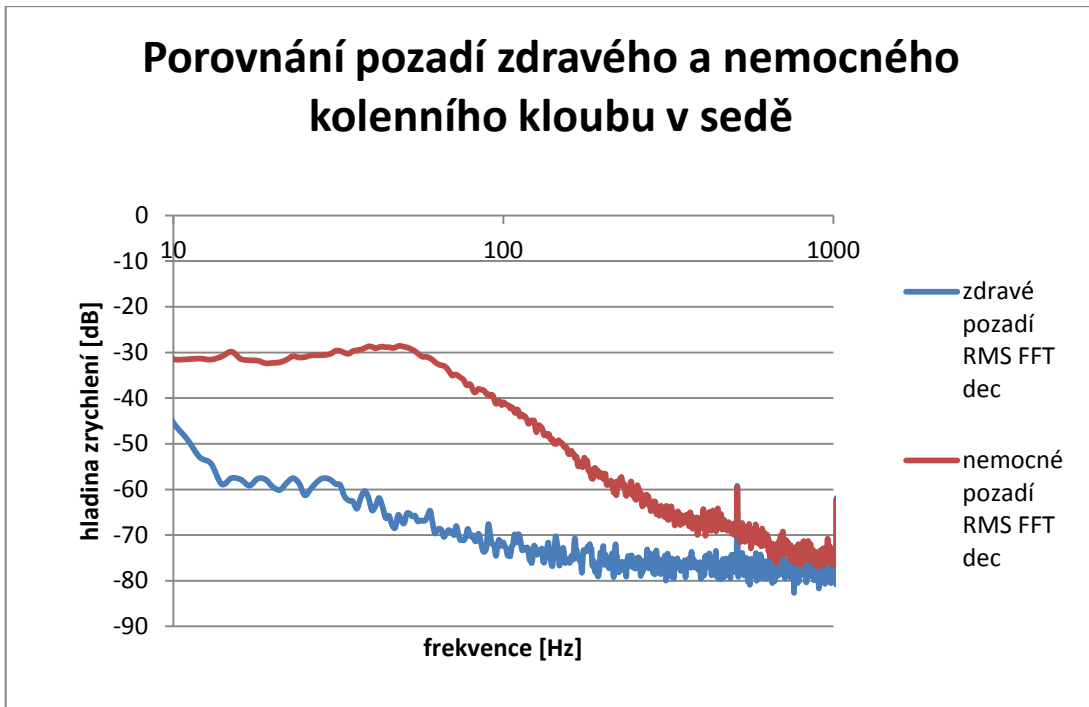
Obr. 3.1.2.4. Porovnání vibrací zdravého a nemocného kolene (metoda 1, CPB analýza)

Pro názornější představu byly výsledky FFT analýzy vykresleny také v hladině [dB]. Rozdíl mezi vykreslením v decibelech (obr. 3.1.2.5, obr. 3.1.2.6, obr. 3.1.2.7 a obr. 3.1.2.8) a v [m/s^2] se zdá být nepodstatný. Nicméně z obr. 3.1.2.6 je zřejmé, že rozdíl mezi zdravým a nemocným kolenem je značný i v klidové poloze. To znamená, že se probandovi s nemocným kolenem pravděpodobně třásla končetina již v klidu. Tento fakt by mohl negativně ovlivnit výsledky měření.

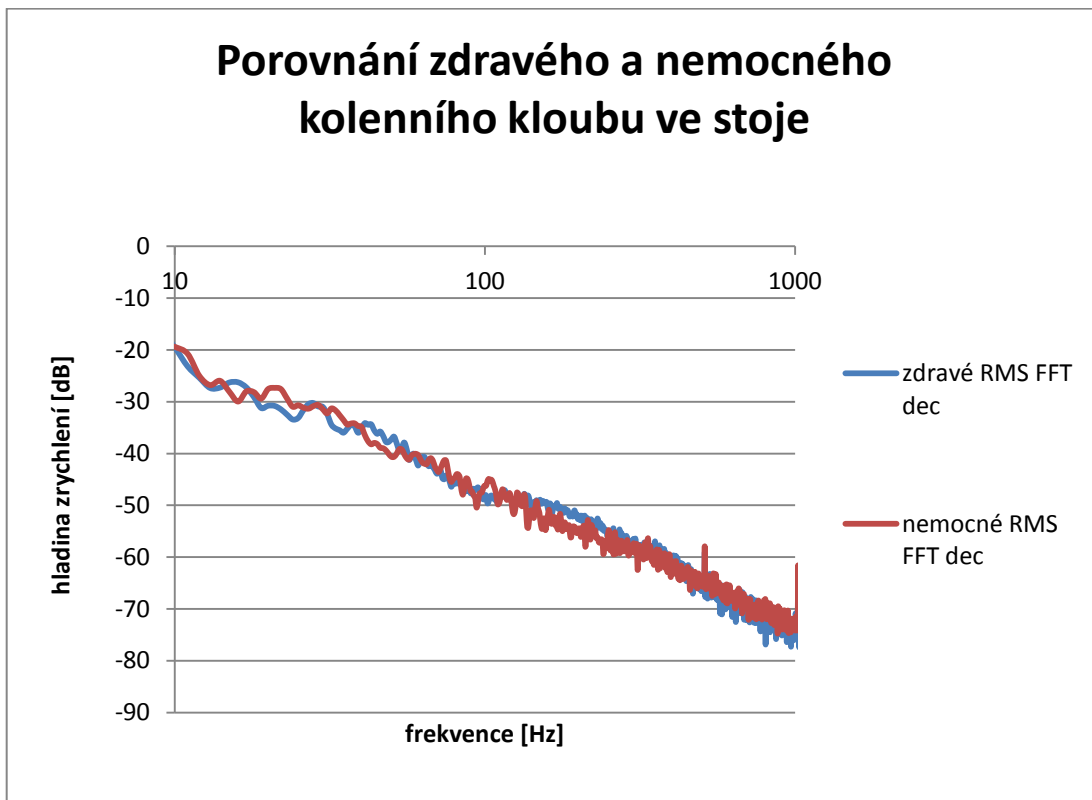
Pro polohu ve stoje vyšly velice podobné výsledky pro pohyb kolene obr. 3.1.2.7. To ale neplatí pro výsledky pozadí znázorněné na obr. 3.1.2.8. V hodnotách pro pozadí je velký rozdíl mezi oběma probandy, což napovídá, že tato metoda není vhodná.



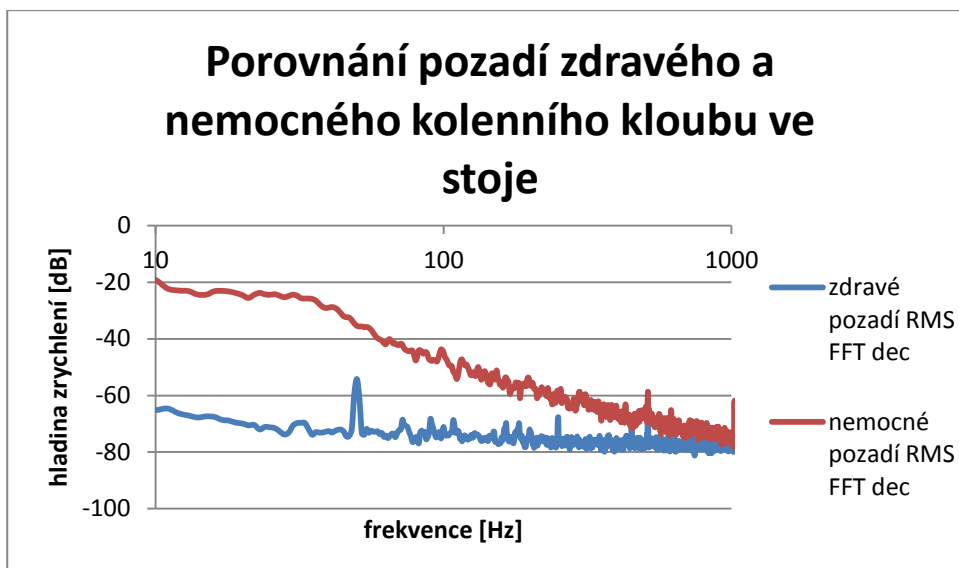
Obr. 3.1.2.5. Porovnání hladin zrychlení (metoda 1, FFT analýza)



Obr. 3.1.2.6. Porovnání pozadí hladin zrychlení (metoda 1, FFT analýza)



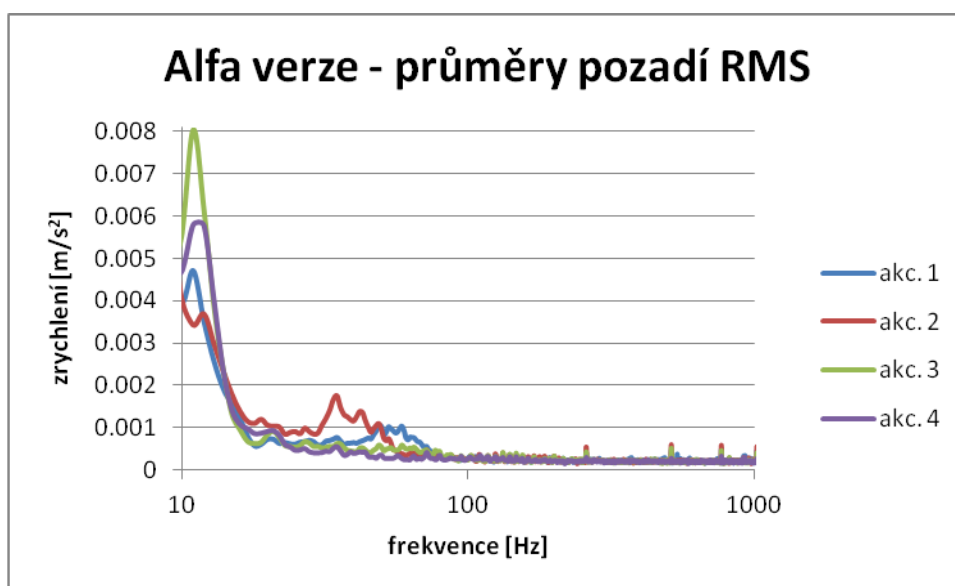
Obr. 3.1.2.7. Porovnání hladin zrychlení (metoda 1, FFT analýza)



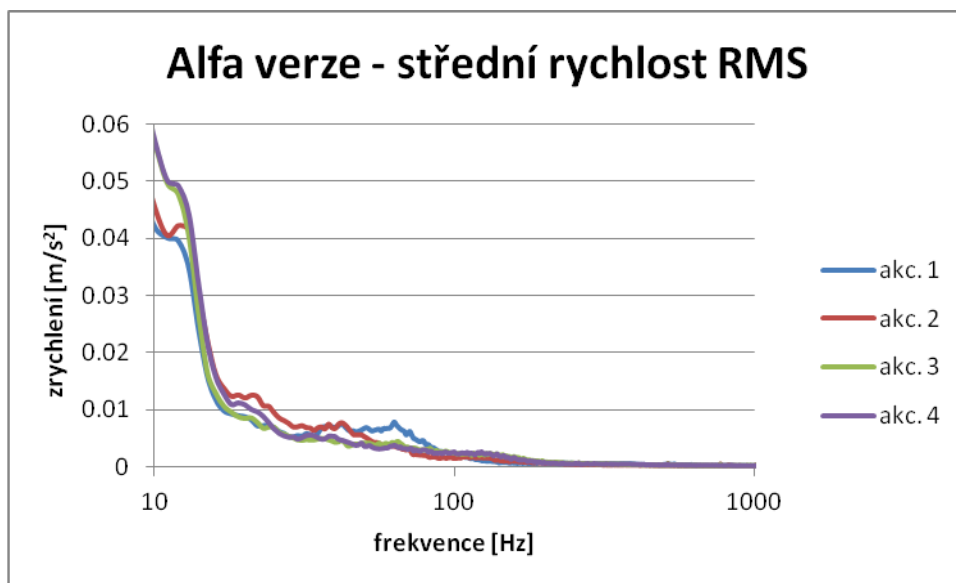
Obr. 3.1.2.8. Porovnání pozadí hladin zrychlení (metoda 1, FFT analýza)

Metoda 2

Pro toto měření byly výsledky vyhodnoceny pro průměrné hodnoty (RMS) FFT analýzou. Pozadí obou poloh vyšla bez jakýchkoli větších rozdílů mezi jednotlivými akcelerometry. Jak je patrné z grafů znázorněných na obr. 3.1.2.9, obr. 3.1.2.10 a obr. 3.1.2.11, hodnoty pro pozadí střední a vyšší rychlost jsou o řád posunuty.

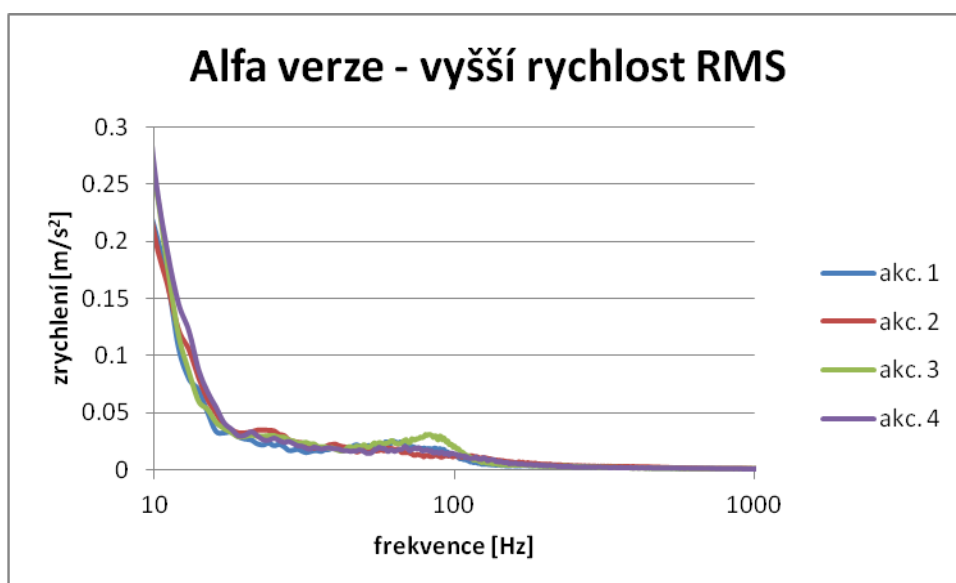


Obr. 3.1.2.9. Porovnání pozadí jednotlivých akcelerometrů (metoda 2, poloha 1)

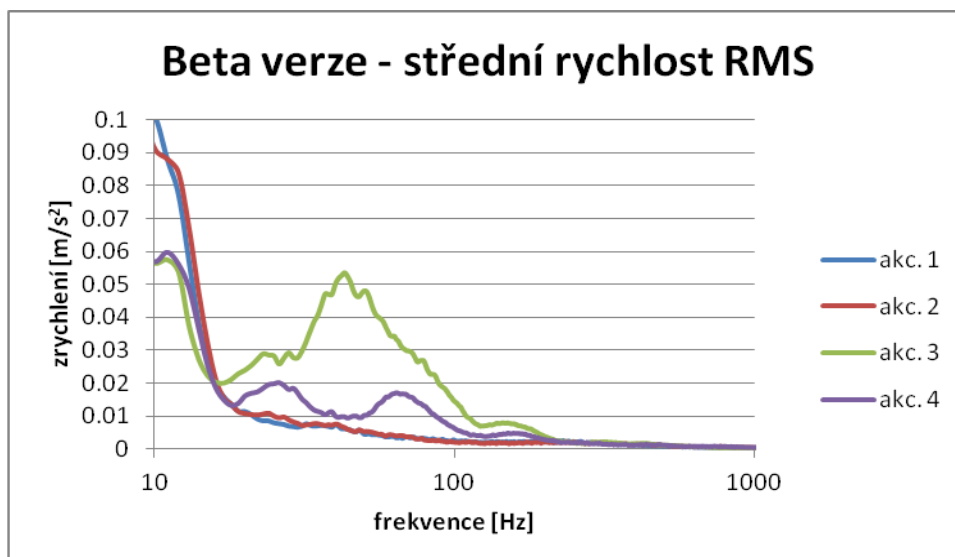


Obr. 3.1.2.10. Porovnání jednotlivých akcelerometrů při střední rychlosti RMS (metoda 2, poloha 1)

Poloha 2 vykazuje rozdíly průběhů funkcí mezi jednotlivými akcelerometry. Tyto rozdíly by mohly znamenat, že akcelerometr s rozdílným průběhem zaznamenává změny v chrupavce, ale také mohou být způsobeny jinými vlivy (obr. 3.1.2.12).



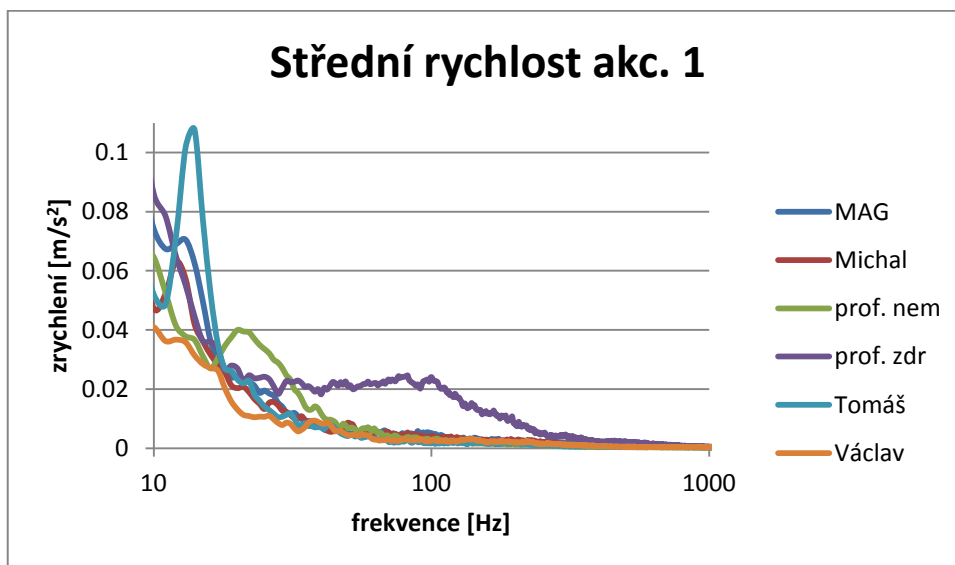
Obr. 3.1.2.11. Porovnání jednotlivých akcelerometrů při vyšší rychlosti RMS (metoda 2, poloha 1)



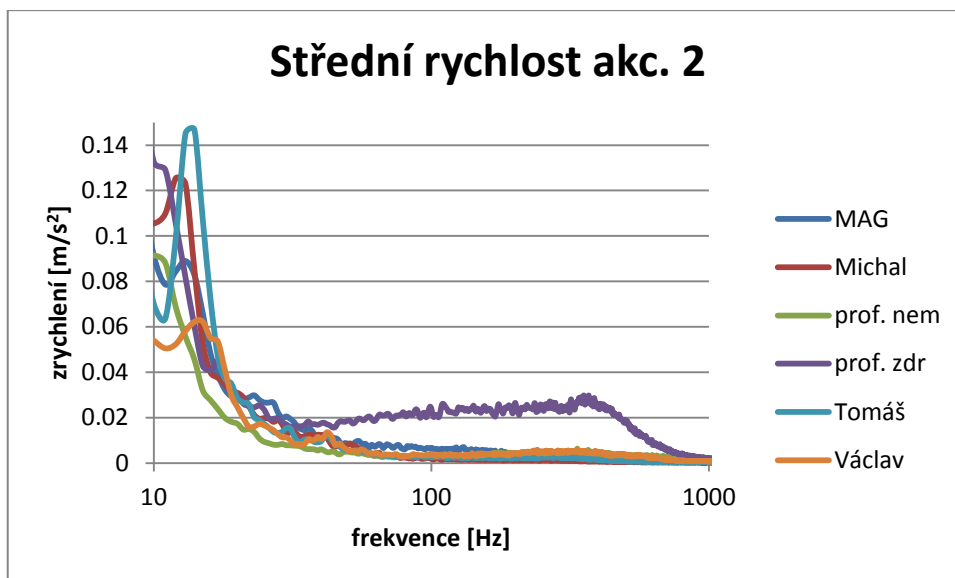
Obr. 3.1.2.12. Porovnání jednotlivých akcelerometrů při střední rychlosti RMS (metoda 2, poloha 2)

Metoda 3

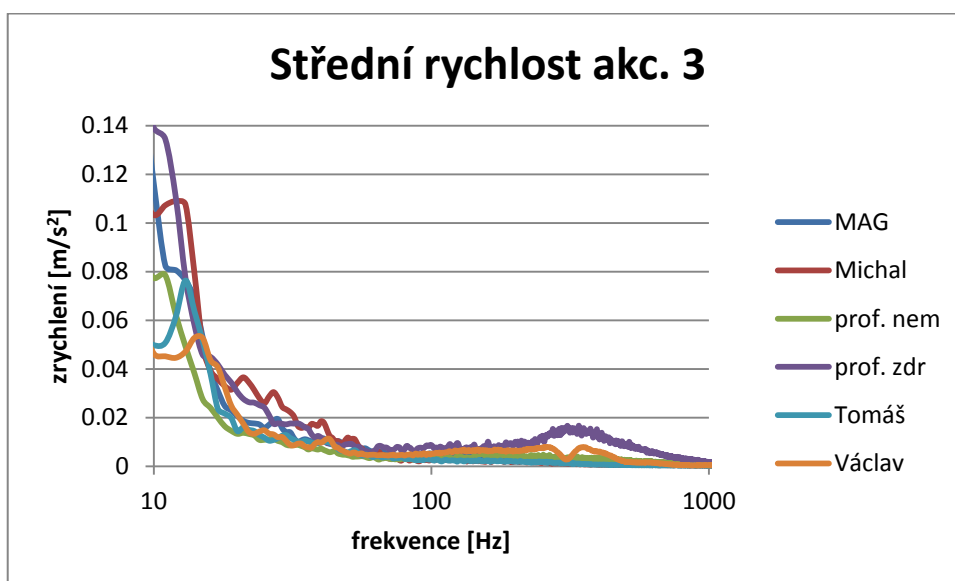
Poloha 2 byla porovnána mezi všemi měřeními. Každý akcelerometr zachytil jiné chování kloubu. Tato poloha se zdá být nevhodnou, neboť akcelerometry byly umístěny na koncích femuru (stehenní kosti), kde se upínají hlavy kvadricepsu, a při pohybu, kdy se sval zatíná, by mohl být snímán více tento pohyb, než samotný problém v kolenním kloubu. Výsledky tohoto měření jsou nejednoznačné. Jak je patrné z obr. 3.1.2.13, obr. 3.1.2.14 a obr. 3.1.2.15 má nejméně příznivý průběh funkce prof. zdr (proband staršího věku - zdravý kloub), což byl s největší pravděpodobností zdravý kloub. Na obr. 3.1.2.16 je patrné, že nejhorší průběh mají probandi Václav a MAG, kteří představují průměrné opotřebení kloubu mladého člověka. Je možné, že se v této poloze do výsledků prolíná funkce svalů.



Obr. 3.1.2.13. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy při střední rychlosti (akcelerometr 1, metoda 3, poloha 1)

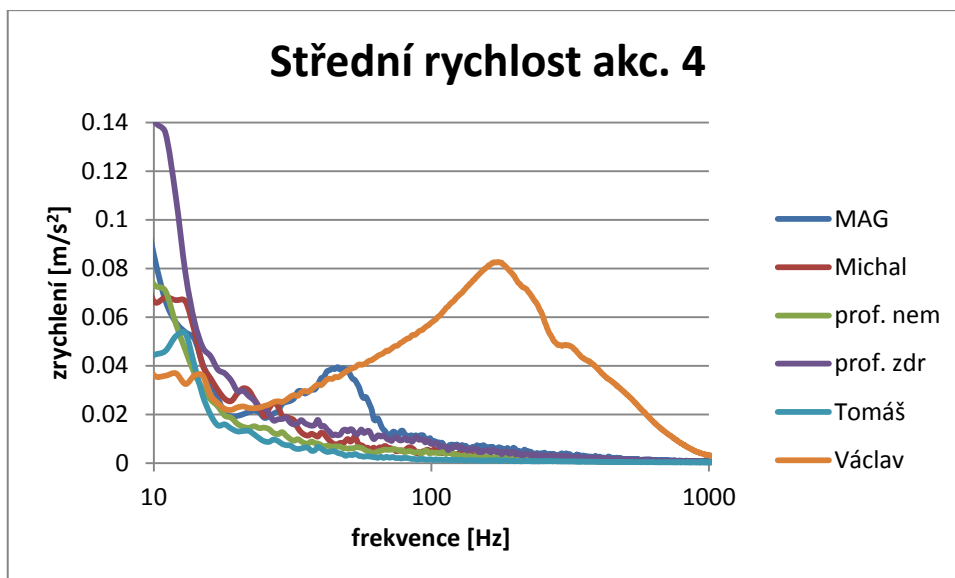


Obr. 3.1.2.14. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy při střední rychlosti (akcelerometr 2, metoda 3, poloha 1)



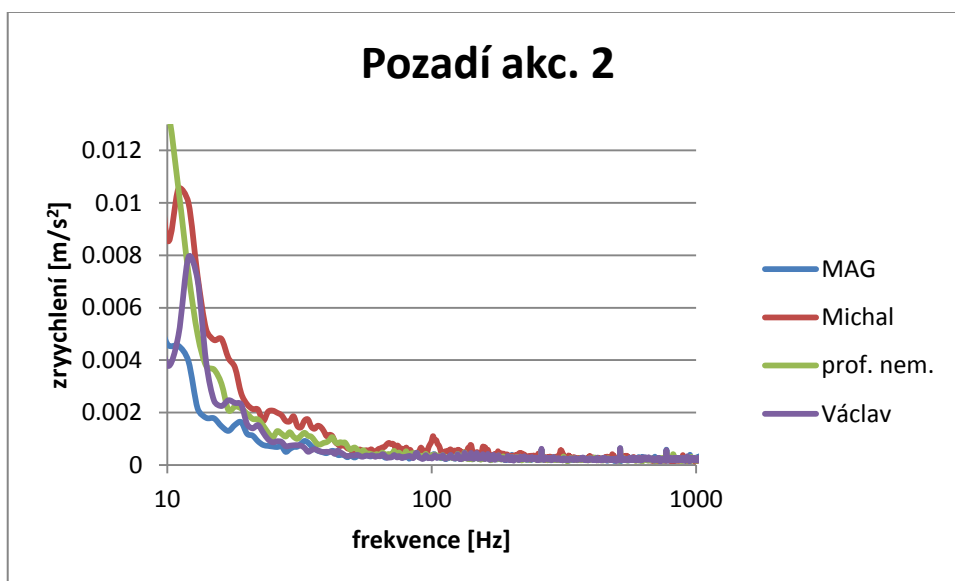
Obr. 3.1.2.15. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy při střední rychlosti (akcelerometr 3, metoda 3, poloha 1)

V poloze 3 byly opět porovnány výsledky několika probandů podle umístění jednotlivých akcelerometrů. Pozadí všech čtyř akcelerometrů u všech probandů vyšla přibližně stejná a v podobných hodnotách.

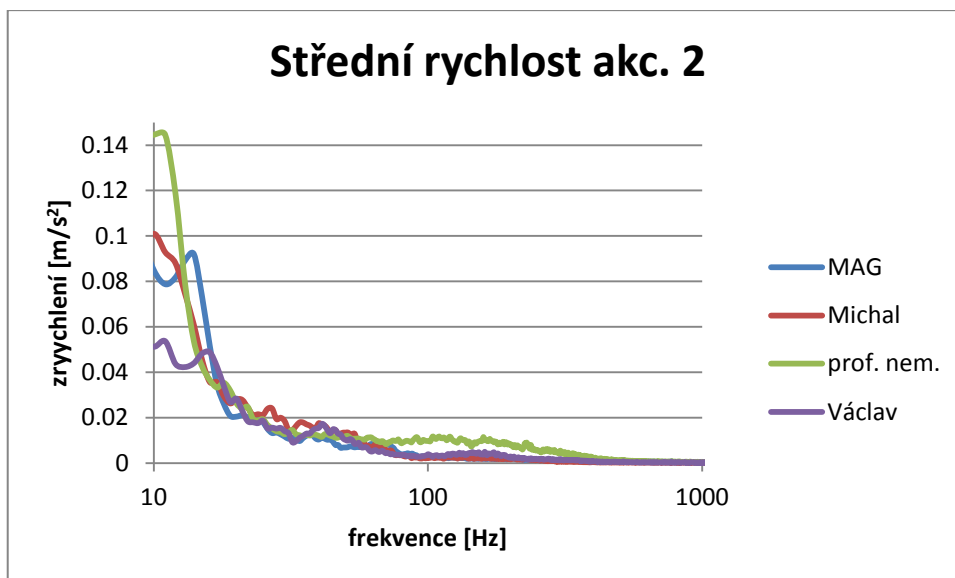


Obr. 3.1.2.16. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy při střední rychlosti (akcelerometr 4, metoda 3, poloha 1)

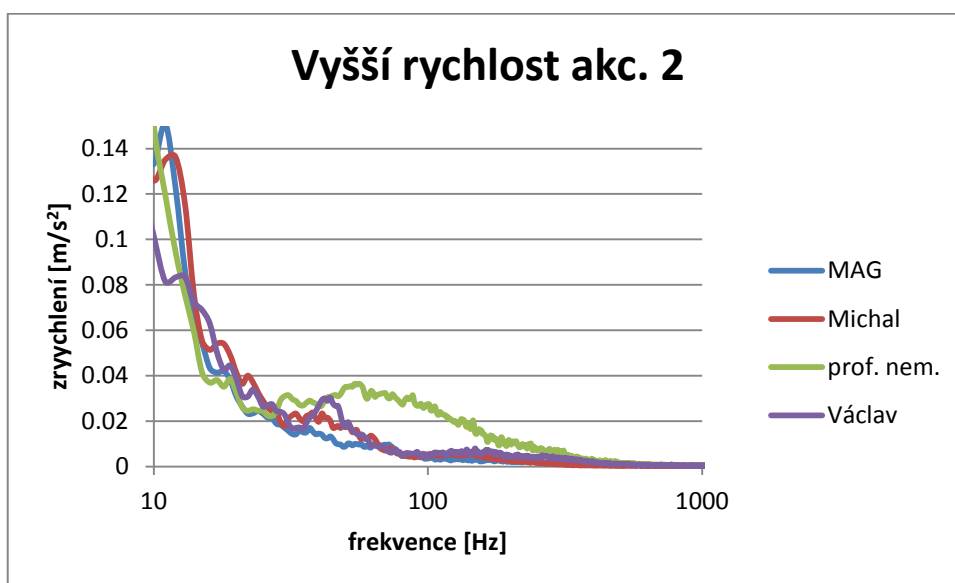
Pro pohyb v sedě vyšly pro akcelerometr 1, 3 a 4 přibližně stejné hodnoty u všech probandů. Jak je patrné z grafu znázorněného na obr. 3.1.2.18, průběh funkce popisující nemocné koleno má jako jediná jiný průběh v hodnotě okolo 100 [Hz], což je očekávaný charakter nemocného kloubu.



Obr. 3.1.2.17. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy (pozadí, akcelerometr 2, metoda 3, poloha 2)

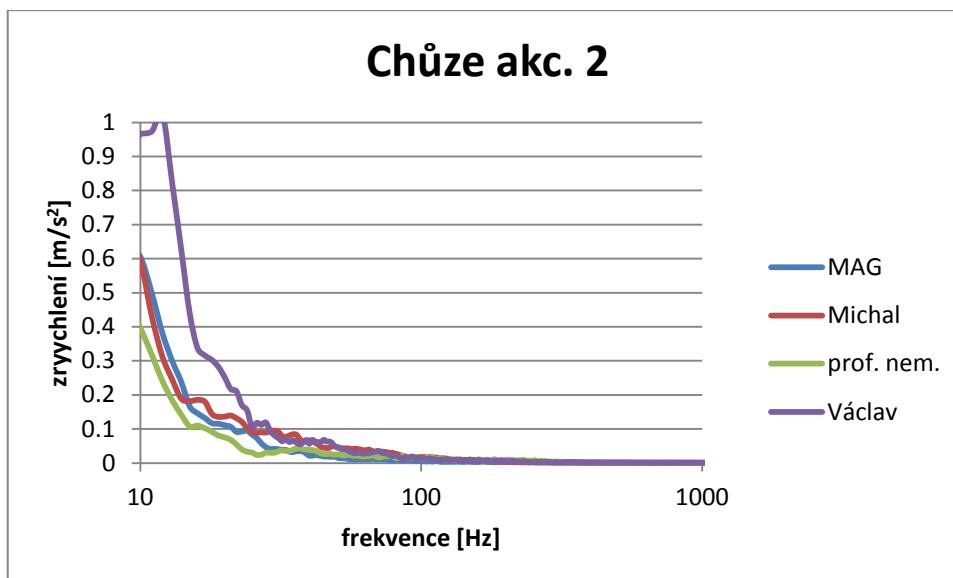


Obr. 3.1.2.18. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy při střední rychlosti (akcelerometr 2, metoda 3, poloha 2)



Obr. 3.1.2.19. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy při vyšší rychlosti (akcelerometr 2, metoda 3, poloha 2)

Chůze se zdá být neprokazatelná, protože pro všechny akcelerometry u všech probandů vycházejí stejné průběhy funkcí pro polohu 2 i 3. To by mohlo být způsobeno svalovou kontrakcí při chůzi, dopadem nohy na podložku nebo rychlostí chůze. Při chůzi má každý jedinec jiné možnosti a tím by mohl být zkreslen i výsledek.



Obr. 3.1.2.20. Porovnání vibrací mezi jednotlivými probandy při chůzi (akcelerometr 2, metoda 3, poloha 2)

3.1.3. Diskuse

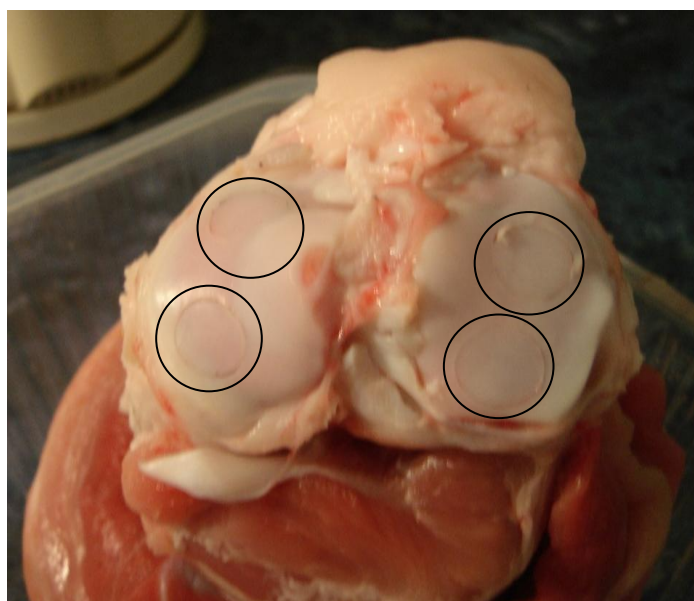
Měření probíhala bez větších problémů. První ani druhá metoda měření nebyla velmi přínosná. Třetí metoda vykazuje rozdíl mezi nemocným kloubem a zdravými klouby a také mezi polohou v klidu a pohybem. S největší pravděpodobností by toto zjištění mohlo dokazovat, že je možné rozlišit zdravé a nemocné koleno. Takovéto tvrzení by se ale mělo potvrdit měřením větší skupiny zdravých i nemocných jedinců. Mezi komplikace, které by mohly nastat při hledání správné polohy akcelerometru, patří například fakt, že není znám směr zrychlení. Protože každý jedinec s nemocným kloubem má jiný charakter poškození, a tudíž by mělo být rozdílné i místo a směr, ve kterém lze toto zachytit, nemusí se potvrdit správnost polohy akcelerometru z metody 3 polohy 3.

Výsledky experimentálního měření jsou pro tuto práci uspokojivé. Do budoucna se bude ověřovat metoda měření i polohy akcelerometrů. Plánuje se měření s tříosým akcelerometrem a pohyb pomocí mechanického zařízení, aby se předešlo měření svalové kontrakce. Dále by se měly zkoušet nové polohy akcelerometrů, a to nejen přímo v oblasti kolenního kloubu, ale i ve větší vzdálenosti.

3.2. Měření mechanických vlastností chrupavky

V této části práce byly zjišťovány mechanické vlastnosti hyalinní chrupavky. Cílem bylo najít matematický model chování hyalinní chrupavky při opakovaném zatěžování a určení mezních stavů deformace popř. napětí, při kterých dojde k jejímu poškození.

Pro toto měření byly použity vzorky vepřové a lidské chrupavky. Zatímco vzorky z vepře byly odebrány jak z jeho kolenního kloubu, tak kloubu kyčelního, v případě lidské chrupavky byly k dispozici pouze vzorky kloubu kyčelního. Kloubní chrupavka byla odebírána ve tvaru kruhu o průměru 0,6 [cm]. Před vlastním měřením byly vepřové vzorky uchovávány ve fyziologickém roztoku, kdežto lidské vzorky byly konzervované ve formolu. Každý vzorek byl odebrán z jiného kvadrantu kloubu (obr. 3.2.1).



Obr. 3.2.1. Místa odebíraných vzorků vepřového kolene

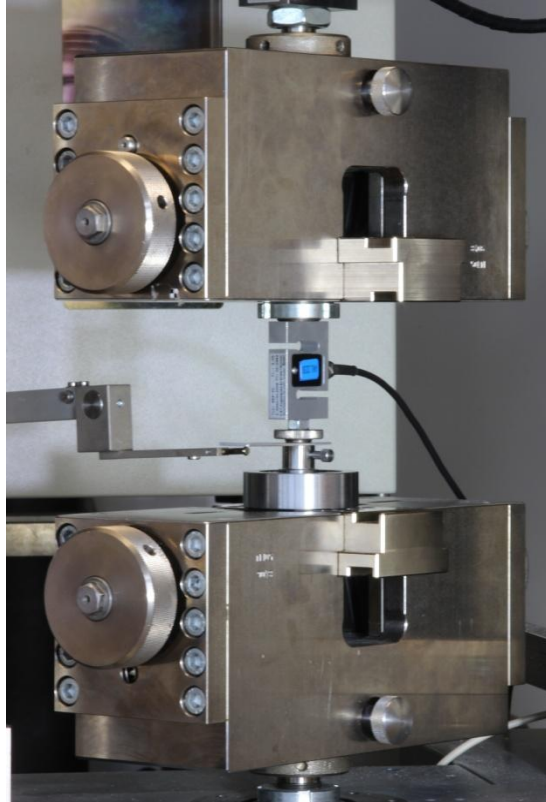


Obr. 3.2.2. Vyseknutý vzorek - nevyseparovaný

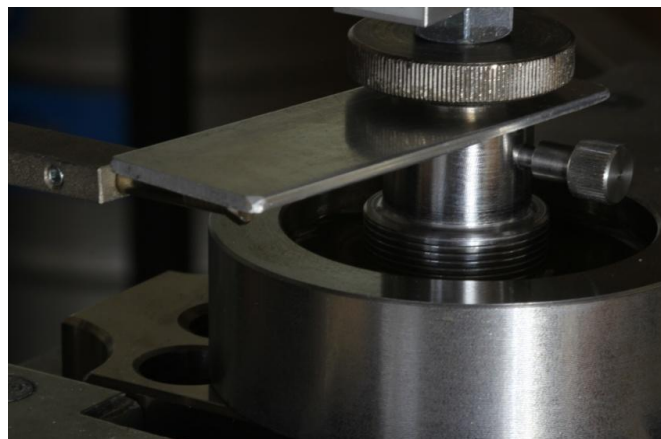
3.2.1. Měření mechanických vlastností hyalinní chrupavky

Měření bylo prováděno na zkušební stroj Zwick/Roell Z050. Během měření byl vzorek chrupavky zcela ponořen do fyziologického roztoku. Vzorky z artrotického kloubu nebylo možné získat v takové velikosti, aby je bylo možné namáhat na tah. K tomu by bylo zapotřebí odebrat vzorky o rozměrech alespoň 1 [cm] . 1 [cm], což by u artrózy čtvrtého

stupně, kdy chrupavka na některých místech kloubní plochy zcela chybí, bylo prakticky nemožné. Chrupavka byla tedy namáhána pouze na tlak. Zatěžování probíhalo ve dvou fázích. V první fázi byl vzorek cyklicky zatěžován rychlostí 10 [$\mu\text{m}/\text{s}$] po 5 % až do 50 % původní tloušťky vzorku. Po těchto deseti cyklech, tzv. preconditioning, byl vzorek odlehčen a nechal se 10 minut relaxovat. Ve druhé fázi byl vzorek zatížen rychlostí 1 [mm/s] na 75 % jeho původní tloušťky. Toto měření slouží ke zjištění mezní deformace a mezního napětí před porušením.



Obr. 3.2.1.1. Kleště měřícího aparátu

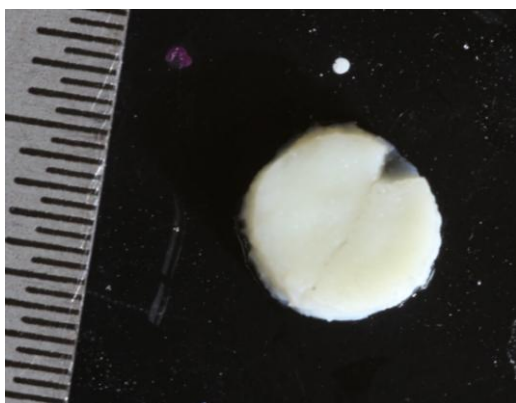


Obr. 3.2.1.2. Měřící nádoba a hlavice

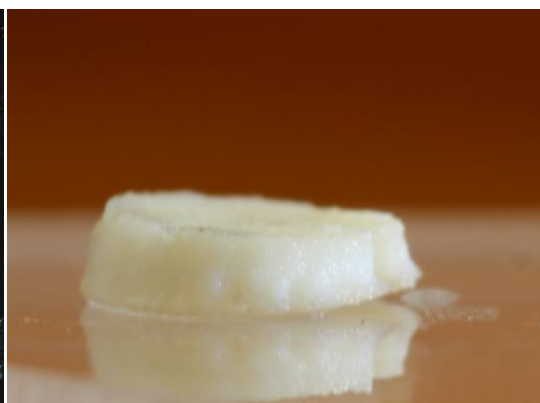
Na obr. 3.2.1.1 je znázorněn měřicí aparát s ocelovou miskou a měřicí hlavici. Nad měřicí hlavici je uchycena kovová destička, na kterou zespodu naléhá raménko, jímž byla měřena deformace. Detail misky s měřicí hlavici je zachycen na obr. 3.2.1.2.

3.2.2. Způsob měření

Před prvním měřením byla do měřicího aparátu umístěna ocelová miska s fyziologickým roztokem. Poté byla provedena kalibrace měřicího zařízení, kdy se ručně nastavily nulové okrajové podmínky pro posuv a sílu. Před cyklickým zatěžováním byly pořízeny fotografie měřeného vzorku z obou stran a z profilu pro zdokumentování tvaru a stavu vzorku (obr. 3.2.2.1 a obr. 3.2.2.2). Dále byl změřen průřez a výška vzorku v několika místech pro výpočet průměrné plochy a tloušťky vzorku. Vzorek byl umístěn do misky s roztokem v měřicím přístroji, aby vzorek nevyschl.



Obr. 3.2.2.1. Fotografie vzorku



Obr. 3.2.2.2. Profil vzorku před měřením

Pro cyklické zatěžování byla vypočtena průměrná tloušťka vzorku a následně byly dopočítány hodnoty pro zatěžování. Tyto hodnoty byly určeny jako 5, 10, 15, ... , 50 % původní tloušťky vzorku. Před prvním zatížením byla zatěžovací hlavice přístroje pomalu spuštěna na výšku odpovídající změřené tloušťky vzorku. Při nenulové síle byla hlavice na vzorku a bylo započato měření. Zatěžovací hlavice měřicího přístroje byla spuštěna rychlostí 10 [$\mu\text{m}/\text{s}$] na 5% deformaci, kde setrvala 10 minut, poté byl vzorek stlačen stejnou rychlostí na 10% deformaci atd. Po deseti cyklech byl vzorek odlehčen a nechal se 10 minut relaxovat ve fyziologickém roztoku.

Během 10 minutové relaxace byla vyměněna měřicí hlavice pro měření mezní deformace a znovu byla provedena kalibrace přístroje. Po relaxaci byly znovu pořízeny fotografie vzorku z obou stran a změřen průřez a tloušťka v několika místech.

Pro měření mezní deformace byl vzorek zatížen rychlostí 1 [mm/s] na 75 % jeho počáteční tloušťky. Poté byly pořízeny fotografie vzorku z obou stran pro dokumentaci porušení. Po pořízení fotografií byl vzorek umístěn do označené krabičky a ponořen do formolu (roztoku pro konzervaci) pro budoucí histologické vyšetření.

Veškeré naměřené a vypočtené hodnoty, průběh měření a nedostatky vzorku byly zaznamenány v "Protokolu měření" (viz příloha). Každý vzorek byl pro snazší orientaci označen kódem, např. PK001_BF. Zde PK je označení původu vzorku (pig knee - vepřové koleno), 001 je číslo vzorku a BF je označení fotografie pořízené před prvním měřením.

Po každém měření byla miska a obě měřicí hlavice důkladně umyty, aby se zamezilo korozi, kterou by mohla způsobit sůl obsažená ve fyziologickém roztoku.

3.2.3. Experimentální výsledky

Z každého měření byly získány hodnoty pro sílu, posunutí a čas. Tyto hodnoty byly dále zpracovány v programu Matlab, kde bylo vypočteno napětí σ , tj. platí

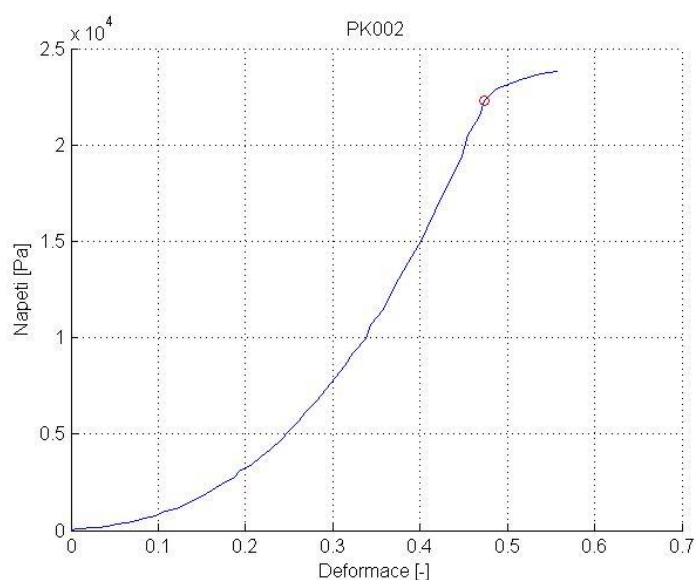
$$\sigma = \frac{F}{A} [Pa], \quad (3.2.3.1)$$

kde $F [N]$ je zátěžná síla a $A [m^2]$ je plocha vzorku. Dále byla vypočtena poměrná deformace

$$\varepsilon = \frac{\Delta h}{h}, \quad (3.2.3.2)$$

kde $\Delta h [mm]$ je posunutí, o které se vzorek snížil a $h [mm]$ je původní výška vzorku. Následně byla data převedena do grafické podoby. Na obr. 3.2.3.1 je znázorněna křivka popisující poškození vzorku chrupavky při zatížení rychlostí 1 [mm/s]. Červené kolečko na obr. 3.2.3.1 znázorňuje hodnotu, ve které došlo k poškození vzorku (mezní deformace). V ideálních podmínkách by tento bod označoval lokální extrém funkce a jeho hodnota by se dala jednoduše odečíst pomocí druhé derivace této funkce. Funkce popisující naměřené hodnoty nebyla vždy hladká, proto by bylo obtížné určit hodnotu deformace, ve které došlo k porušení vzorku pomocí druhé derivace. Vzhledem k nízkému počtu měřených vzorků bylo časově výhodnější tuto hodnotu určit ručně.

Určení mezní deformace nebylo vždy jednoznačné vzhledem k různorodosti křivek. Porušení vzorku se projevilo náhlou změnou napětí ve vzorku.

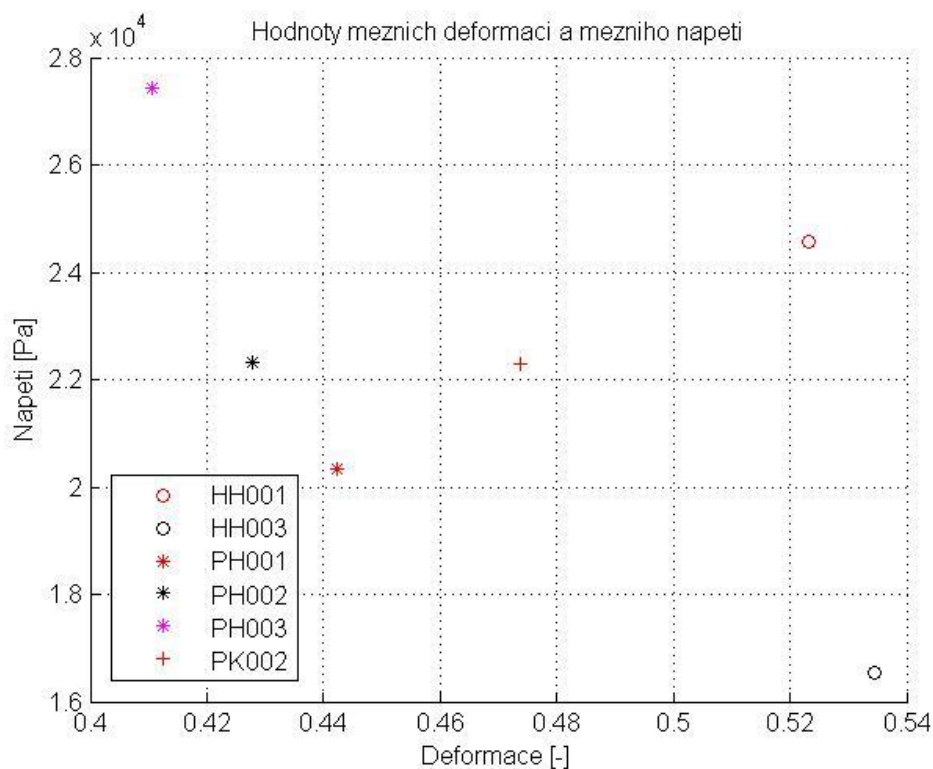


Obr. 3.2.3.1. Mezní deformace pro porušení

Je nutné podotknout, že některé vzorky byly poškozeny již při cyklickém zatěžování a tudíž je nebylo možné použít pro měření mezní deformace.

Na obr. 3.2.3.2 jsou vyznačeny mezní hodnoty pro několik různých vzorků. Kolečkem jsou označeny mezní hodnoty lidské kyčle, hvězdičkou jsou znázorněny

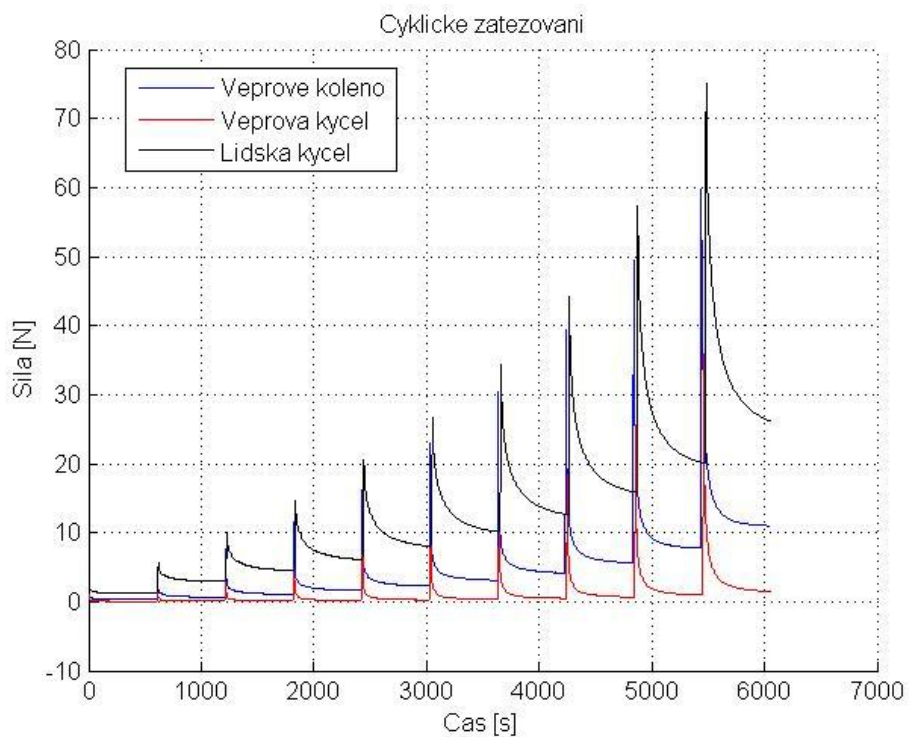
hodnoty odpovídající vepřové kyčli a křížek označuje vepřové koleno. Je zřejmé, že vzorky odebrané z jednoho typu kloubu mají podobné mezní deformace. Různorodost napětí je pravděpodobně způsobena kvadrantem, ve kterém se daný vzorek původně nacházel.



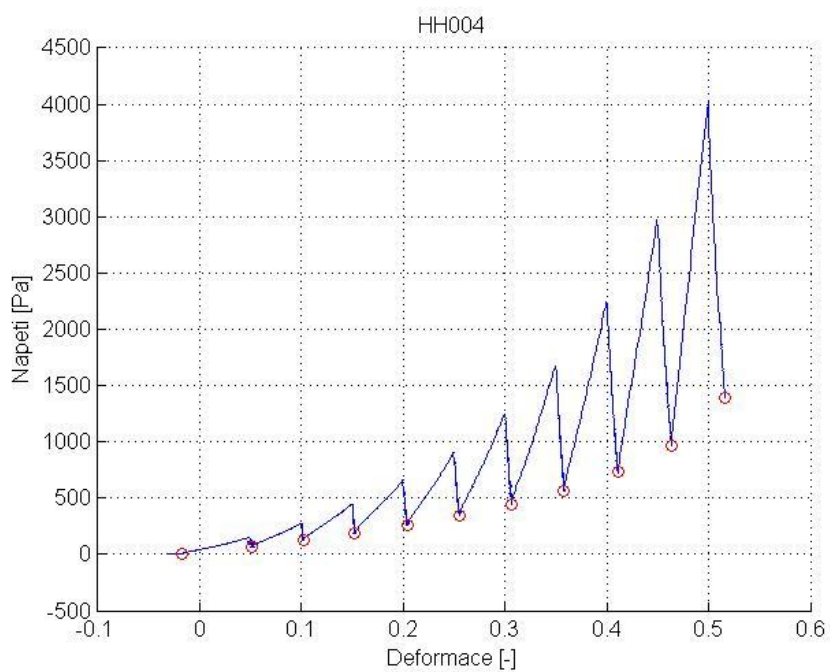
Obr. 3.2.3.2. Mezní deformace a napětí 1

Data získaná z cyklického zatěžování byla také převedena do grafické podoby (obr. 3.2.3.3). Na obr. 3.2.3.3 je znázorněna síla působící na vzorek, který byl postupně stlačován o 5% své původní výšky, a její následný pokles v průběhu relaxace. Jak je patrné z obr. 3.2.3.3 chování jednotlivých vzorků chrupavky je rozdílné jak z hlediska jejího umístění v organismu tak z hlediska konzervace. Je zřejmé, že lidská kyčel, která byla konzervována ve formolu, dosahovala nejvyšších silových hodnot na rozdíl od vepřových, které byly uchovány ve fyziologickém roztoku. Je také zjevné, že průběh funkce popisující změnu síly působící na vzorek při relaxaci se liší u vzorku konzervovaného od nekonzervovaných.

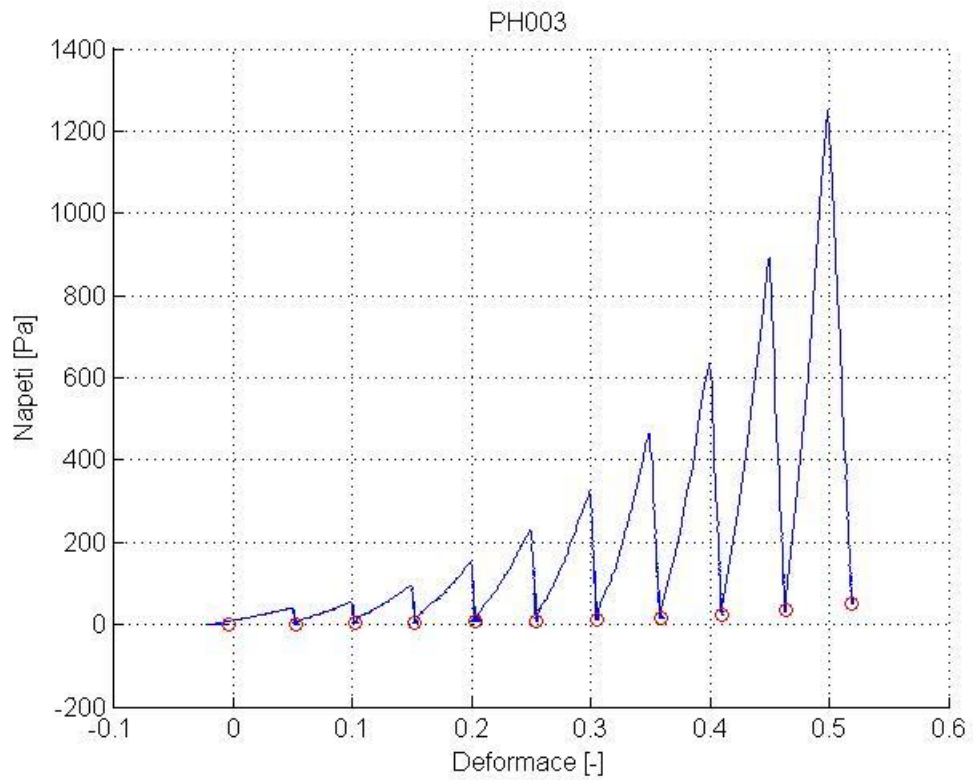
Po cyklickém zatěžování byla naměřená data převedena na napětí a deformaci a znovu převedena do grafické podoby (obr. 3.2.3.4 a obr. 3.2.3.5). Jak je patrné při porovnání obr. 3.2.3.4 a obr. 3.2.3.5, konzervovaný vzorek má jiný charakter než vzorek "čerstvý". Body označené červeným kolečkem označují hodnoty vzorku po jednotlivých relaxacích. Tyto hodnoty byly odečteny a následně aproximovány kubickou funkcí $y = ax^3 + bx^2$ pomocí metody nejmenších čtverců (obr. 3.2.3.6, obr. 3.2.3.7 a obr. 3.2.3.8). Pro proložení těchto bodů byly kromě kubické funkce vyzkoušeny také funkce lineární, kvadratické a exponenciální. Kubická funkce byla nejvhodnější, proto byla zvolena jako konečná aproximační funkce, která se jeví jako nejlepší aproximační funkce pro chrupavku uchovávanou ve fyziologickém roztoku.



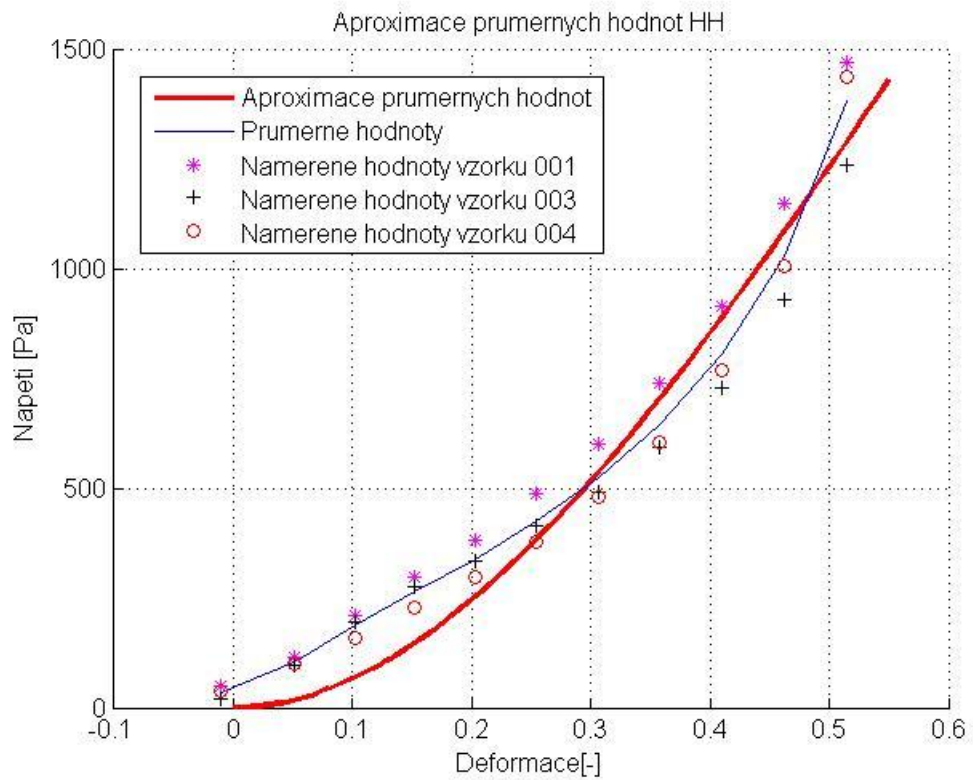
Obr. 3.2.3.3. Cyklické zatěžování jednotlivých vzorků



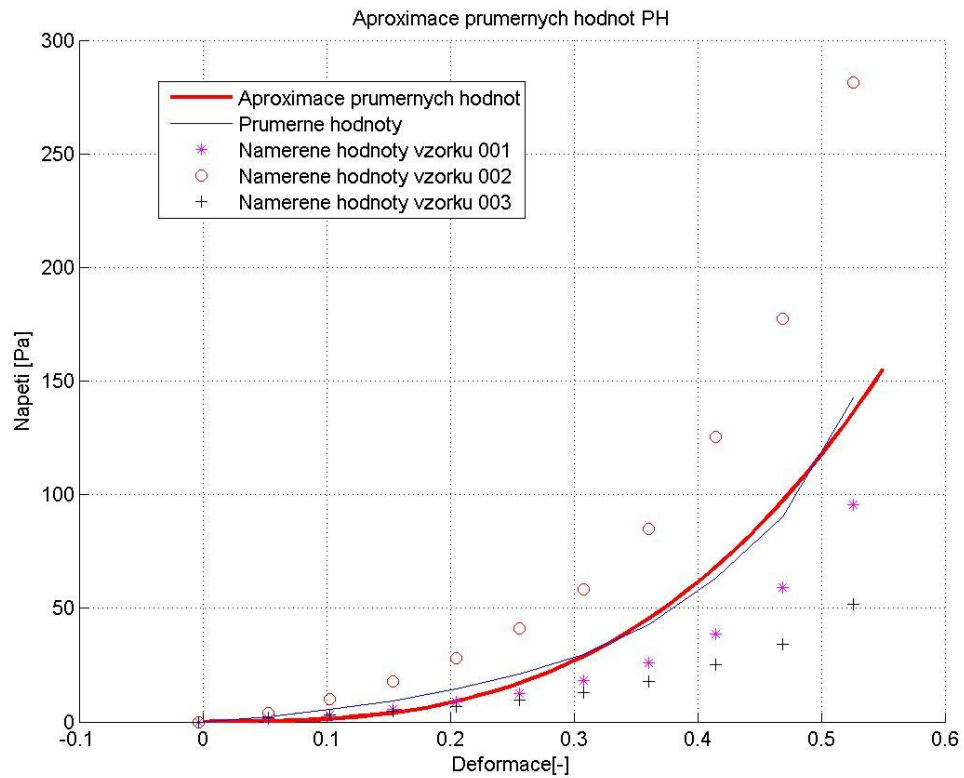
Obr. 3.2.3.4. Závislost napětí na deformaci (lidská kyčel)



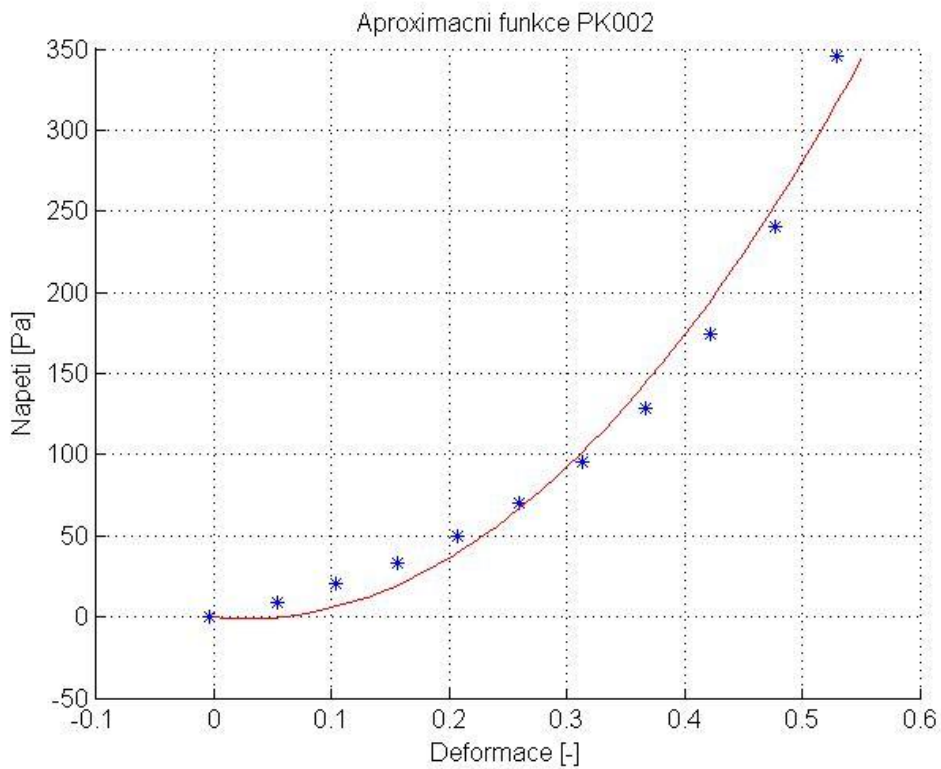
Obr. 3.2.3.5. Závislost napětí na deformaci (vepřová kyčel)



Obr. 3.2.3.6. Aproximace průměrných hodnot (lidská kyčel)



Obr. 3.2.3.7. Aproximace průměrných hodnot (vepřová kyčel)



Obr. 3.2.3.8. Aproximace vzorku (vepřové koleno)

Při porovnání obr. 3.2.3.6, obr. 3.2.3.7 a obr. 3.2.3.8 je patrné, že konzervované vzorky lidské kyčle se pohybují v jiných hodnotách napětí než vzorky vepřové. Zvolená aproximace kubickou funkcí také lépe odpovídá vepřovým vzorkům. Na obr. 3.2.3.7 je zjevné, že jeden vzorek se pohybuje v jiných hodnotách napětí než zbylé dva. To by mohlo být způsobeno například kvadrantem, ve kterém se daný vzorek nacházel.

3.2.4. Metoda nejmenších čtverců

Pro aproximaci naměřených hodnot cyklického zatěžování byla použita metoda nejmenších čtverců. Tato metoda byla zvolena pro svoji jednoduchost a přesnost.

Metoda nejmenších čtverců (least square method) je aproximační metodou, která nemusí procházet naměřenými hodnotami. Cílem této metody je nalezení vhodné funkce, která co nejlépe vystihuje rozložení těchto hodnot. Tato metoda je často používána díky své jednoduchosti.

Vhodnou aproximační funkci si je potřeba zvolit. Pro hodnoty $[x_i, y_i], i = 1, \dots, n$ bude předpis zvolené funkce $y = f(x)$ obsahovat neznámé parametry. Pak je potřeba vypočítat pro každé i čtverec $(y_i - f(x_i))^2$. Dále je třeba všechny tyto čtverce sečíst,

$$S = \sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i))^2, \quad (3.2.4.1.)$$

a najít, pro které hodnoty parametrů je tato suma minimální, tj. kde je parciální derivace sumy S podle každého parametru rovna 0.

Pro aproximaci přímkou (regresní funkcí) by byl předpis funkce dán $y = a + bx$, kde a, b jsou neznámé koeficienty určující tvar funkce. Tyto koeficienty se vypočítají pomocí metody nejmenších čtverců minimalizací výrazu

$$S = \sum_{i=1}^n (y_i - a - bx_i)^2, \quad (3.2.4.2.)$$

kde S je funkce neznámých a a b , x, y jsou vektory naměřených hodnot. Minimum funkce se nalezne pomocí stacionárního bodu, který je minimem této funkce. Řešením je tedy soustava rovnic $S'_a = 0, S'_b = 0$ [11], kde

$$\frac{\partial S}{\partial a} = \sum_{i=1}^n 2(y_i - bx_i - a)(-1) = 0, \quad (3.2.4.3.)$$

$$\frac{\partial S}{\partial b} = \sum_{i=1}^n 2(y_i - bx_i - a)(-x_i) = 0. \quad (3.2.4.4.)$$

Po úpravě dostaneme předpis

$$\sum_{i=1}^n (-x_i y_i + bx_i^2 + ax_i) = 0, \quad (3.2.4.5.)$$

$$\sum_{i=1}^n (-y_i + bx_i + a) = 0, \quad (3.2.4.6.)$$

resp.

$$\sum_{i=1}^n x_i y_i = a \sum_{i=1}^n x_i + b \sum_{i=1}^n x_i^2, \quad (3.2.4.7.)$$

$$\sum_{i=1}^n y_i = na + b \sum_{i=1}^n x_i, \quad (3.2.4.8.)$$

ze kterého lze vypočítat konstanty a a b jako

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n y_i \sum_{i=1}^n x_i^2 - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n x_i y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}, \quad (3.2.4.9.)$$

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}. \quad (3.2.4.10)$$

Získanou soustavu lze zapsat v maticovém tvaru jako:

$$\begin{pmatrix} \sum_{i=1}^n y_i \\ \sum_{i=1}^n x_i y_i \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} n & \sum_{i=1}^n x_i \\ \sum_{i=1}^n x_i & \sum_{i=1}^n x_i^2 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} a \\ b \end{pmatrix}. \quad (3.2.4.11)$$

3.2.5. Diskuse

Po analýze měřených vzorků vychází, že pro vepřové koleno se mezní hodnota porušení vzorku nachází mezi 47 % a 62 % deformace a mezní hodnota napětí se pohybuje mezi 2 2300 až 3 3990 [Pa], kdežto pro vepřovou kyčel je interval mezní deformace mezi 43 % a 64 % a hodnoty mezního napětí jsou 2 0340 až 4 9860 [Pa]. Tyto vzorky byly dodány ve fyziologickém roztoku. Lidská kyčel byla dodána ve formolu, což způsobilo, že její vzorky byly velice tuhé, a naměřené hodnoty se od hodnot naměřených u kyčle vepřové liší. Mezní deformace porušení konzervovaných lidských vzorků se nachází v okolí 50 % až 55 %, ale mezní napětí se pohybuje mezi 1 6540 až 2 4570 [Pa]. Pro konzervované vzorky je interval mezní deformace i napětí menší než pro vzorky naložené ve fyziologickém roztoku. To je pravděpodobně způsobeno tím, že konzervace způsobí úbytek elasticity a chrupavka ztrácí schopnost přizpůsobit se zátěži přesto že je ponořená ve fyziologickém roztoku. Je tedy lepší provádět měření na nekonzervovaných vzorcích a to co nejdříve po jejich preparaci. Různorodost mezního napětí (obr. 3.2.3.2)

může být dána tím, v jakém kvadrantu se vzorek nacházel. Toto označení bylo dodáno pouze u lidských vzorků. Pro ověření této hypotézy je třeba naměřit více řádně označených vzorků. Také by zde mohlo hrát velkou roli, v jakém stavu byl vzorek odebrán a jakým stupněm artrózy byl postižen. Pro přesnou identifikaci mechanických vlastností a následného odvození vhodného konstitutivního vztahu chrupavky by bylo zapotřebí naměřit větší množství vzorků a provést statistické vyhodnocení získaných dat.

Aproximací průměrných hodnot kubickou funkcí ve tvaru $y = ax^3 + bx^2$ byly získány koeficienty a a b . Tyto koeficienty jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 3.2.5.1 Hodnoty materiálového modelu

Typ vzorku	Koeficient a	Koeficient b
Vepřové koleno (PK)	1.0098×10^3	0.6380×10^3
Vepřová kyčel (PH)	8.5834×10^2	0.4065×10^2
Lidská kyčel (HH)	-2.1859×10^3	5.8789×10^3

4. Závěr

V této práci byla popsána anatomie, degenerativní změny a mechanické vlastnosti chrupavky. V první řadě byla zkoumána metodika měření šelestí v kolenním kloubu, která se zdá být v jistém směru účinná. Podařilo se najít způsob, jakým lze zachytit šelestění. Ze všech vyzkoušených metod měření se jako použitelná ukázala jen jedna. Tato metoda by měla být podrobněji zkoumána v další práci. V dalším výzkumu by bylo dobré hledat ještě jiné alternativy. Naměřit a statisticky vyhodnotit více probandů s prokazatelnou artrózou, ale i s jinými onemocněními. Také by se mělo měřit pomocí tříosého akcelerometru místo jednoosého. Dále by se do budoucna měl změnit program pro vyhodnocování naměřených dat. V této práci byla data vyhodnocována v programu Excel. V budoucnu by to mohl být např. Matlab nebo C++.

Při měření mechanických vlastností chrupavky byly měřeny vzorky odebrané z vepřového kolene, vepřové kyčle a lidské kyčle. Vepřové vzorky byly uchovávány ve fyziologickém roztoku, kdežto vzorky z lidské kyčle byly konzervovány ve formolu. Většina vzorků byla cyklicky zatěžována, některé vzorky byly při tomto zatěžování poškozeny a tudíž nemohly být použity pro měření mezní deformace. Všechna získaná data z cyklického zatěžování a měření mezních deformací byla vyhodnocena a byly získány hodnoty mezních deformací a napětí. Dále byla data z cyklického zatěžování analyzována a byl nalezen materiálový model ve tvaru $y = ax^3 + bx^2$. Data byla zpracována v programu Matlab. Při porovnání výsledků bylo zjištěno, že vzorky uchovávané ve formolu (lidské) mají jiné mechanické vlastnosti než vzorky uchovávané ve fyziologickém roztoku (vepřové). Protože vepřové vzorky byly uchovávány jinak než ty lidské, nelze v této době s určitostí říci, že rozdílnost mechanických vlastností je způsobena konzervací lidských vzorků. Pro ověření této teorie je zapotřebí provést další měření na lidské chrupavce uchovávané ve fyziologickém roztoku.

V obou částech byla ověřena metodika měření a způsob vyhodnocování získaných dat. Pro ověření výsledků by bylo zapotřebí provést více měření a provést statistickou analýzu výsledků. Tento výzkum by měl pokračovat a rozvíjet se, protože by mohl mít velmi dobré uplatnění v oblasti medicíny. Měření šelestí by se dalo rozšířit i na jiné klouby jako např. na kyčelní, ramenní kloub nebo na klouby mezi články prstů. Pokud by se podařilo nalézt vhodnou metodu měření, dal by se určit stupeň artrózy v kloubu. Měřením mechanických vlastností by se dalo odhadnout, jakou zátěž by poškozený kloub měl vydržet. Tento výzkum by se dal také rozšířit například zkoumáním, za jak dlouho by bylo nutné aplikovat endoprotézu při určitém stupni artrózy a zatěžování chrupavky v daném kloubu.

Literatura

- [1] Čech, S., Horký, D. *Histologie a mikroskopická anatomie pro bakaláře 1.* dotisk, 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2009.
- [2] Čihák, R. *Anatomie 1.* Praha : Grada, 2001 (II). 497 s. ISBN 80 169-970-5.
- [3] Fung, Y.C. *Biomechanics - mechanical properties of living tissues.* Springer, New York. 2004.
- [4] Herberhold, C., Faber, S., Stammberger, T., Steinlechner, M., Putz, R., Englmeier, K.H., Reiser, M., Eckstein, F. In situ measurement of articular cartilage deformation in intact femoropatellar joints under static loading. *Journal of Biomechanics.* 1999. s. 1287-1295.
- [5] Huang, Chun-Yuh, Stankiewicz, Anna, Ateshiana, GerardA., Mow, Van C. Anisotropy, inhomogeneity, and tension-compression nonlinearity of human glenohumeral cartilage in finite deformation. *Journal of Biomechanics.*, New York, 2005. s.
- [6] Koudela, K. *Ortopedie.* Praha: Karolínium, 2003. 281 s. ISBN 80-246- 0654-2.
- [7] Křen, J., Rosenberg, J., Janíček, P., *Biomechanika.* Západočeská univerzita v Plzni, 2001, ISBN 80-7082-792-0.
- [8] Smutný, J.; Pazdera, L. *Časově frekvenční analýza reálných signálů.* Brno: ECON publishing, 2003.
- [9] Višna, P., Hart, R.: *Chrupavka kolena.* MAXDORF, 2006. ISBN 80-7345-084-4.
- [10] Kott, O. *Epidemiologický výskyt degenerativních změn v kloubech horní končetiny. In Plzeň lék. sborník.* Plzeň. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni, 2011. s. 115-178.
- [11] Rao, C.R., Toutenburg, H., Fieger, A., Heumann, C., Nittner, T. and Scheid, S. *Linear Models: Least Squares and Alternatives.* Springer Series in Statistics, 1999.
- [12] Li, L. P., Buschmann, M. D., Shirazi-Adl, A. A fibril reinforced nonhomogeneous poroelastic model for articular cartilage: inhomogeneous response in unconfined compression. *Journal of Biomechanics.* 2000. s. 1533-1541.

Příloha 1

Protokol			
Krok	Úkol		Ok
1	Kalibrace nuly měřícího zařízení pro buňku 200N		
2	Fýzák do mysy		
3	Foto BF		
4	Průměr a tloušťka		
5	1		
6	2		
7	3		
8	4		
9	5		
10	6		
11	Skokové zatížení		
12	5%		
13	10%		
14	15%		
15	20%		
16	25%		
17	30%		
18	35%		
19	40%		
20	45%		
21	50%		
22	Relaxace 10 min		
23	Foto MD		
24	Výměna buňky		
25	Kalibrace		
26	Tloušťka		
27	1		
28	2		
29	3		
30	4		
31	5		
32	6		
33	Deformace		
34	75%		
35	Foto AF		
36	Označení krabičky do formolu		