

**AGH**

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej

---

## Praca doktorska

**Jakub Kamiński**

dziedzina: **nauki ścisłe i przyrodnicze**

dyscyplina: **nauki fizyczne**

# **Komputerowa symulacja własności mechanicznych tkanki kostnej na podstawie biomechanicznego modelu kości w oparciu o pomiary mikrotomograficzne kości zwierzęcych**

Promotor: **dr hab. inż. Jacek Tarasiuk, prof. AGH**

Promotor pomocniczy: **dr hab. inż. Sebastian Wroński, prof. AGH**

Kraków, wrzesień 2024

**Oświadczenie autora rozprawy:**

Oświadczam, świadomy odpowiedzialności karnej za poświadczenie nieprawdy, że niniejszą pracę doktorską wykonałem osobiście i samodzielnie i że nie korzystałem ze źródeł innych niż wymienione w pracy.

data, podpis autora

**Oświadczenie promotorów rozprawy:**

Niniejsza rozprawa jest gotowa do oceny przez recenzentów.

data, podpisy promotorów rozprawy

# Przedmowa autora

Na wstępie dziękuję promotorom pracy prof. Jackowi Tarasiukowi i prof. Sebastianowi Wrońskiemu, ekspertom w dziedzinie pomiarów mikrotomograficznych oraz analizie i modelowania zróżnicowanych materiałów, za wprowadzenie w ciekawą tematykę, wartościowe rozmowy, partnerskie zaangażowanie podczas wspólnych badań, opiekę merytoryczną i cały poświęcony czas.

Chciałbym również złożyć szczerze podziękowania na ręce dr. Krzysztofa Janca oraz prof. Pawła Lipińskiego z LaBPS w Metz za cenne porady i życzliwe wsparcie podczas pobytu badawczego we Francji oraz inspirujące rozmowy w czasie wspólnych wyjazdów konferencyjnych.

Do finalnego kształtu badań przyczyniły się także rozmowy i korespondencje z uznanymi badaczami z dziedziny modelowania właściwości struktur kostnych, bezinteresownie dzielącymi się swoją wiedzą, w tym w szczególności z prof. Dieterem Pahrem podczas kongresu WCCM w Barcelonie, które zaowocowały wartościowymi komentarzami dotyczącymi wykorzystania w praktyce modelu Zysseta–Curniera i uzyskaniem dostępu badawczego do narzędzi obliczeniowych, a także z prof. Rodrigo Moreno, ekspertem w obszarze uogólnionej analizy stopnia anizotropii.

Interdyscyplinarne badania prowadzono w ramach studiów doktoranckich kierowanych przez prof. Janusza Tobię oraz finansowano z grantów dziekańskich i nie powstałyby bez wsparcia osób z Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH w Krakowie, w tym dr. Mariusza Jędrychowskiego, dr. Krzysztofa Kłodowskiego, dr. Magdaleny Kłodowskiej, dr. Macieja Śniechowskiego, dr. Janusza Malinowskiego, dr. Radosława Strzałki, dr. Elżbiety Strzałki, dr. Adriana Wita, dr. Kingi Jasiewicz, Pawła Mirego, Mateusza Machniaka i Bartłomieja Trzewiczka.

Chciałbym także wyrazić wdzięczność prof. Andrzejowi Lendzie (†) za inspirację do użycia systemu  $\LaTeX$  i tworzenia estetycznych oraz funkcjonalnych dokumentów PDF. Dzięki jego poradom elektroniczna wersja pracy została wzbogacona o elementy interaktywne ułatwiające zapoznanie się z treścią: trójwymiarowe modele z możliwością obracania (np. 4.2), odwołania do rysunków (np. 5.9) i tabel (np. 6.1), pozycje bibliograficzne (np. [152]), wzory, przypisy, oznaczenia oraz łącza internetowe i adresy DOI dla publikacji. W pracy umieszczone zostały także: spisy oznaczeń, rysunków i tabel, bibliografia oraz publikacje i życiorys autora.

Podziękowania kieruję także do wszystkich, którzy przyczynili się do tego, aby praca mogła zostać ukończona, w tym poprzez pomoc przy korekcie językowej, weryfikację roboczych wersji tekstu, a także zapewnienie zdrowych dawek uszczypliwości. W szczególności nie byłoby to możliwe bez pomocy moich teściów Agaty i Marka oraz przyjaciół Mateusza Loski, Michała Krzeka–Lubowieckiego, Jakuba Serafina, Darii Hemmerling i Marcina Bukowskiego.

I wreszcie z całego serca dziękuję mojej żonie Katarzynie oraz dzieciom Arturowi i Alinie za ogromną wyrozumiałość, poświęcenie i cierpliwość, a także rodzicom Oldze i Leszkowi, oraz siostrze Agnieszce i bratu Grzegorzowi za mobilizację, wspólne rozmowy i nieocenione wsparcie.



## Streszczenie

**W** medycynie i implantologii ważną rolę odgrywa znajomość własności mechanicznych kości. W typowej kości wyróżnić można dwie tkanki: kość zbitą i kość gąbczastą. Kość gąbczasta ma niezwykle złożoną strukturę przestrzenną, w której przeplatają się obszary ściśle do siebie przylegających beleczek kostnych z obszarami porów, wypełnionych w organizmie przez tłuszcz, szpik oraz inne tkanki miękkie. Bardzo ważny jest rozwój modeli komputerowych pozwalających przewidywać własności mechaniczne kości na podstawie precyzyjnych pomiarów nieniszczących tak, aby mogły zostać zaadaptowane i wykorzystane w przyszłości w praktyce klinicznej.

Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie symulacji komputerowych własności mechanicznych tkanki kostnej. Dane wejściowe do modelowania uzyskano w oparciu o wysokorozdzielcze pomiary mikrotomograficzne. Ponieważ głównym celem było opracowanie metodologii modelowania własności mechanicznych tkanki kostnej, w badaniach zdecydowano się wykorzystać kości zwierzęce. Opracowana metodologia pozostanie taka sama dla kości ludzkich, natomiast wykorzystanie w badaniach zwierząt rzeźnych zagwarantowało łatwy dostęp do dużej liczby zróżnicowanych próbek, nie wymagało również zgody komisji etycznej. Metodologia ta oparta została na metodzie elementów skończonych z wykorzystaniem opracowanego dedykowanego biomechanicznego modelu układu kostno-mięśniowego.

Pierwszy etap pracy polegał na uzyskaniu reprezentacji cyfrowej 6 wołowych kości udowych (koniec bliższy) na podstawie pomiaru mikrotomograficznego w niższej rozdzielczości w skali makro ( $45,6\ \mu\text{m}$ ). Następnie z każdej kości wypreparowano do zobrazowania w 7-krotnie wyższej rozdzielczości w skali mezo ( $6,5\ \mu\text{m}$ ) statystycznie reprezentatywne sześciennie próbki kości gąbczastej o objętości  $1\ \text{cm}^3$  w łącznej liczbie 70 sztuk. Dla każdej próbki wyznaczono eksperymentalnie parametry materiałowe w 3 prostopadłych kierunkach z użyciem miniaturowej maszyny do ściskania, w tym dla wybranych próbek w trakcie obrazowania tomograficznego.

W kolejnym etapie przeprowadzono precyzyjną rejestrację cyfrową opartą na lokalnych deskryptorach pomiędzy próbkami kości gąbczastej a zrekonstruowanymi kośćmi udowymi w celu uzyskania informacji o ich pozycji i orientacji w przestrzeni trójwymiarowej. Pozwoliło to na zestawienie tożsamyh obszarów uzyskanych w wyższej i niższej rozdzielczości. Dzięki temu

możliwy był również dobór parametrów binaryzacji w oparciu o porównanie wyznaczonych parametrów morfometrycznych (morfologicznych, topologicznych i teksturowych), a także zorientowanie przestrzenne wyników pomiarów mechanicznych wyciętych sześciennych próbek tkanki kostnej względem układu odniesienia związanego z kością udową. Na podstawie analizy głównych osi anizotropii przeprowadzonej dla próbek, skorygowano wielkości obszarów po ich obrocie do orientacji zgodnej z wyznaczonymi osiami. Zbadano korelacje statystyczne pomiędzy wyznaczonymi parametrami opisującymi strukturę oraz eksperymentalnymi danymi materiałowymi, uzyskując wartości i zależności zgodne z danymi literaturowymi. Kości udowe zostały poddane segmentacji i binaryzacji z użyciem parametrów wyznaczonych po rejestracji obszarów, wyznaczono również maski binarne obejmujące obszar zajmowany przez kości.

Przetworzone i przeanalizowane dane posłużyły do wielkoskalowych symulacji komputerowych. Po dyskretyzacji obszarów próbek kości gąbczastej zorientowanych zgodnie z głównymi osiami anizotropii, wykonano serię testów ściskania i ścinania metodą elementów skończonych w celu wyznaczenia pełnej postaci tensora sztywności. Wejściowe parametry beleczek kostnych określono w oparciu o porównanie z parametrami materiałowymi uzyskanymi w pomiarach. Na podstawie wyników uzyskanych z symulacji oraz analizy morfometrycznej (frakcji objętościowej oraz stopnia anizotropii) wyznaczono parametry modelu Zysseta–Curniera uśredniającego właściwości mechaniczne w symetrii ortotropowej. Otrzymane w ten sposób zależności posłużyły do zmapowania w zdyskretyzowanych kościach udowych uśrednionych właściwości w obrębie zajmowanym przez kość gąbczastą, zaś kości zbitej przypisane zostały właściwości izotropowe. Następnie wykorzystano model biomechaniczny układu kostno-mięśniowego dla kończyny tylnej krowy, zgodny z wartościami anatomicznymi, do przeprowadzenia symulacji statycznego stanu obciążenia metodą elementów skończonych. Do porównania z docelowym mapowaniem wykorzystano cztery uproszczone schematy: izotropowy z tą samą stałą wartością frakcji objętościowej dla kości zbitej i gąbczastej, izotropowy z dwoma różniącymi się stałymi wartościami frakcji objętościowej dla kości zbitej i gąbczastej, izotropowy z mapowaniem rzeczywistej frakcji objętościowej dla kości gąbczastej oraz ortotropowy dla kości gąbczastej nieuwzględniający rzeczywistej orientacji głównych osi anizotropii. Wykazano, że dopiero pełne mapowanie ortotropowe z uwzględnieniem rzeczywistej frakcji objętościowej i orientacji dla kości gąbczastej, wraz z przyjęciem odrębnych właściwości dla kości zbitej pozwala na uzyskanie rozkładów naprężeń i odkształceń zgodnych z aktualnym stanem wiedzy.

Opracowana metodologia została zaprojektowana do przewidywania zmian własności mechanicznych kości w czasie adaptacji funkcjonalnej pod wpływem obciążeń zewnętrznych. Uzyskane wyniki pomiarowe i modele komputerowe mogą stanowić również podstawowe źródło informacji do wykorzystania podczas dalszych wyspecjalizowanych opracowań, w tym dla danych uzyskanych podczas wysokorozdzielczego obrazowania *in vivo* dla kości ludzkich.

## Słowa kluczowe

kość udowa, kość gąbczasta, mikrostruktura, własności mechaniczne, anizotropia, MES

# Abstract

**T**HE knowledge of mechanical properties of bones plays an important role in medicine and implantology. Two tissues can be distinguished in typical bone: cortical bone and cancellous bone. The latter has a highly complex spatial structure in which number of trabeculae, closely adjacent to one another, are intertwined with pore areas filled with fat, marrow and other soft tissues. It is very important to develop computer models that allow for predicting of the mechanical properties of bone, based on precise non-destructive measurements, so that they can be adapted and used in the future clinical practice.

The aim of the dissertation was to carry out computer simulations of the mechanical properties of bone tissue. Input data for modeling was obtained by means of high resolution microtomographic measurements. Since the main goal was to develop a methodology for modeling of the mechanical properties of bone tissue, animal bones were analyzed during the research. While the choice of slaughter animals has guaranteed easy access to a large number of diverse specimens, and did not require ethical committee approval, the developed methodology remains the same for human bones. Presented methodology is based on finite element method together with the developed specialized biomechanical model of the musculoskeletal system.

The first step was to obtain a digital representation of 6 bovine femurs (proximal end) based on tomographic measurement in lower resolution in macro scale ( $45.6\ \mu\text{m}$ ). Then, 70 statistically representative cubic cancellous bone specimens of  $1\ \text{cm}^3$  volume were dissected for the purpose of imaging in 7-times higher resolution in meso scale ( $6.5\ \mu\text{m}$ ). The material parameters were determined experimentally in 3 perpendicular directions for each specimen, using a miniature compression machine, including simultaneous tomographic imaging in selected cases.

At the next stage, a precise digital registration based on local descriptors between cancellous bone specimens and reconstructed femur bones was performed in order to obtain information about their position and orientation in the three-dimensional space. This allowed to juxtapose identical volumes obtained in higher and lower resolution. Thanks to that it was also possible to select the binarization parameters basing on the comparison of determined morphometrical parameters (morphological, topological and textural), as well as to orient spatially the results of mechanical measurements of dissected cubic bone specimens relative to the femoral bone

reference system. The sizes of the volumes have been corrected after alignment consistent with the principal axes of anisotropy after analysis conducted for the specimens. Statistical correlations between determined parameters describing the structure and experimental material data were investigated, obtaining values and relationships consistent with the literature data. Femoral bones were subjected to segmentation and binarization using parameters determined after registration of volumes, binary masks covering volumes occupied by bones were also created.

The processed and analyzed data was used for multi-scale computer simulations. After discretization of the volumes of cancellous bone specimens oriented in principal axes of anisotropy, a series of compression and shear tests was performed using finite element method to determine the full form of the stiffness tensor. Input parameters of trabeculae were determined by comparison with material parameters obtained during measurements. Based on the results obtained from simulations and morphometrical analysis (volume fraction and degree of anisotropy), parameters of the Zysset–Curnier model, which averages mechanical properties in orthotropic symmetry, were determined. The relationships obtained this way were used for mapping of the averaged properties within the volumes filled with cancellous bone in the discretized femoral bones, and assignment of the isotropic properties to the cortical bone. The biomechanical model of the musculoskeletal system of cow hind leg, consistent with anatomical values was then used to carry out the simulation of static load condition, using finite element method. Four simplified schemes were used for comparison with the final mapping: isotropic with the same constant value of volume fraction for cortical and cancellous bone, isotropic with two different constant values of volume fraction for cortical and cancellous bone, isotropic with mapping of the actual volume fraction for cancellous bone and orthotropic for cancellous bone without taking into account the actual orientation of the principal axes. It was shown that only full orthotropic mapping with actual volume fraction and orientation for cancellous bone, together with assigning separate properties for cortical bone allows for obtaining the distributions of stresses and strains consistent with the current state of knowledge.

The developed methodology was designed to predict changes in mechanical properties of bones during functional adaptation under external loads. Obtained experimental results and computer models can also constitute a basic source of information for usage in further specialized studies, including data obtained through high resolution *in vivo* imaging of human bones.

## Keywords

femoral bone, cancellous bone, microstructure, mechanical properties, anisotropy, FEM



# Oznaczenia

Symbol	Rozwinięcie (ang.)	Znaczenie
<b>BS</b>	<i>bone surface</i>	zrekonstruowana powierzchnia kości [ $\text{mm}^2$ ]
<b>BS/BV</b>	<i>specific bone surface</i>	stosunek powierzchni do frakcji [ $\text{mm}^2/\text{mm}^3$ ]
<b>BS/TV</b>	<i>bone surface density</i>	stosunek powierzchni do obszaru [ $\text{mm}^2/\text{mm}^3$ ]
<b>BV</b>	<i>bone volume</i>	obszar zajmowany przez kość [ $\text{mm}^3$ ]
<b>BV/TV</b>	<i>bone volume fraction</i>	frakcja objętościowa [0, 1]
<b>CBCT</b>	<i>cone beam computed tomography</i>	tomografia komputerowa wiązki stożkowej
<b>CT</b>	<i>computed tomography</i>	tomografia komputerowa (TK)
<b>Conn.D</b>	<i>connectivity density</i>	gęstość połączeń [ $1/\text{mm}^3$ ]
<b>D</b>	<i>fractal dimension</i>	wymiar fraktalny $[0, \infty)$
<b>DA</b>	<i>degree of anisotropy</i>	stopień anizotropii [0, 1]
<b>EF</b>	<i>ellipsoid factor</i>	współczynnik typu struktury $[-1, 1]$
<b>FEM</b>	<i>finite element method</i>	metoda elementów skończonych (MES)
<b>hFE</b>	<i>homogenized finite elements</i>	homogenizowane elementy skończone
<b>HR-pQCT</b>	<i>high resolution peripheral quantitative computed tomography</i>	obwodowa ilościowa tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości
<b>H</b>	<i>fabric tensor</i>	tensor struktury z pomiaru anizotropii
<b>M</b>	<i>fabric tensor</i>	tensor struktury zgodny z relacją $\mathbf{M} = \mathbf{H}^{-\frac{1}{2}}$
<b>micro-CT</b>	<i>micro-computed tomography</i>	mikrotomografia komputerowa ( $\mu\text{CT}$ )
<b>micro-FE</b>	<i>micro-finite elements</i>	mikroelementy skończone ( $\mu\text{FE}$ )
<b>MIL</b>	<i>mean intercept length</i>	średnia odległość pomiędzy fazami
<b>PMUBC</b>	<i>periodic compatible mixed uniform boundary conditions</i>	mieszane jednorodne warunki brzegowe kompatybilne z periodycznymi
<b>ROI</b>	<i>region of interest</i>	region zainteresowania
<b>RVE</b>	<i>representative volume element</i>	reprezentatywny element objętościowy
<b>SMI</b>	<i>structure model index</i>	współczynnik typu struktury $(-\infty, 4]$
<b>Tb.Sp</b>	<i>trabecular separation</i>	średnia odległość beleczek [mm]
<b>Tb.Th</b>	<i>trabecular thickness</i>	średnia grubość beleczek [mm]
<b>TV</b>	<i>total volume</i>	objętość całego obszaru zainteresowania [ $\text{mm}^3$ ]
<b>VOI</b>	<i>volume of interest</i>	przestrzenny obszar zainteresowania



# Spis treści

<b>1. Wprowadzenie</b>	1
1.1. Wstęp	2
1.2. Budowa i funkcje kości	3
1.2.1. Podstawowe funkcje kości	4
1.2.2. Makroskopowa budowa kości	5
1.2.3. Budowa chemiczna kości	6
1.2.4. Charakterystyka tkanek	7
1.2.5. Przebudowa tkanki kostnej	10
1.3. Badania układu kostnego	10
1.4. Cel i zakres pracy	12
1.5. Zawartość pracy	13
<b>2. Właściwości kości</b>	15
2.1. Wstęp	16
2.2. Podstawowe wielkości materiałowe	17
2.2.1. Siły i przemieszczenia	17
2.2.2. Naprężenia i odkształcenia	18
2.2.3. Parametry materiałowe	19
2.2.4. Związki konstytutywne	20
2.3. Modelowanie właściwości	23
2.3.1. Charakterystyka modelowania	23
2.3.2. Modele uśredniające	24
2.3.3. Metoda elementów skończonych	27
2.4. Pomiar właściwości	29
2.4.1. Techniki pomiarowe	29
2.4.2. Wyniki literaturowe	30
<b>3. Pomiary eksperymentalne</b>	33
3.1. Wstęp	34
3.2. Przygotowanie do pomiarów	36
3.2.1. Metody pomiarowe	37

3.2.2.	Preparatyka kości . . . . .	38
3.3.	Pomiary mikrotomograficzne . . . . .	40
3.3.1.	Skala makro i mezo . . . . .	40
3.3.2.	Pomiar w teście ściskania . . . . .	41
3.4.	Wyniki . . . . .	42
3.4.1.	Wyznaczenie stałych materiałowych . . . . .	43
3.4.2.	Wyznaczenie gęstości . . . . .	45
3.5.	Dyskusja . . . . .	47
<b>4.</b>	<b>Rejestracja danych . . . . .</b>	<b>51</b>
4.1.	Wstęp . . . . .	52
4.2.	Przygotowanie do rejestracji . . . . .	53
4.2.1.	Przekształcenia macierzowe . . . . .	54
4.2.2.	Połączenie fragmentów kości udowych . . . . .	55
4.2.3.	Obszary reprezentatywne próbek kości . . . . .	56
4.3.	Efektywna rejestracja danych 3D . . . . .	58
4.3.1.	Założenia rejestracji opartej na deskryptorach . . . . .	59
4.3.2.	Adaptacja funkcjonalności rejestracji . . . . .	61
4.4.	Wyniki . . . . .	62
4.4.1.	Cyfrowe wycięcie próbek z kości udowych . . . . .	62
4.4.2.	Rejestracja kości z dwóch różnych skal pomiarowych . . . . .	63
4.5.	Dyskusja . . . . .	66
<b>5.</b>	<b>Przetwarzanie i analiza danych . . . . .</b>	<b>69</b>
5.1.	Wstęp . . . . .	70
5.2.	Przygotowanie do analizy . . . . .	72
5.2.1.	Progowanie globalne . . . . .	73
5.2.2.	Progowanie lokalne . . . . .	74
5.2.3.	Usunięcie rozłącznych fragmentów . . . . .	77
5.3.	Analiza morfometryczna . . . . .	77
5.3.1.	Fracja objętościowa . . . . .	79
5.3.2.	Rozmiary beleczek i porów . . . . .	80
5.3.3.	Powierzchnia . . . . .	80
5.3.4.	Gęstość połączeń . . . . .	81
5.3.5.	Kształt geometrii . . . . .	82
5.3.6.	Stopień anizotropii . . . . .	84
5.4.	Wyniki . . . . .	91
5.4.1.	Parametry morfometryczne . . . . .	91
5.4.2.	Weryfikacja progowania . . . . .	98
5.5.	Dyskusja . . . . .	101

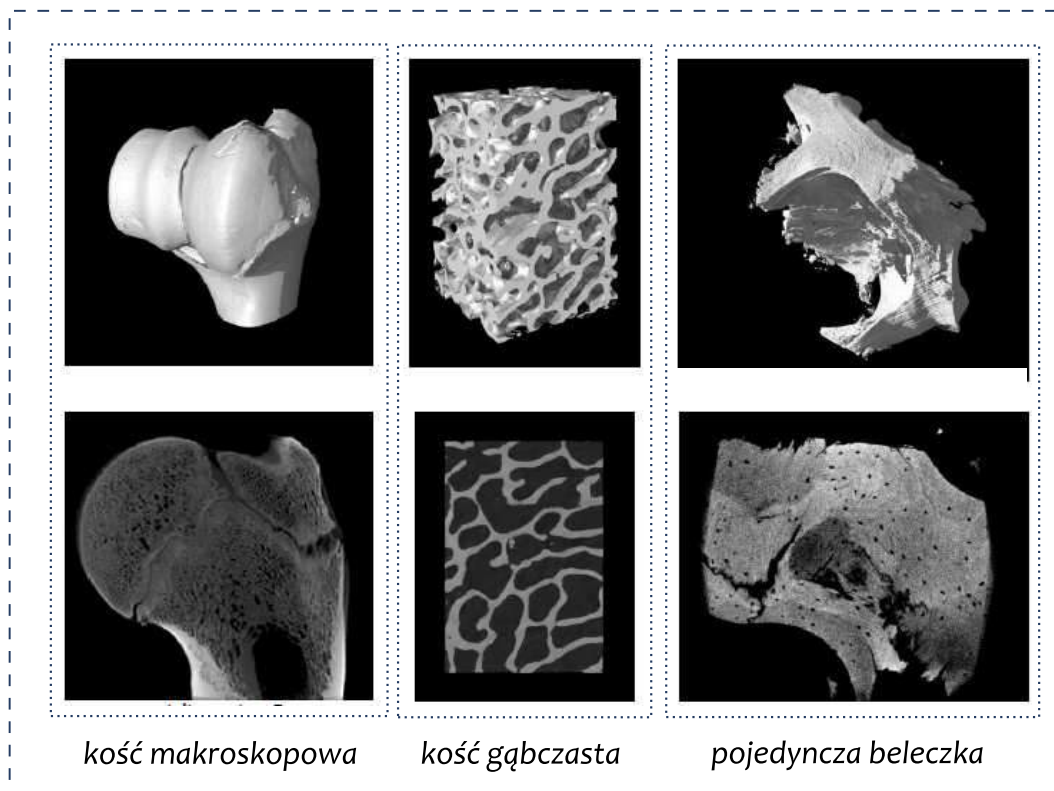
---

<b>6. Modelowanie w skali mezo</b>	107
6.1. Wstęp	108
6.2. Przygotowanie do obliczeń	111
6.2.1. Cyfrowe wycięcie obszarów	112
6.2.2. Metody i pakiety obliczeniowe	114
6.3. Testy ściskania i ścinania	116
6.3.1. Parametry wejściowe	117
6.3.2. Warunki brzegowe	117
6.3.3. Weryfikacja testów	120
6.4. Wyniki	123
6.4.1. Walidacja i kalibracja symulacji	125
6.4.2. Parametry modelu uśredniającego	129
6.5. Dyskusja	136
<b>7. Modelowanie w skali makro</b>	141
7.1. Wstęp	142
7.2. Przygotowanie do symulacji	144
7.2.1. Binarystacja i segmentacja	144
7.2.2. Analiza morfometryczna	144
7.2.3. Generowanie siatek obliczeniowych	145
7.2.4. Mapowanie właściwości do elementów	146
7.3. Model kostno-mięśniowy	146
7.3.1. Założenia modelu	147
7.3.2. Dobór parametrów modelu	150
7.4. Wyniki	152
7.4.1. Przetestowanie poprawności mapowania	152
7.4.2. Realizacja schematów obliczeniowych	153
7.5. Dyskusja	162
<b>Podsumowanie</b>	165
Główne problemy badawcze	165
Charakterystyka przeprowadzonych badań	166
Zastosowania i perspektywy rozwoju	167
Pomiary mikrotomograficzne	167
Obrazowanie kliniczne	168
Medycyna spersonalizowana	168
Model przebudowy kości	168
Wykorzystane narzędzia obliczeniowe	169
Najważniejsze osiągnięcie pracy	170

---

<b>A. Zestawienie wyników pomiarów</b> . . . . .	171
Pomiary ściskania . . . . .	171
Pomiary gęstości . . . . .	171
<b>B. Zestawienie wyników morfometrii</b> . . . . .	179
Analiza morfometrii . . . . .	179
<b>C. Zestawienie wyników symulacji</b> . . . . .	183
Parametry modelu uśredniającego . . . . .	183
Zestawy z symulacji i morfometrii . . . . .	183
<b>Spis rysunków</b> . . . . .	185
<b>Spis tabel</b> . . . . .	193
<b>Bibliografia</b> . . . . .	195
<b>Publikacje autora w dyscyplinie naukowej</b> . . . . .	209
Główne wskaźniki bibliometryczne z obszaru biofizyki i medycyny . . . . .	209
Artykuły w czasopismach i rozdziały w książkach w tematyce pracy . . . . .	209
Publikacje i abstrakty konferencyjne w tematyce pracy . . . . .	209
Pozostałe artykuły w czasopismach z obszaru biofizyki i medycyny . . . . .	210
<b>Życiorys autora</b> . . . . .	211

## Wprowadzenie



Rysunek 1.1. Możliwości pomiarowe mikrotomografii komputerowej: obrazowanie kości w skali makro (po lewej), kości gąbczastej w skali mezo (w środku) i beleczek w skali mikro (po prawej).

### Najważniejsze zagadnienia rozdziału

- Nakreślenie kontekstu połączenia pomiarów eksperymentalnych i symulacji komputerowych w celu badania własności tkanki kostnej.
- Podkreślenie wagi najważniejszych problemów dotyczących kości.
- Przegląd literatury ze szczególnym uwzględnieniem aspektu modelowania.
- Opis budowy hierarchicznej i podstawowych funkcji kości.
- Opis struktury kości z podziałem na kość zbitą i gąbczastą.
- Przedstawienie celu i zakresu pracy oraz sformułowanie problemów badawczych.
- Charakterystyka rozdziałów pracy i schematu graficznego ilustrującego badania.

## 1.1. Wstęp

**P**OMIAR mikrotomograficzny wypreparowanych próbek w warunkach laboratoryjnych jest określany jako złoty standard pozwalający na uzyskanie precyzyjnej informacji o trójwymiarowej mikrostrukturze materiałów [96]. W przypadku pomiaru na żywych organizmach pracuje się nad ograniczeniem dawek promieniowania rentgenowskiego, tak aby były w jak najmniejszym stopniu inwazyjne. W przeciwieństwie do klinicznych wersji tomografii komputerowej, w przypadku nowoczesnych urządzeń przeznaczonych do obrazowania *in vivo*, można osiągnąć stosunkowo wysokie rozdzielczości przy niskich dawkach promieniowania, ale tego typu techniki są dedykowane jedynie do wybranych obszarów ludzkiego ciała (np. końca dalszego kości piszczelowej lub kości szczęki z zębami).

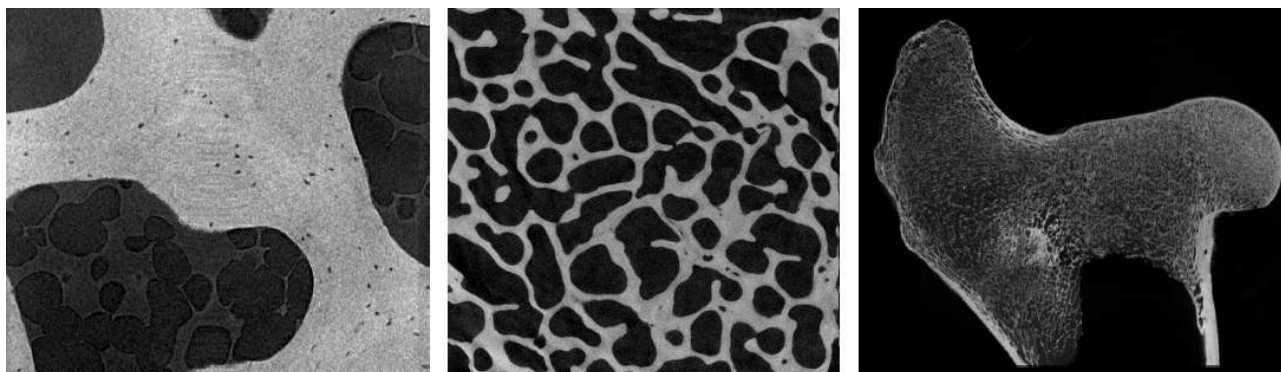
Możliwości jakie stwarzają pomiary rentgenowskie, pozwalają na badanie powiązań pomiędzy właściwościami danych mikrotomograficznych z obrazowania *in vitro* i *ex vivo* oraz danych z wykorzystanych pomiarów tomograficznych *in vivo*. Sama technika mikrotomograficzna pozwala na zobrazowanie całych organów w skali makro po wypreparowaniu (np. kości długich) wyciętych podobszarów w skali mezo (np. mikrostruktura kości gąbczastej), a nawet wyodrębnionych elementów struktury (np. pojedyncze beleczki kostne). Na bazie zautomatyzowanej trójwymiarowej rejestracji cyfrowej obszarów istnieje możliwość ich zestawienia, co daje podstawę do testów metod przetwarzania uzyskanych w ten sposób obrazów. Bardzo ważny jest rozwój modeli komputerowych pozwalających przewidywać własności mechaniczne kości, na podstawie precyzyjnych pomiarów nieniszczących, tak aby mogły zostać zaadaptowane i wykorzystane w przyszłości w praktyce klinicznej.

Biomechanika i biofizyka są głównymi obszarami nauk niezbędnych do zrozumienia mechanizmów, które regulują wiele procesów biologicznych. Procesy te przekładają się na funkcje pełnione przez tkanki. Modelowanie komputerowe właściwości mechanicznych tkanek na podstawie danych pomiarowych jest jednym z największych wyzwań badawczych dla inżynierów i analityków. **Jedną z głównych motywacji modelowania kończyny tylnej krowy w niniejszej pracy była możliwość wieloskalowego pomiaru kości udowej przy pomocy aparatury mikrotomograficznej dostępnej w Laboratorium Mikro- i Nano Tomografii (LMINT) na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH w Krakowie.** Dzięki temu możliwe było zobrazowanie fragmentów kości makroskopowych i uzyskanie szerokich zakresów dla wyników analizy parametrów morfometrycznych wypreparowanych próbek w przypadku kości zwierząt rzeźnych w różnym wieku. Choć wyjaśnienie specyfiki przebudowy mikrostruktury w implantologii oraz chorobach dotyczących kości osób w podeszłym wieku takich jak osteoporoza, stanowi zwykle podstawową motywację do badań kości na bazie kości ludzkich, to opracowania bazujące na kościach zwierzęcych może również być bardzo wartościowe, pełniąc rolę komplementarną. Uzyskanie przebiegów ujętych w czasie dla parametrów strukturalnych i właściwości mechanicznych może być utrudnione w przypadku kości ludzkich, które uzyskuje się głównie w przypadku wymiany chorej tkanki na endoprotezę. Tego typu ogra-



niczenia nie występują w przypadku kości zwierzęcych takich jak wołowe kości udowe zdrowych osobników, które strukturalnie mocno przypominają kości ludzkie.

Aby móc opisać należycie kontekst zaplanowanych badań, należy zdefiniować skale wykorzystywane w kontekście pomiarowym i obliczeniowym na bazie mikrotomografii komputerowej. Możliwości pomiarowe w przypadku obrazowania mikrotomograficznego zilustrowano na rysunku 1.2, dla kości w skali makro, kości gąbczastej w skali mezo i beleczek kostnych w skali mikro. Skala makro odpowiada poziomowi całych makroskopowych kości, takich jak kość udowa, rozciągając się od kilku milimetrów do kilku centymetrów i więcej (w zależności od gatunku), składając się zarówno z kości zbitej jak i gąbczastej. Skala mezo odpowiada porowatej mikrostrukturze połączonych ze sobą w formie sieci beleczek kostnych, rozciągając się od kilkuset mikrometrów do kilku milimetrów, a czasem większej (w zależności od wielkości kości). Skala mikro odpowiada beleczkowej tkance kostnej, rozciągając się od dziesiątek do setek mikrometrów. W przypadku aparatury znajdującej się na wyposażeniu LMINT, pozwala to na obrazowanie fragmentów kości makroskopowych z wokselem rzędu 50–70  $\mu\text{m}$  w skali makro, próbek kości gąbczastej z wokselem rzędu 5–20  $\mu\text{m}$  w skali mezo i pojedynczych beleczek kostnych z wokselem rzędu 0,5–1  $\mu\text{m}$ . Można więc umownie przyjąć, że pomiędzy skalą mikro, a makro jest 100-krotna, a pomiędzy mezo, a makro 10-krotna różnica.



Rysunek 1.2. Możliwości pomiarowe mikrotomografii komputerowej na przykładzie zwierzęcej kości udowej: obrazowanie beleczek kostnych w skali mikro z wokselem 0,5  $\mu\text{m}$  (po lewej), kości gąbczastej w skali mezo z wokselem 5  $\mu\text{m}$  (w środku) i całej kości w skali makro z wokselem 50  $\mu\text{m}$  (po prawej).

## 1.2. Budowa i funkcje kości

Stopień skomplikowania struktury kości wymaga sięgnięcia do podstaw biologicznych i fizjologicznych w celu wiarygodnego modelowania ich właściwości jako materiału. Poniżej opisano mechaniczne, krwiotwórcze i metaboliczne funkcje, a także budowę chemiczną i makroskopową kości, na przykładzie kości ludzkich. Zaplanowane w pracy badania opierają się na kościach zwierzęcych, ale w przypadku kości długich takich jak kość udowa, charakterystyka budowy i właściwości są analogiczne jak w kościach ludzkich. Podstawowe różnice kości pochodzenia zwierzęcego i ludzkiego obejmują przede wszystkim wiek i wagę, ale struktura kości w nasadach kości długich jest podobna i pełni tożsame funkcje. Metodologia opisywanych badań została

tak zaplanowana, żeby uwzględniała uniwersalnie zarówno zwierzęce, jak i ludzkie kości. Poniżej scharakteryzowano tkankę kostną wraz z opisem budowy i przebudowy jej mikrostruktury.

Kości powstają w procesie kostnienia, który zaczyna się w życiu płodowym, a kończy się po osiągnięciu przez organizm dojrzałości. U ludzi uformowanie następuje zwykle po 20 roku życia. Zmiany w tkance kostnej, które pojawiają się podczas normalnego starzenia się organizmu, są zjawiskiem powszechnym w biologii niezależnie od rasy, stylu życia, położenia geograficznego czy wreszcie epoki, w której dany organizm żyje. Zmiany te występują w naturze zarówno pod względem ilościowym jak i jakościowym, oba te kryteria bierze się pod uwagę w próbach modelowania przebudowy (ang. *remodeling*) kości. Powszechnie uznaje się, że związany z wiekiem spadek zawartości mineralnej lub gęstości mineralnej, osłabia strukturalnie kości i tym samym predysponuje do złamań [157].

Zróznicowana na wielu poziomach budowa wewnętrzna kości bierze swoją przyczynę w mnogości funkcji, za które odpowiadają. Ze względu na dominujący w świadomości większości z nas związek z układem ruchu człowieka, zwykliśmy utożsamiać szkielet z głównym powodem, dla którego kości znajdują się w naszym organizmie. Jednak współpraca biernego układu ruchu, tj. kości, więzadeł i stawów, z czynnym układem ruchu, czyli mięśniami, nie jest jedyną przyczyną, dla których tkanka kostna jest tak istotna [22].

### 1.2.1. Podstawowe funkcje kości

Ze względu na sferę, której dotyczą, można wyróżnić następujący podział podstawowych funkcji kości: *mechaniczne*, *krwiotwórcze* i *metaboliczne*. Każda z funkcji jest niemniej ważna od innej, a wszystkie składają się na obraz kości jako wyspecjalizowanych narzędzi [12, 31, 141].

Szkielet jako materiał konstrukcyjny dla całego ciała jest sztywny, silny i wytrzymały, ale jednocześnie stosunkowo lekki. Jest kluczowy przy wzroście wszystkich elementów organizmu, zapewnia swoistą ramę i stanowi konstrukcję nośną dla mięśni. Kości składające się na szkielet wraz z mięśniami, ścięgnami i więzadłami, są podstawą dla mechaniki ruchu i transferu sił, tak aby ciało mogło manipulować w przestrzeni trójwymiarowej swoimi poszczególnymi częściami. Pełni również ważną rolę przy ochronie narządów wewnętrznych, np. czaszka chroniąca mózg lub żebra osłaniające serce i płuca.

Jedną z ważniejszych funkcji kości jest również rola krwiotwórcza. Szpik kostny, umiejscowiony w obrębie trzonu kości długich i przestrzeni porowej kości gąbczastej, produkuje komórki krwi w procesie zwanym hematopoezą.

Z krwią związana jest również kolejna funkcja kości, bowiem są odpowiedzialne za buforowanie krwi, chroniąc przed nadmiernymi zmianami pH. Aspekt metaboliczny ujawnia się także w roli magazynowania soli mineralnych - kości stanowią dla ciała rezerwuar takich minerałów jak wapń czy fosfor. W zmineralizowanej macierzy kostnej przechowywane są również czynniki wzrostu. W niektórych sytuacjach tkanka kostna może także wchłonąć metale ciężkie i inne obce elementy, usuwając je z krwi i zmniejszając wpływ na inne tkanki. Po detoksykacji mogą być stopniowo uwalniane z organizmu.

### 1.2.2. Makroskopowa budowa kości

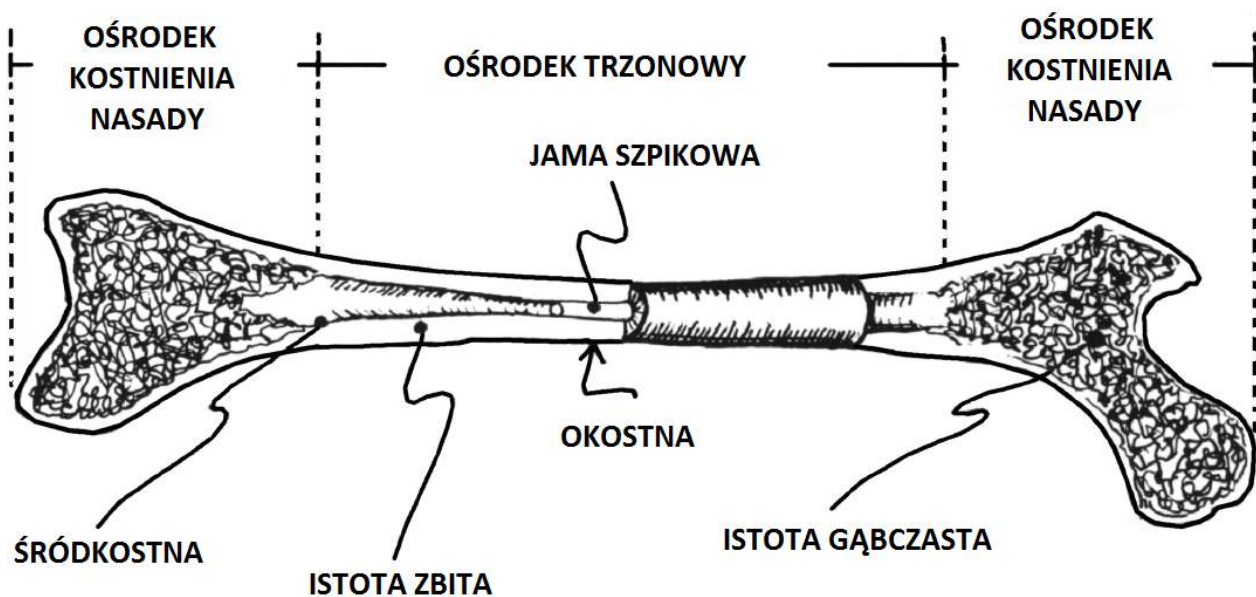
Kości są poddawane ciągłym obciążeniom i dlatego struktura dostosowuje się, będąc solidniejszą, tam gdzie tego potrzeba i zmniejszając swoje gabaryty w miejscach, w których jest to możliwe. Wobec różnych funkcji, które kości spełniają w organizmie, u dorosłego człowieka znajdziemy kości różniące się pomiędzy sobą kształtem i rozmiarem.

Makroskopowo kości mogą być sklasyfikowane w następujący sposób: *krótkie, długie, płaskie* oraz *różnokształtne* [3, 136].

W przypadku kości krótkich długości w każdym z wymiarów są do siebie zbliżone. Kości te mają kształt sześcienny, a ich główną funkcją jest zapewnianie wsparcia i stabilności przy niewielkich ruchach ciała. Są one pokryte kilkoma warstwami istoty zbitej, zaś wewnątrz znajduje się istota gąbczasta. Kości krótkie to np. nadgarstek (łac. *carpus*), kość skokowa (łac. *talus*) i kość łódeczkowata (łac. *scaphoideum*).

Jeden z rozmiarów w przypadku kolejnej kategorii, tj. kości długich, znacznie przewyższa pozostałe, wobec czego pełnią one w organizmie kluczowe funkcje umożliwiające ruch i przenoszenie obciążeń. Jak było już wcześniej wspomniane, to właśnie głównie we wnętrzu tego rodzaju kości tworzone są komórki krwi. Ważna jest również ich rola w regulacji gospodarką solami mineralnymi. Kości długie kończyn dolnych to np. kość udowa (łac. *femur*), strzałkowa (łac. *fibula*) i kość piszczelowa (łac. *tibia*).

Przekrój poprzeczny kości długiej na przykładzie kości udowej zilustrowano na rysunku 1.3. Zbudowane z istoty zbitej ściany kości zapewniają jej wymagane parametry wytrzymałościowe. Natomiast rozmieszczona w nasadach istota gąbczasta zabezpiecza staw przed przeciążeniem [22].



Rysunek 1.3. Struktura wewnętrzna kości długiej na przykładzie kości udowej z wyróżnionymi istotą gąbczastą i zbitą [31].

Zbudowana z istoty zbitej *lamelarna* i *osteonalna* struktura kości zbitej oraz uformowana z istoty gąbczastej *porowata* struktura kości gąbczastej zostały szerzej opisane w dalszej części rozdziału przy charakterystyce mikrostruktury tkanki kostnej.

Nasady oraz części przynasadowe kości charakteryzują się dużą sprężystością i zbudowane są z istoty gąbczastej otoczonej z zewnątrz cienką warstwą istoty zbitej. Prawidłowe działanie stawów zapewniają, pokryte warstwą chrząstki, zewnętrzne powierzchnie kontaktowe nasad.

Trzon kości długich ma kształt wydłużonego cylindra, zbudowany jest z istoty zbitej, która zapewnia mu odpowiednią sztywność i zawiera wewnątrz jamę szpikową wypełnioną szpikiem kostnym.

Zadaniem szpiku jest m.in. wytwarzanie podstawowych składników krwi, tj. krwinek czerwonych, krwinek białych, granulocytów oraz płytek krwi. Tkanka ta wyściela jamy szpikowe otoczone kością zbitą i wypełnia przestrzenie porowe istoty gąbczastej. Żółty szpik kostny służy również jako miejsce do przechowywania kwasów tłuszczowych. Natomiast czerwony szpik znajdujący się w kościach płaskich i krótkich zawiera tkankę łączną, naczynia krwionośne i liczne „komórki szpiku”.

Okostna jest bogato unaczynioną i unerwioną cienką błoną zbudowaną z istoty zbitej. Dzięki komórkom kościotwórczym okostnej następuje zgrubienie kości przez odkładanie nowych warstw na jej powierzchni lub zrastanie uszkodzonej kości. Śródkostna bierze udział w regeneracji kości po złamaniu i obejmuje jednowarstwową strefę nabłonkową, powierzchniową warstwę istoty gąbczastej i komórki macierzyste.

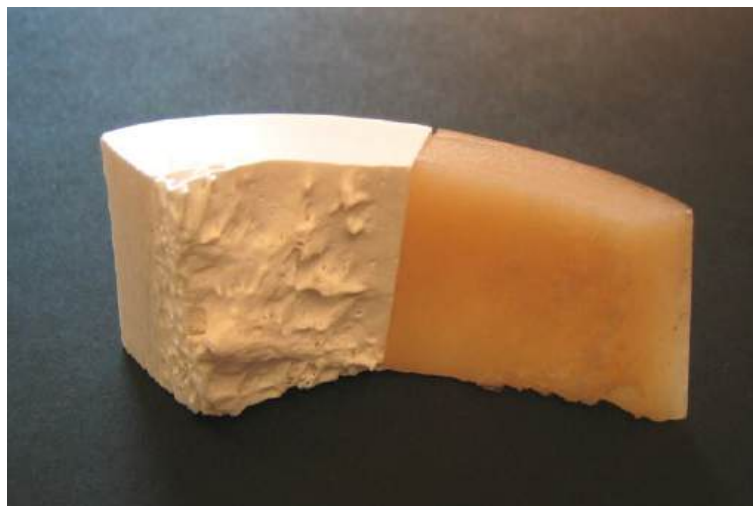
Kości płaskie są stosunkowo wąskie, spłaszczone, niejednokrotnie zakrzywione. Stanowią miejsce przyczepu dla mięśni i chronią narządy wewnętrzne. Dużą wytrzymałość mechaniczną zapewnia im specyficzne ułożenie warstw istoty zbitej.

Do ostatniej z wymienionych kategorii - kości różnokształtnych można zaliczyć wszystkie te, które nie będą mieściły się w żadnej z wyżej wymienionych grup, przede wszystkim z racji nieregularnych kształtów i odmiennych funkcji. Składają się one głównie z istoty gąbczastej z cienką zewnętrzną warstwą istoty zbitej.

### 1.2.3. Budowa chemiczna kości

Kość jest materiałem kompozytowym złożonym z fazy organicznej i nieorganicznej — na rysunku 1.4 zobrazowano każdą z nich. Biorąc pod uwagę masę jako kryterium, na tkankę kostną składają się: w 60 % nieorganiczne minerały, w 30 % organiczna macierz pozakomórkowa i w 10 % woda. Dla objętości proporcje przedstawiają się następująco: 40 %, 35 % i 25 % [31].

Fazę organiczną stanowi w ponad 90 % *osteoid*. Substancja ta, nazywana również osseiną (łac. *ossa*), jest podstawowym składnikiem budulcowym kości, który nadaje im sprężystość. Osteoid jest wydzielany przez osteoblasty, których funkcje opisano w dalszej części rozważań. Zawiera włókna kolagenu, białka niekolagenowe (osteonektyna i osteokalcyna), proteoglikany i fosfolipidy. Pozostałą część fazy organicznej stanowią komponenty komórkowe [136].



Rysunek 1.4. Właściwości mineralnych i sprężystych składników kości. Do oznaczenia lewej połowy został wykorzystany wybielacz (podchloryn), aby wytrawić kolagen i pozostawić składniki mineralne. Do prawej połowy użyto kwasu solnego w celu rozpuszczenia minerałów i pozostawienia kolagenu [14].

Odpowiedzialne za sprężystość włókna kolagenowe zbudowane są z *kolagenu typu I* (do 80 % masy wszystkich składników organicznych kości), który syntezowany jest w osteoblastach, a następnie wydzielany na zewnątrz, gdzie ulega precipitacji do włókienek o średnicy ok. 80 nm. Łączą się one ze sobą w postaci włókien o grubości 2–8  $\mu\text{m}$  będących składnikiem beleczek kostnych, zdolnych oprzeć się siłom ciągnącym [109].

Na fazę nieorganiczną składa się w 70 % hydroksyapatyt i fosforan wapnia, resztę zaś stanowią cytryniany, węglany, fluorki i jony hydroksylowe, a także woda. Fazę tę nazywa się zmineralizowaną macierzą kości, odpowiedzialną za jej twardość, odporność na zginanie i ściskanie [136].

Hydroksyapatyt ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) występuje w macierzy kości w postaci kryształków o rozmiarach rzędu kilkudziesięciu nanometrów (2–5 nm grubości na 15 nm szerokości na 20–50 nm długości płytki), dostrzegalnych jedynie pod mikroskopią elektronową. Grupy  $\text{OH}^-$  w strukturze chemicznej tej substancji mogą zostać częściowo zastąpione grupami węglanowymi, cytrynianowymi i fluorem [136].

Woda jest również ważnym składnikiem kości i odgrywa dużą rolę w procesie mineralizacji i poprawie własności mechanicznych. Znajduje się na różnych poziomach hierarchii: w porowatych regionach, np. naczyniach krwionośnych, lukach osteocytów i kanalikach, pomiędzy strukturą lamelarną, wewnątrz włókien. Odgrywa ważną rolę w ułożeniu włókien kolagenowych i pomaga nadać cechy strukturalne i właściwości fizyczne kolagenowi. Organizm nawadnia włókna kolagenowe, oddzielając sąsiadujące cząsteczki kolagenu w płaszczyźnie bocznej przez warstwę wody o grubości rzędu nanometrów, nie wpływając na osiową strukturę włókien [136].

#### 1.2.4. Charakterystyka tkanek

W organizmie ludzkim możemy odnaleźć ogromną liczbę komórek (ok. 30 bilionów), każda o wymiarach na ogół nie przekraczających kilkudziesięciu mikrometrów. Wśród wielu podzia-

łów wyróżnić można dwie podstawowe grupy tkanek: *nabłonkową* i *łączną*. Tkanę łączną można z kolei podzielić na: *właściwą* i *tkanki szkieletowe*, do których należy *tkanka chrzęstna* i *tkanka kostna* [22]. Chcąc scharakteryzować kość na poziomie fizjologii tkanek i komórek, należy wcześniej wspomnieć o tkance chrzęstnej, która zdaje się tworzyć z tkanką kostną parę o uzupełniających się właściwościach.

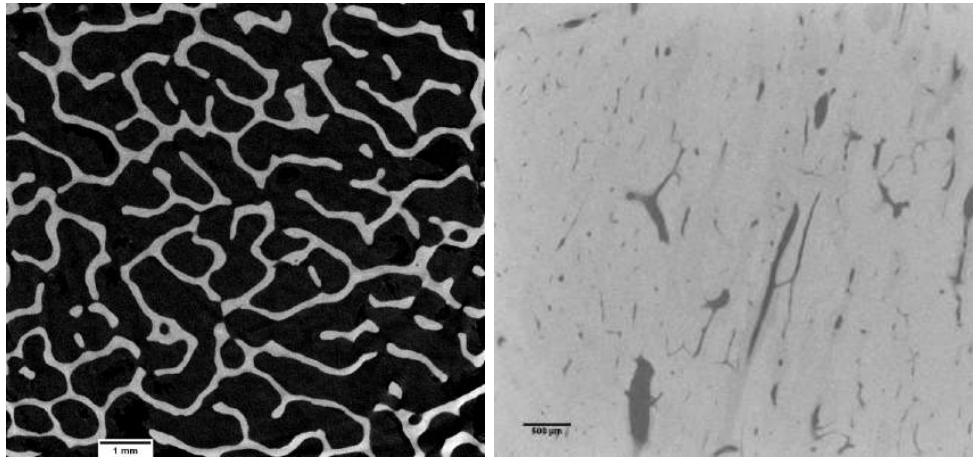
Tkanka chrzęstna, w przeciwieństwie do tkanki kostnej, nie wykazuje się dużą wytrzymałością mechaniczną, nie zawiera naczyń krwionośnych i nie posiada zdolności gojenia. Pełni rolę w formowaniu się młodej kości i wzroście. Charakteryzuje się bardzo małym współczynnikiem tarcia i idealnie nadaje się na powierzchnie trące. Wykorzystywana jest w przypadku przesunięć względem siebie elementów kości w stawach. Zapewnienia możliwie równomierne rozłożenie obciążeń mechanicznych na powierzchniach stawowych [109].

Struktura tkanki kostnej cechuje się charakterystyczną organizacją przestrzenną. Jak już wcześniej zostało wspomniane, komórki stanowią niewielką część całkowitej masy kości. Dzięki silnemu zmineralizowaniu i uporządkowaniu, tkanka kostna charakteryzuje się dużą twardością, sztywnością i wytrzymałością mechaniczną, ale komórki również mają udział w zapewnieniu wysokiej odporności na bodźce, gdyż odpowiadają za parametry struktury. Kość podlega ciągłej przebudowie, a za stan jej mikrostruktury odpowiadają wyspecjalizowane komórki. Część z nich odpowiada za tworzenie i mineralizację substancji międzykomórkowej, inne za rozpuszczanie, a niektóre z nich jedynie monitorują aktualny stan mechaniczny [109].

Pod względem budowy histologicznej wyróżniamy kość *grubowłóknistą* (pierwotną) oraz *drobnowłóknistą* (dojrzałą), do której z kolei zaliczyć można *kość gąbczastą* i *kość zbitą*.

W splotowatej kości gróbowłóknistej występują włókna kolagenowe w grubych pęczkach o nieregularnym przebiegu, dzięki czemu zawdzięcza swoją nazwę. Można w niej znaleźć również stosunkowo dużą liczbę osteocytów i składników organicznych w przeciwieństwie do fazy nieorganicznej. Struktura ta występuje głównie w początkowym okresie życia organizmu (podczas życia płodowego i w pierwszych etapach życia pozapłodowego). U dorosłego człowieka występuje w miejscach przyczepu ścięgien do kości, wyrostkach zębodołowych, błędniku kostnym, szwach czaszki, a także odgrywa rolę w czasie naprawy uszkodzeń kości. Pod względem mechanicznym jest mniej wytrzymała w stosunku do kości drobnowłóknistej, co wynika z mniejszej krystalizacji fazy mineralnej i nieregularnego ułożenia włókien kolagenowych [109].

Błaszkiowata kość drobnowłóknista jest dojrzałą formą tkanki kostnej, powstałą z tkanki grubowłóknistej w wyniku przebudowy realizowanej przez osteoklasty i osteoblasty. Zbudowana jest z blaszek kostnych o grubości 3-7  $\mu\text{m}$ , składających się z drobnych włókien kolagenowych (skąd bierze się jej nazwa). Włókna tworzące blaszki kostne zbudowane są zarówno z fazy organicznej (w tym kolagenu typu I) jak i minerałów [109]. Rodzaje struktur, które składają się na kość drobnowłóknistą, zilustrowano na rysunku 1.5.



Rysunek 1.5. Ilustracja porowatej struktury kości gąbczastej (po lewej) i lamelarnej struktury kości zbitej (po prawej) na podstawie pomiarów mikrotomograficznych [202].

Kość zbita (łac. *os compactum*, ang. *cortical bone*), której struktura uformowana jest z istoty zbitej (łac. *substantia compacta*), zbudowana jest z blaszek kostnych składających się na *osteony*. Blaszkę wypełniają objętość tkanki, tworząc wysoce uporządkowaną strukturę, która nadaje kości dużą twardość i wytrzymałość mechaniczną. Istota zbita nadaje kości jej charakterystyczny wygląd białej bryły o gładkiej powierzchni i stanowi ok. 80% całkowitej masy szkieletu. Bierze ona stosunkowo niewielki udział w procesach przemiany materii. Kość zbita współtworzy zewnętrzne warstwy kości płaskich oraz znajduje się w trzonach kości długich [12, 136].

Kość gąbczasta (łac. *os spongiosum*, ang. *spongy bone*, *cancellous bone*, *trabecular bone*), której mikrostruktura uformowana jest z istoty gąbczastej (łac. *substantia spongiosa*), zbudowana jest, podobnie jak kość zbita, z blaszek kostnych, ale układających się w połączone ze sobą *beleczone kostne*. W ciągu życia osobnika dochodzi do ciągłej zmiany i przebudowy tkanki kostnej, jako wyraz adaptacji do warunków otoczenia, co pozwala na równoważenie obciążeń działających na kość oraz odciążenie części szkieletu. Kość gąbczastą charakteryzuje mały ciężar właściwy i stanowi wysoce porowaty, anizotropowy i niejednorodny ośrodek, którego anizotropia związana jest z obciążeniami mechanicznymi, jakimi jest poddawana. Wskutek tych obciążeń beleczone zmieniają swoje położenie, orientację, kształt i wielkość. Wewnątrz beleczonek położone są osteocyty łączące się z innymi komórkami za pośrednictwem wypustek biegnących w kanałkach kostnych. Na powierzchni beleczonek kostnych mogą znajdować się liczne osteoblasty i osteoklasty. Kość gąbczasta jest także bardzo aktywna metabolicznie, z czym związane jest wbudowywanie i uwalnianie dużych ilości wapnia. Można ją znaleźć w nasadach i przynasadach kości długich oraz we wnętrzu kości płaskich [12, 109].

W rozważaniach dotyczących kości gąbczastej istotny jest aspekt jej wysokiej porowatości, bowiem kształtuje się ona na poziomie 70–95%. Przestrzeń międzytkankową wypełnia głównie szpik kostny. Grubość beleczonek w orientacji pionowej i poziomej wynosi 50–120 µm, a beleczoneki są najczęściej oddalone pomiędzy sobą odpowiednio 1200–5000 i 700–2000 µm [141]. Aspekty związane z opisem mikrostruktury porowatej kości gąbczastej poruszone zostały w rozdziale 5.

### 1.2.5. Przebudowa tkanki kostnej

Choć podczas zwykłego życia osobniczego, kości nie są obciążone w sposób znaczący, to na poziomie lokalnym są poddawane silnym naprężeniom. Efektem adaptacji do zmiennych w czasie warunków biomechanicznych jest optymalizacja kształtu kości, w tym utrzymywanie i dostosowywanie swojej struktury wewnętrznej do rozkładu działających na nią obciążeń mechanicznych. Przebudowa tkanki kostnej zależy od wielu czynników miejscowych i ogólnoustrojowych i zachodzi nawet w stanie równowagi biomechanicznej. Jest cyklicznym procesem polegającym na ciągłym tworzeniu i rozpuszczaniu kości. Proces ten sterowany jest przez czynniki fizyczne, ale zależy również od intensywnego współdziałania komórek kości z macierzą pozakomórkową, bowiem osteocyty schowane w jamkach oraz ich wypustki ułożone w kanałkach kostnych mają znacznie większą podatność mechaniczną niż tkanka zmineralizowana. Każdego roku 5-10% istniejącej tkanki kostnej jest zastępowanej nową w procesach przebudowy, ale stosunek ilościowy może zmieniać się wraz z wiekiem. Dzięki procesom adaptacyjnym, kość posiada możliwość powtórnego zrostu po przerwaniu ciągłości [31, 81].

Jako przykłady procesów, w których adaptacja kości i związana z nią przebudowa tkanki kostnej należą do najważniejszych (ale nie jedynych) czynników wpływających na przebieg zjawiska, można wymienić m.in. zmiany po endoprotezoplastyce i wszczępieniu implantów, zmiany obecne podczas pourazowego gojenia kości czy zmiany w danym organizmie podczas braku regularnej aktywności fizycznej. W pierwszym przypadku proces zrostu kości i jej adaptacji funkcjonalnej odgrywa szczególnie ważną rolę w kontekście współpracy implantów i protez z kośćmi, bowiem żywa tkanka kostna zrasta się z powierzchnią (najczęściej tytanową), na której mogą zachodzić komórkowe i tkankowe reakcje gojenia w procesie zwanym osteointegracją. Zmiany jakie zachodzą w konstrukcjach protez i implantów są wynikiem przeprowadzonych analiz numerycznych, których celem jest oszacowanie długoterminowych reakcji tkanki na ich obecność. Również choroby związane z przebudową tkanki kostnej, takie jak osteoporoza, wymagają dogłębnej analizy procesów przebudowy [109, 167].

Trzeba jednak podkreślić, że najbardziej interesujące w kościach są ich zdolności przebudowy, które zmieniają się z wiekiem. Kości zdrowych, młodych ludzi, przed 30 rokiem życia, są mocne i zawierają w sobie dużo fazy mineralnej. Wynika to głównie z przeważającej w tym okresie ilości procesów produkcji komórek kostnych. Zaś po 45 roku życia kości mogą stawać się bardziej kruche, co częściej może skutkować przerwaniem ich ciągłości. W tym okresie przeważają procesy wymierania komórek kostnych. Ze względu na to, że zanika wtedy całkowicie proces wzrostu, w kościach występują trudności w wytworzeniu zrostu, w przeciwieństwie do okresu młodości, w którym w nasadach kości zachodzi czynny proces wzrostowy [109].

## 1.3. Badania układu kostnego

Badaniami nad układem kostnym miał zajmować się już sam Hipokrates, ale dopiero na okres nowożytny przypada rozpoczęcie rzeczywistych badań naukowych nad mikrostrukturą



i przebudową tkanki kostnej. Mathieu Delpech (1777-1832) jako pierwszy zauważył, że małe i umiarkowane obciążenia układu kostnego mogą pobudzać wzrost tkanki kostnej, a nadmierne działają na układ kostny szkodliwie. Jeśli nadmierna siła skierowana jest długo wzdłuż osi głównej kości i działa podczas okresu rozwoju, przekraczając jej indywidualny stopień tolerancji, to dochodzi do zahamowania wzrostu [29].

Do oryginalnych wniosków doszedł również Julius Wolff (1836-1902), który zauważył, że naprężenia i siły działające na tkankę kostną sterują jej przebudową, tym samym przebudowa kostna pojawia się jako odpowiedź na bodziec fizyczny. Opisał, że tkanka kostna jest niejako odejmowana przez organizm z miejsc o działaniu słabszej siły i odkładana w miejscu działania większej. Zasadę tą nazywamy dzisiaj *prawem Wolffa* i mówi ona, że: „*struktura trabekularna tkanki kostnej w warunkach równowagi dostosowuje się do kierunków naprężeń głównych*”, co z kolei można odnieść do zmian formy i funkcji kości pociągających zmiany w jej strukturze [204]. Prawo to mówi o wpływie rozkładów naprężeń i odkształceń na budowę struktury wewnętrznej kości, nie określając jednak związków matematycznych opisujących zmiany mikrostruktury i kształtu kości. Jego publikacja była jednakowoż ważnym krokiem w rozwoju badań mających na celu wyjaśnienie procesów przebudowy i adaptacji kości.

Współcześnie wyróżnić można 3 główne podejścia do modelowania przebudowy kości: *fenomenologiczne*, *mechanistyczne* i *oparte na założeniu o optymalności* [109]. Na przestrzeni lat powstało wiele rozbudowywanych modeli fenomenologicznych, począwszy od koncepcji *mechanostatu* wprowadzonej przez Frosta [53], przez *teorię adaptacyjnej sprężystości* Cowina [34], skończywszy na szeroko stosowanym podejściu wykorzystującym pojęcie *gęstości energii odkształceń* (ang. *strain energy density*, SED) [142].

W ramach teorii adaptacyjnej sprężystości podjęto próby opisu adaptacji beczkowej struktury kości. Aby umożliwić sformułowanie problemu w ramach teorii ośrodków ciągłych i uwzględnić równocześnie charakterystyczne cechy beczek takie jak np. ich długość, grubość i orientację w przestrzeni, Cowin zaproponował wykorzystanie tzw. *tensora struktury*  $\mathbf{H}$  (ang. *fabric tensor*) [32]. Jest to tensor drugiego rzędu, który może być zdefiniowany na różne sposoby, ale najczęściej wykorzystuje się definicję opartą na pomiarze tzw. średniej długości przecięcia (ang. *mean intercept length*, MIL), opisaną w 1984 roku przez Harrigana i Manna [68]. Cowin wykazał, że w stanie równowagi biomechanicznej, kiedy przebudowa nie zachodzi (a właściwie zachodzi tak, aby zachować równowagę pomiędzy ubytkiem a przyrostem kości), w danym punkcie przestrzeni pokrywają się główne osie naprężeń z głównymi osiami tensora struktury. Teoria, pomimo dużego stopnia ogólności, nie uwzględnia procesów biologicznych z racji podejścia głównie matematycznego. Dodatkowo zachodzi trudność w określeniu wartości parametrów występujących w równaniach, na których teoria się opiera, z racji ich dużej liczby [109]. Jednakże zdefiniowany na jej potrzeby tensor struktury stał się standardowym obiektem matematycznym wykorzystywanym przy opisie anizotropii mikrostruktury kości gąbczastej — jego szczegółową charakterystykę zawarto w rozdziale 2.

## 1.4. Cel i zakres pracy

Opisane powyżej motywacje i potrzeby w badaniach układu kostnego, stały się podstawą do sformułowania szczegółowego planu zadań, łączącego pomiary eksperymentalne i prace teoretyczno-obliczeniowe na bazie kości zwierzęcych. **Głównym celem pracy była wieloskalowa symulacja komputerowa własności mechanicznych kości na podstawie modelu uśredniającego właściwości na bazie pomiarów wołowych kości udowych z mikrotomografii.** Ponieważ głównym zadaniem do realizacji tak zdefiniowanego celu było opracowanie autorskiej metodologii modelowania własności mechanicznych tkanki kostnej, w badaniach zdecydowano się wykorzystać kości zwierzęce. Główną motywacją było to, że metodologia niezbędna do realizacji badań, została zaplanowana jako przystosowana także dla kości ludzkich. Wykorzystanie kości zwierzęcych zagwarantowało jednak łatwy dostęp do dużej liczby zróżnicowanych próbek z osobników w różnym wieku. Dzięki temu można było uzyskać w sposób powtarzalny reprezentacje cyfrowe określonych rodzajów kości (wołowe kości udowe) na podstawie nieniszczącego obrazowania mikrotomograficznego i z każdej z nich móc wypreparować do zobrazowania w wyższej rozdzielczości reprezentatywne próbki kości gąbczastej.

Istotę oryginalnego wkładu niniejszego opracowania w dyscyplinę naukową stanowi zarówno opracowana metodologia, łącząca wysokorozdzielcze obrazowanie mikrotomograficzne, analizę trójwymiarowych obszarów kości oraz wieloskalowe symulacje, jak i uzyskane precyzyjne wyniki pomiarów i obliczeń komputerowych. Dlatego wybór obiektu szczegółowej analizy (koniec bliższy wołowej kości udowej oraz struktura kości gąbczastej z tego obszaru) i realizacja schematu obciążenia z użyciem modelu kostno-mięśniowego, jest w tym ujęciu przykładem realizacji określonego scenariusza. W ogólności badania te mogą jednak stanowić podstawowe źródło informacji do wykorzystania podczas dalszych wyspecjalizowanych opracowań, w tym dla danych uzyskanych podczas wysokorozdzielczego obrazowania *in vivo* dla kości ludzkich.

Interdyscyplinarna tematyka pracy zawiera się w obszarze nauk fizycznych, w szczególności wysokorozdzielczych technik obrazowania tomografii rentgenowskiej, wyznaczania właściwości materiałowych zróżnicowanych biostruktur porowatych oraz symulowanej reakcji materiałów biologicznych na przyłożone obciążenie. Opisywane cele bazują na nowoczesnym podejściu do modelowania i analizy zachowania struktury kości, łącząc w sobie elementy biofizyki, informatyki, nauk o materiałach, przetwarzania obrazów, statystyki inżynierskiej i biomechaniki.

Na rysunku 1.6 zilustrowano szczegółowy plan badań wieloskalowych przedstawionych w niniejszej pracy: eksperymentalnych (domena pomiarowa) oraz teoretyczno-obliczeniowych (domena obliczeniowa). Strzałki odnoszą się do kierunku przepływu danych lub wskazują na równoważność podejść. Zaplanowane prace utworzyły spójną metodologię, w której wyniki zadań na danym etapie, mogły stanowić dane wejściowe do kolejnego etapu. Zakres prac obejmował m.in. preparatykę fragmentów i próbek kości przed obrazowaniem, zaplanowanie i weryfikację schematów pomiarowych, obliczenia w trakcie analizy obrazów i symulacje komputerowe, czy też walidację wyników na podstawie uzyskanych danych pomiarowych.

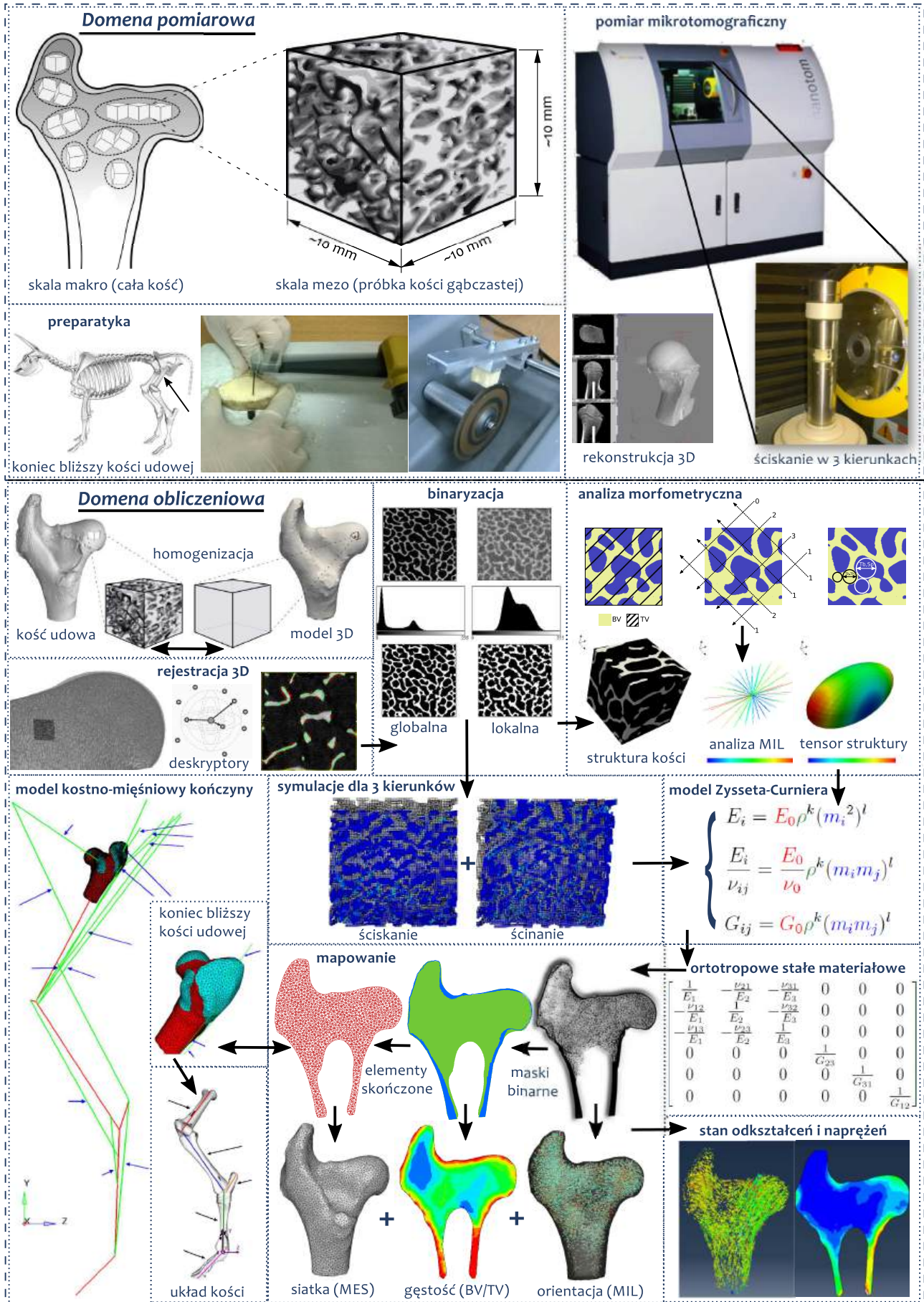
## 1.5. Zawartość pracy

Zasadnicza część niniejszej pracy składa się z siedmiu rozdziałów, podsumowania i trzech dodatków. Każdy rozdział otwiera ilustracja odnosząca się do treści oraz lista najważniejszych zagadnień. Rozdziały **1** i **2** zawierają wprowadzenie do omawianej tematyki wraz z opisem teoretycznym i opracowaniem tabelarycznym wyników dostępnych w literaturze.

Rozdziały **3**, **4**, **5**, **6** i **7** zawierają oryginalne wyniki, a każdy z nich zredagowany został zgodnie z następującym porządkiem: wstęp, przygotowanie, opis metod, wyniki i dyskusja wraz z analizą potencjalnych ograniczeń i odwołaniem do innych powiązanych prac. W celu opisu realizacji badań, treści podzielono i zredagowano, charakteryzując je w następujący sposób:

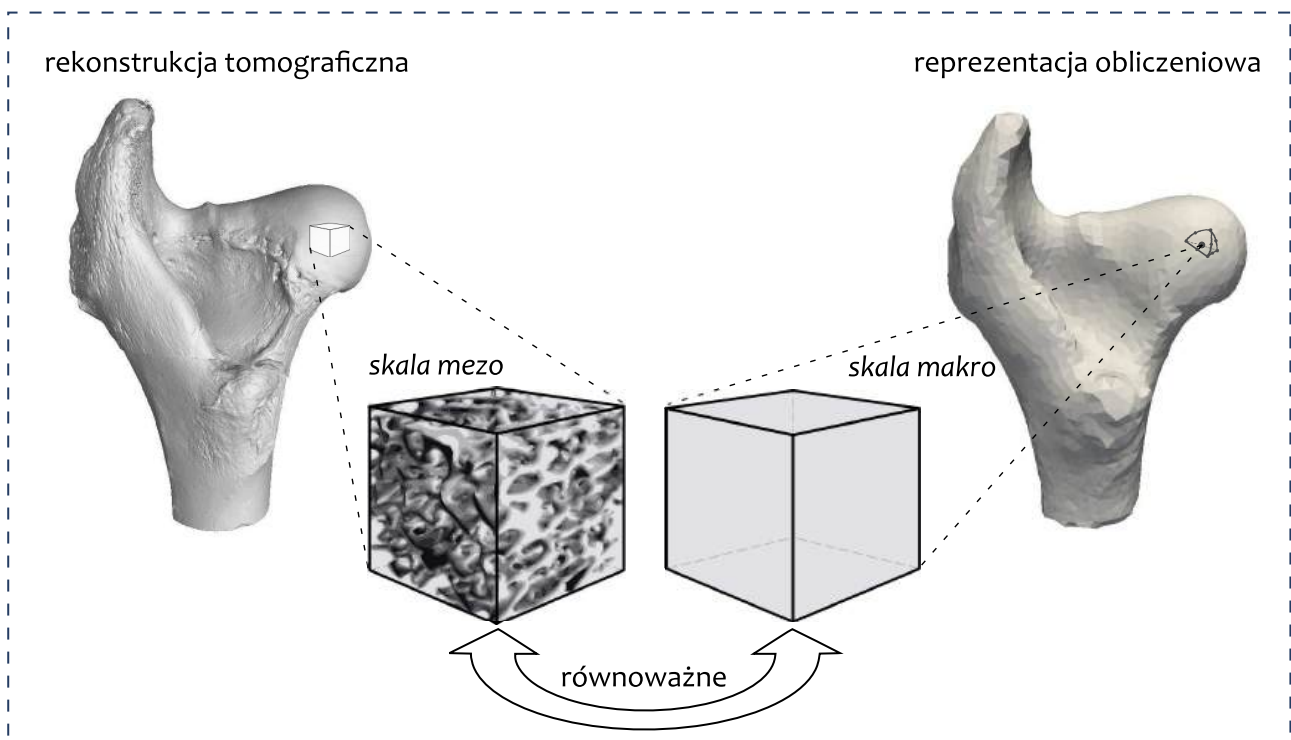
- **Rozdział 3 Pomiary eksperymentalne z użyciem mikrotomografii**
  - preparatyka 6 wołowych kości udowych i 70 wyciętych próbek kości gąbczastej,
  - pomiar mikrotomograficzny kości w 2 skalach pomiarowych (mezo i makro),
  - pomiar parametrów materiałowych w teście ściskania do weryfikacji symulacji,
  - pomiar gęstości kości przed i po wypaleniu w piecu wypreparowanych próbek.
- **Rozdział 4: Rejestracja i przetwarzanie danych obrazowych**
  - rekonstrukcja kości udowych przez połączenie zobrazowanych fragmentów,
  - rejestracja obszarów kości gąbczastej w kościach udowych po rekonstrukcji 3D.
- **Rozdział 5: Analiza uzyskanych danych obrazowych**
  - binaryzacja kości z różnych rozdzielczości z weryfikacją na bazie morfometrii,
  - analiza morfometrii, w tym frakcji objętościowej i stopnia anizotropii.
- **Rozdział 6: Symulacje MES dla sześciennych obszarów kości gąbczastej**
  - utworzenie siatek MES dla wypreparowanych i wyciętych cyfrowo obszarów,
  - wyznaczenie stałych materiałowych na bazie 6 testów (3 ściskania i 3 ścinania),
  - optymalizacja wyników symulacji i weryfikacja z danymi eksperymentalnymi,
  - zbadanie korelacji dla wyników morfometrii i parametrów materiałowych,
  - wyznaczenie parametrów modelu Zysseta–Curniera dla morfometrii i symulacji.
- **Rozdział 7: Symulacje MES układu kostno–mięśniowego dla kości udowej**
  - utworzenie siatek MES dla kości po segmentacji w oparciu o maski binarne,
  - uśrednienie stałych materiałowych kości z użyciem modelu Zysseta–Curniera,
  - symulacja stanu obciążenia modelu kończyny tylnej wraz z analizą anizotropii.

Opisywane badania wiązały się ze sobą, prowadząc do realizacji celu pracy. Wnioski uzyskane na bazie prac zostały scharakteryzowane w podsumowaniu, ze wskazaniem głównych problemów badawczych i możliwych perspektyw rozwoju bazującego na wypracowanej metodologii. W znajdujących się po podsumowaniu dodatkach zawarto zbiorcze wyniki pomiarów (**A**), analizy (**B**) i symulacji (**C**). W pracy zawarto streszczenia, alfabetyczną bibliografię, publikacje i życiorys autora. Do pracy dołączono także spisy: oznaczeń, rysunków i tabel. Brak określonego odwołania do literatury dla danego rysunku lub tabeli wskazuje na użycie opracowań własnych.



Rysunek 1.6. Plan eksperymentalnych oraz teoretyczno-obliczeniowych badań wieloskalowych.

# Właściwości kości



Rysunek 2.1. Idea podejścia wieloskalowego: wyznaczenie właściwości reprezentatywnych struktur po rekonstrukcji tomograficznej w skali mezo (struktura beleczkowa kości gąbczastej) i stworzenie reprezentacji obliczeniowej 3D w skali makro (uśrednione właściwości kości udowej po homogenizacji).

### Najważniejsze zagadnienia rozdziału

- Przegląd wielkości materiałowych: sił, przemieszczeń, naprężeń, odkształceń.
- Charakterystyka materiałowa związków konstytutywnych i symetrii tensorów.
- Opis modeli uśredniających na bazie homogenizacji i analizy anizotropii.
- Definicja i podstawowe cechy metody elementów skończonych.
- Charakterystyka pomiaru wytrzymałości kości dla różnych skal.
- Opis metod pomiarowych z naciskiem na techniki mechaniczne.
- Zestawienie wyników literaturowych właściwości materiałowych kości z podziałem na dane eksperymentalne i uzyskane z symulacji.

## 2.1. Wstęp

**K**OŚCI posiadają zróżnicowane właściwości ze względu na wiek, gatunek osobnika, miejsce anatomiczne, zawartość płynów, mineralizację, budowę makroskopową i mikrostrukturę (w tym beleczek kostnych), jak również frakcję objętościową (a tym samym porowatość) [135]. W czasie codziennego funkcjonowania i typowych siłch działających na organizm (np. w trakcie chodu czy biegu), odpowiednia skala czasowa do rejestracji chwilowych obciążeń to ułamki sekund, zaś procesy przebudowy trwają wielokrotnie dłużej. Dlatego dobierając obciążenia do pomiarów eksperymentalnych i symulacji, bierze się pod uwagę ich uśrednione wartości lub też wolno-zmienne w czasie amplitudy szybko-zmiennych w czasie obciążeń [109]. W literaturze można odnaleźć krytykę, iż w większości przeprowadzanych badań najczęściej wykorzystuje się wektor siły działającej na badaną próbkę w jednym kierunku, więc ocena taka nie jest wiarygodna. Jest to o tyle istotne, że większość z sił oddziałujących na organizm w rzeczywistości nie jest jednoosiowa [29].

Przeźren pomiędzy beleczkami w kości gąbczastej jest wypełniona głównie przez substancje płynne, których przepływ odgrywa dużą rolę w mechanobiologicznych właściwościach kości [109]. Jednak wpływ substancji z porowej części kości gąbczastej na jej własności mechaniczne jest najczęściej zaniebywany lub badany z wykorzystaniem dodatkowych założeń (np. teorii porosprężystości) w specyficznych zastosowaniach [100]. Dlatego też skupiając się na własnościach mechanicznych, kość gąbczastą modeluje się zwykle jako niejednorodny i anizotropowy materiał o właściwościach liniowo-sprężystych, odpowiednich do opisu deformacji obiektu w zakresie małych odkształceń [38]. Jako dane wejściowe materiału (beleczek kostnych) w skali mezo przyjmuje się najczęściej izotropowe wartości modułu Younga na poziomie 10–12 GPa oraz współczynnika Poissona o wartości 0,3 [16, 141]. W badaniach takich zakłada się zwykle właściwości liniowe. Określenie referencyjnej wartości modułu Younga materiału na podstawie weryfikacji eksperymentalnej określoną techniką pomiarową umożliwia liniowe przeskalowanie parametrów materiałowych dla struktury kości (modułów Younga i modułów ścinania) [166, 88].

Na poziomie kości makroskopowej (skala makro), kość traktuje się najczęściej jako materiał o właściwościach ciągłych [218, 192], zaś w skali mikrostruktury odnosimy się do właściwości kości gąbczastej [156, 169]. Właściwości te są jednak niejednorodne i różnią się w poszczególnych częściach kości. Tym samym możemy uzyskać zróżnicowane krzywe w typowym podejściu pomiaru właściwości mechanicznych, w zależności od miejsca poboru próbki. Można się tu posłużyć analogią do stalowych konstrukcji inżynierskich (np. wieży Eiffela): właściwości tkanki są zbliżone do właściwości mechanicznych kratownic, a uśrednione własności całej struktury zależą od sposobu w jaki belki są ze sobą połączone, aby zapewnić jej określoną wytrzymałość [16]. W symulacjach przyjmuje się pewną jednorodność beleczek kostnych dla określonych obszarów. Jednak badania wykazują, że ich właściwości mogą zmieniać się nawet w obrębie pojedynczych próbek. Z tego powodu, precyzyjne określenie rzeczywistych własności mechanicznych kości jest

trudne, a w stosunku do uzyskanych wyników używa się pojęcia właściwości pozornych (ang. *apparent properties*) i analogicznie pozornej sztywności (ang. *apparent stiffness*).

Zgodnie z podejściem wykorzystywanym w zagadnieniach mechaniki ośrodków ciągłych, właściwości w skali mezo uśredniają się w objętościach reprezentatywnych. W przypadku określania ich dla kości gąbczastej, powinny one zawierać przynajmniej pięć średnich odległości międzybelezkowych, co przekłada się na rozmiary rzędu 3–5 mm [67]. Jednocześnie na bazie analiz statystycznych wykazuje się, że takie uśrednianie jest w dużym stopniu zgodne z rzeczywistymi właściwościami [122, 106], bowiem liniowa sprężystość reprezentatywnego obszaru w próbce to wypadkowa sprężystości beleczek kostnych w nim występujących [29]. Do opisu wyznaczanych właściwości mechanicznych eksperymentalnie oraz symulacji komputerowych wykorzystuje się podstawowe wielkości materiałowe mechaniki, zarówno w skali makro jak i mezo.

## 2.2. Podstawowe wielkości materiałowe

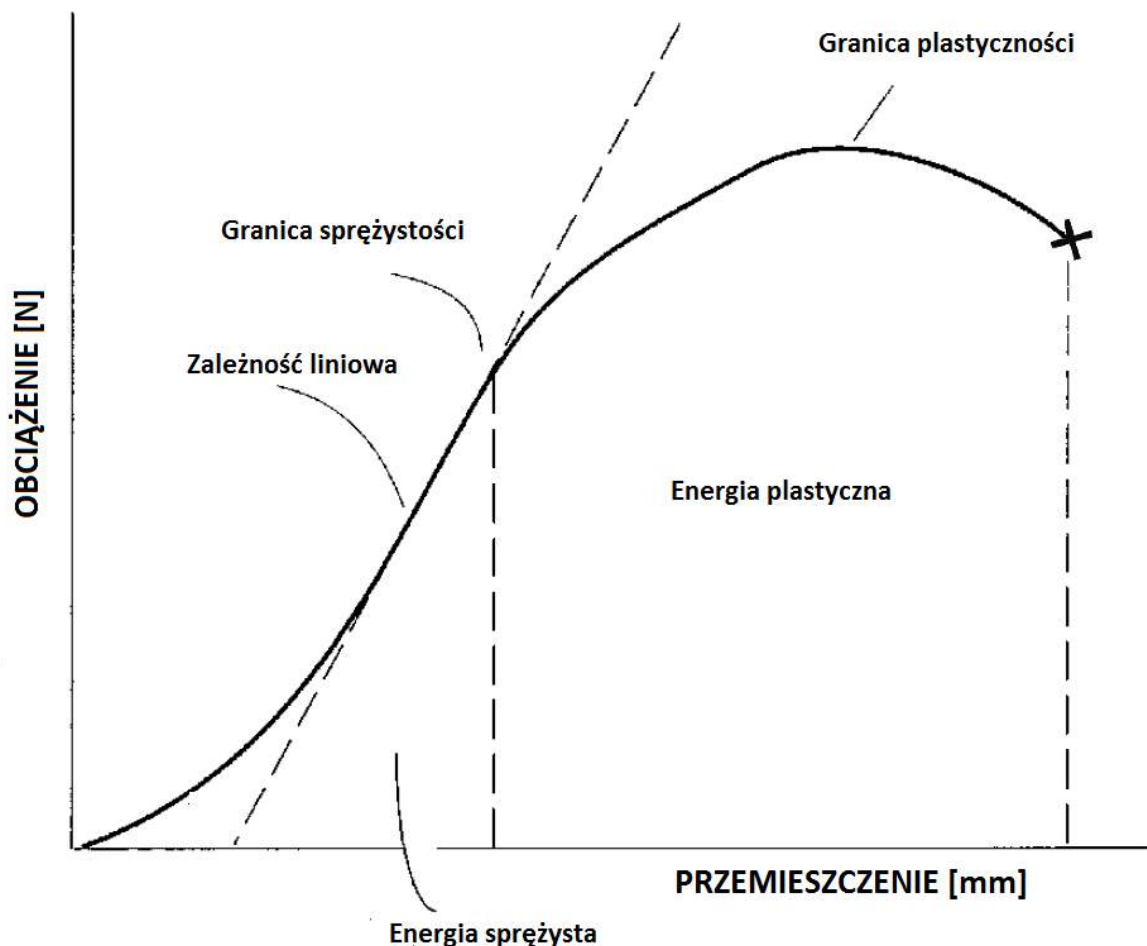
### 2.2.1. Siły i przemieszczenia

Siła ( $\mathbf{F}$ ) lub obciążenie, główna wielkość fizyczna w mechanice, jest wektorem, który ma określoną długość, kierunek, zwrot i punkt zaczepienia. Siły działają na ciało i mogą wpływać na zmiany jego prędkości (efekt zewnętrzny) lub kształtu (efekt wewnętrzny). Zmiany kształtu są determinowane przez zmiany względnego położenia elementów strukturalnych wewnątrz ciała lub jego fragmentu (np. kości) i wynikają z wpływu sił. Trzema podstawowymi rodzajami wymuszeń działających w kości są obciążenia: ściskające, rozciągające i ścinające [3]. Wartość siły wyrażana jest w układzie jednostek SI w niutonach [N]. W większości pomiarów właściwości mechanicznych, przyłożona siła jest mierzona przez czujnik siły (ang. *load cell*), a zmiany w rozmiarach próbki są wywołane przez ruch tawersy (części maszyny testowej). Określane jest całkowite przemieszczenie uchwytu badawczego i próbki. Podczas gdy badany obiekt jest poddawany obciążeniu, jednocześnie rejestrowana jest krzywa zależności obciążenia od przemieszczenia (ang. *load-displacement curve*). Typowa krzywa tego typu została zilustrowana na rysunku 2.2. Określa ona całkowitą deformację próbki w kierunku przyłożonej siły. Właściwy test jest najczęściej poprzedzany obciążeniem wstępnym.

Krzywe tego rodzaju są szczególnie przydatne do pomiaru sztywności i wytrzymałości. Sztywność (ang. *stiffness*) określa najczęściej zależność naprężenia od odkształcenia materiału do granicy sprężystości  $\sigma_Y$  (ang. *yield*). Wielkością charakteryzującą sztywność jest moduł Younga  $E$ . Wytrzymałość (ang. *strength*) jest miarą maksymalnego obciążenia, które może być przyłożone do materiału, przed jego trwałą deformacją. Określa się granicę plastyczności  $\sigma_U$  (ang. *strength, ultimate stress*) jako wielkość charakteryzującą wytrzymałość. Obie wielkości można rozróżnić podkreślając, że jeśli materiał jest słaby i może zostać zniszczony wobec poddania małym wartościom obciążenia, to charakteryzuje się małą wytrzymałością, zaś w przypadku dużego odkształcenia pod tym samym obciążeniem, ma niską sztywność [3].

Aby ustandaryzować i porównać zachowanie różnych materiałów wykorzystuje się krzywe ty-

pu naprężenie-odkształcenie. Przekształcenie krzywej zależności obciążenia od przemieszczenia do krzywej typu naprężenie-odkształcenie wymaga znormalizowania sił i deformacji z wykorzystaniem rozmiarów próbki. Z krzywych tego rodzaju można określić charakterystyki energetyczne, a także w sposób bezpośredni otrzymać eksperymentalną wartość modułu Younga  $E$ , wyznaczaną z nachylenia liniowego fragmentu krzywej.



Rysunek 2.2. Typowa krzywa zależności obciążenia od przemieszczenia dla jednoosiowego testu ściskania z oznaczonymi granicami sprężystości  $\sigma_Y$  (ang. *yield*) i plastyczności  $\sigma_U$  (ang. *strength ultimate stress*), obszarem zależności liniowej z którego można wyznaczyć moduł Younga  $E$  oraz punktem zniszczenia próbki (oznaczony przez **X**) [3].

### 2.2.2. Naprężenia i odkształcenia

W mechanice ciała stałego, naprężenie jest znormalizowaną, na jednostkę powierzchni, siłą. Naprężenie  $\sigma$  możemy wyrazić jako:

$$\sigma = \frac{F}{S}. \quad (2.1)$$

Standardową jednostką naprężenia w układzie SI jest *paskal* (Pa), który z definicji jest siłą o wartości 1 niutona, rozłożoną na jeden metr kwadratowy ( $1 \text{ N/m}^2$ ). Jednostka ta określa jed-



nak zbyt małe wartości i dlatego naprężenie jest wyrażane jako wielokrotność paskali, wliczając *kilopaskale* (kPa,  $10^3 \text{ N/m}^2$ ), *megapaskale* (MPa,  $10^6 \text{ N/m}^2$ ) oraz *gigapaskale* (GPa,  $10^9 \text{ N/m}^2$ ).

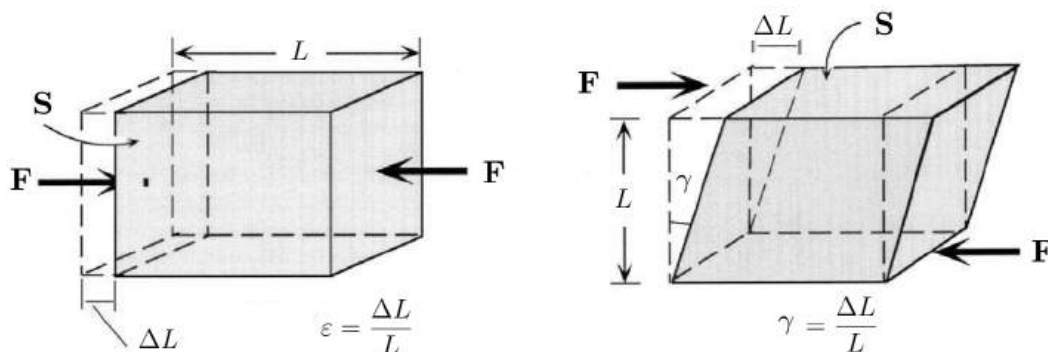
Odształcenie ciała jest odpowiedzią na przyłożone siły (naprężenie). Przy rozpatrywaniu uproszczonego przypadku rozciągania, bądź ściskania, czyli odkształcenia liniowego wzdłuż kierunku działania siły, można określić odległość pomiędzy jego dwoma wewnętrznymi punktami. W chwili obciążenia tego ciała siłami zewnętrznymi następuje jego odkształcenie (poszczególne fragmenty ciała ulegają wzajemnym przemieszczeniom), w wyniku czego zmiana ulega odległość pomiędzy punktami [200]. Bezwymiarowe odkształcenie liniowe  $\varepsilon$  w dowolnym punkcie ciała definiuje się jako iloraz różnicy zmiany długości w danym kierunku do długości początkowej:

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L}. \quad (2.2)$$

Rodzaje odkształceń w organizmie są takie same jak rodzaje sił produkujących je: odkształcenia normalne (ściskanie lub rozciąganie), skręcające oraz ścinające. Te ostatnie określa się często jako odkształcenie kątowe materiału mierzone w radianach [3].

### 2.2.3. Parametry materiałowe

W drugiej połowie poprzedniego wieku prace naukowe zaczęły koncentrować się na próbach oddzielenia współczynników mających miejscowy i ogólny wpływ na właściwości tkanki kostnej [29]. Generalnie wyróżnia się następujące parametry materiałowe określające właściwości mechaniczne kości: *moduł Younga*, *współczynnik Poissona* oraz *moduł ścinania*. Na rysunku 2.3 zilustrowano przemieszczenia i odkształcenia w przypadku typowych testów ściskania i ścinania wykorzystywanych do wyznaczenia opisywanych wielkości.



Rysunek 2.3. Ilustracja przemieszczeń i odkształceń w przypadku testów ściskania i ścinania [3]. W przypadku ściskania (po lewej) dochodzi do przemieszczenia  $\Delta L$  i odkształcenia normalnego  $\varepsilon$  przy obciążeniu ściskającym  $\mathbf{F}$ . Obciążenie ścinające (po prawej) działające równoległe do powierzchni  $\mathbf{S}$  sześcianu wywołuje odkształcenia ścinające  $\gamma$  (po prawej).

Moduł Younga  $E$ , również współczynnik sprężystości podłużnej, jest stałą materiałową, którą można wyznaczyć z zależności względnego odkształcenia liniowego  $\varepsilon$  od naprężenia  $\sigma$ ,

jakie w nim występuje w zakresie odkształceń sprężystych:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \text{ N/m}^2. \quad (2.3)$$

Wielkość ta jest najczęściej podawaną w eksperymentalnych badaniach wytrzymałości kości.

Współczynnik Poissona  $\nu$  można zdefiniować jako stosunek odkształcenia poprzecznego do odkształcenia podłużnego przy osiowym stanie naprężenia:

$$\nu = -\frac{\varepsilon_t}{\varepsilon_a}. \quad (2.4)$$

gdzie:  $\varepsilon$  oznacza odkształcenie, a  $t$  dowolny kierunek prostopadły do kierunku  $a$ . Jest wielkością bezwymiarową i nie określa sprężystości, a jedynie sposób w jaki materiał się odkształca. Współczynnik Poissona można zdefiniować zarówno dla testu ściskania, jak i rozciągania. Wartość bezwzględna  $\nu$  jest mniejsza niż 0,5, co oznacza, że badana objętość materiału w przypadku ściskania nie może się zwiększyć, a w przypadku rozciągania zmniejszyć [3].

Moduł ścinania  $G$ , również moduł odkształcalności postaciowej, moduł sprężystości poprzecznej, jest to wielkość uzależniająca odkształcenie postaciowe  $\gamma$  materiału od naprężeń ścinających  $\tau$ , w następujący sposób:

$$G = \frac{\tau}{\gamma} \text{ N/m}^2. \quad (2.5)$$

Wytrzymałość na ścinanie objawia się, gdy siła działa równoległe do powierzchni materiału. Naprężenia ścinające powstają na przykład, gdy kości długie są poddawane obciążeniom skręcającym. Moduł ścinania także wyraża się za pomocą wielokrotności paskala.

#### 2.2.4. Związki konstytutywne

Tensor jest w matematyce obiektem, którego własności pozostają identyczne niezależnie od wybranego układu współrzędnych. Z kolei związek konstytutywny w ujęciu matematycznym jest relacją pomiędzy tensorami drugiego rzędu: tensorem naprężenia  $\sigma$  oraz tensorem odkształcenia  $\varepsilon$ . Przykładem związków konstytutywnych jest *uogólnione prawo Hooke'a*, opisujące dowolny, także anizotropowy, materiał liniowo sprężysty [200].

W przypadku ogólnym, interesują nas wszystkie składowe przyłożonych naprężeń ( $\sigma_{ij}$ ), jak również wszystkie składowe odkształcenia ( $\varepsilon_{ij}$ ), wywołane przez przyłożone naprężenia. Sytuację taką opisuje trójwymiarowe prawo Hooke'e, będące uogólnionymi relacjami dla tensorów czwartego rzędu:

$$\sigma_{ij} = \mathbf{C}_{ijkl}\varepsilon_{kl}, \quad \varepsilon_{ij} = \mathbf{S}_{ijkl}\sigma_{kl}, \quad (2.6)$$

gdzie  $\mathbf{C}$  jest *tensorem sztywności* (ang. *stiffness*), zaś  $\mathbf{S}$  *tensorem podatności sprężystej* (ang. *compliance*). Tensory  $\mathbf{C}$  i  $\mathbf{S}$  posiadają po 81 składowych. Oba tensory wykazują następujące

symetrie (pokazane na przykładzie tensora sztywności):

$$\mathbf{C}_{ijkl} = \mathbf{C}_{jikl}, \quad \mathbf{C}_{ijkl} = \mathbf{C}_{ijlk}, \quad \mathbf{C}_{ijkl} = \mathbf{C}_{klij}, \quad (2.7)$$

wynikające między innymi z istnienia potencjału sprężystego odkształcenia [116]. Ze względu na powyższe symetrie, liczba niezależnych składowych jest dużo mniejsza. Dlatego używa się zredukowanej notacji zapisu tensorów  $\mathbf{C}$  i  $\mathbf{S}$ , zwanej notacją macierzową. Biorąc pod uwagę, że jest 6 niezależnych składowych tensorów  $\sigma$  i  $\varepsilon$ , tensory  $\mathbf{C}$  i  $\mathbf{S}$  przedstawia się jako macierze o wymiarach  $6 \times 6$ . Dzięki temu relacje 2.6 można zapisać w postaci macierzowej:

$$\sigma_i = \mathbf{C}_{ij}\varepsilon_j, \quad \varepsilon_i = \mathbf{S}_{ij}\sigma_j. \quad (2.8)$$

Istotą skróconego zapisu jest zastępowanie jednym indeksem określonych par:

$$11 \rightarrow 1, \quad 22 \rightarrow 2, \quad 33 \rightarrow 3, \quad 23, 32 \rightarrow 4, \quad 13, 31 \rightarrow 5, \quad 12, 21 \rightarrow 6.$$

Na kształt tensora sztywności  $\mathbf{C}$  i tensora podatności sprężystej  $\mathbf{S}$  ma wpływ symetria materiału [200]. Dla materiału izotropowego, prawo Hooke'a przyjmuje macierzową postać:

$$\begin{bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ 2\varepsilon_{23} \\ 2\varepsilon_{31} \\ 2\varepsilon_{12} \end{bmatrix} = \frac{1}{E} \begin{bmatrix} 1 & -\nu & -\nu & 0 & 0 & 0 \\ -\nu & 1 & -\nu & 0 & 0 & 0 \\ -\nu & -\nu & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 2(1+\nu) & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2(1+\nu) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 2(1+\nu) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{22} \\ \sigma_{33} \\ \sigma_{23} \\ \sigma_{31} \\ \sigma_{12} \end{bmatrix}. \quad (2.9)$$

Zależność odwrotną można zapisać jako:

$$\begin{bmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{22} \\ \sigma_{33} \\ \sigma_{23} \\ \sigma_{31} \\ \sigma_{12} \end{bmatrix} = \frac{E}{(1+\nu)(1-2\nu)} \begin{bmatrix} 1-\nu & \nu & \nu & 0 & 0 & 0 \\ \nu & 1-\nu & \nu & 0 & 0 & 0 \\ \nu & \nu & 1-\nu & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{(1-2\nu)}{2} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{(1-2\nu)}{2} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{(1-2\nu)}{2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ 2\varepsilon_{23} \\ 2\varepsilon_{31} \\ 2\varepsilon_{12} \end{bmatrix}. \quad (2.10)$$

W rozważanej symetrii, macierze te mogą być zdefiniowane z użyciem dwóch niezależnych stałych  $\lambda$  i  $\mu$ , zwanych *stałymi Lamego*. Wielkości te zdefiniowane są następująco

$$\lambda = \frac{E}{2(1+\nu)}, \quad \mu = \frac{E\nu}{(1+\nu)(1-2\nu)}, \quad (2.11)$$

gdzie  $E$  to moduł Younga, a  $\nu$  współczynnik Poissona. Relacja dla tensora  $\mathbf{S}$  wyrażona za pomocą stałych Lamego przyjmuje uproszczoną postać w postaci macierzowej:

$$\begin{bmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{22} \\ \sigma_{33} \\ \sigma_{23} \\ \sigma_{31} \\ \sigma_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 2\mu + \lambda & \lambda & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & 2\mu + \lambda & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & \lambda & 2\mu + \lambda & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \mu & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \mu & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \mu \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ 2\varepsilon_{23} \\ 2\varepsilon_{31} \\ 2\varepsilon_{12} \end{bmatrix}. \quad (2.12)$$

W symetrii ortotropowej, podobnie jak w symetrii izotropowej, mamy do czynienia z zerowaniem odpowiednich współczynników tensorów  $\mathbf{C}$  i  $\mathbf{S}$  dla notacji macierzowej, w stosunku do anizotropowej postaci tych tensorów. Macierz podatności sprężystej w tym przypadku przyjmuje postać:

$$[\mathbf{S}] = \begin{bmatrix} \frac{1}{E_1} & -\frac{\nu_{21}}{E_2} & -\frac{\nu_{31}}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ -\frac{\nu_{12}}{E_1} & \frac{1}{E_2} & -\frac{\nu_{32}}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ -\frac{\nu_{13}}{E_1} & -\frac{\nu_{23}}{E_2} & \frac{1}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{23}} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{31}} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{12}} \end{bmatrix}, \quad (2.13)$$

gdzie:

- $E_i$  jest modułem Younga wzdłuż osi  $i$ ,
- $\nu_{ij}$  jest współczynnikiem Poissona, który odpowiada odkształceniu w kierunku  $j$  przy sile przyłożonej w kierunku  $i$ ,
- $G_{ij}$  jest modułem ścinania w kierunku  $j$  na płaszczyźnie o normalnej w kierunku  $i$ .

Symetria tej macierzy narzuca następujące warunki:

$$\frac{\nu_{21}}{E_2} = \frac{\nu_{12}}{E_1}, \quad \frac{\nu_{31}}{E_3} = \frac{\nu_{13}}{E_1}, \quad \frac{\nu_{23}}{E_2} = \frac{\nu_{32}}{E_3}. \quad (2.14)$$

Tym samym w symetrii ortotropowej występuje 9 niezależnych stałych materiałowych: 3 moduły Younga ( $E_1, E_2, E_3$ ), 3 moduły ścinania ( $G_{12}, G_{23}, G_{31}$ ) i 3 współczynniki Poissona ( $\nu_{12}, \nu_{23}, \nu_{31}$ ). Pozostałe stałe materiałowe mogą zostać wyznaczone z zależności 2.14. Macierz sztywności jest symetryczna i aby była stabilna musi być dodatnio określona [116]. Oznacza to z kryterium Sylwestera, że wszystkie minory główne macierzy są dodatnie, w tym:

$$\det[\mathbf{S}] > 0. \quad (2.15)$$

Relacja transformacji współrzędnych wykorzystująca tensor  $\mathbf{S}$  dla symetrii ortotropowej jest zapisywana w notacji macierzowej jako:

$$\begin{bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ 2\varepsilon_{23} \\ 2\varepsilon_{31} \\ 2\varepsilon_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ \gamma_{23} \\ \gamma_{31} \\ \gamma_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{1}{E_1} & -\frac{\nu_{21}}{E_2} & -\frac{\nu_{31}}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ -\frac{\nu_{12}}{E_1} & \frac{1}{E_2} & -\frac{\nu_{32}}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ -\frac{\nu_{13}}{E_1} & -\frac{\nu_{23}}{E_2} & \frac{1}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{23}} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{31}} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{12}} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{22} \\ \sigma_{33} \\ \tau_{23} \\ \tau_{31} \\ \tau_{12} \end{bmatrix}. \quad (2.16)$$

## 2.3. Modelowanie właściwości

### 2.3.1. Charakterystyka modelowania

Modelowanie komputerowe niesie ze sobą szereg ograniczeń, które należy zawsze brać pod uwagę w kontekście badanej struktury. Analizie zostają poddawane skomplikowane geometrie, dlatego metody obliczeniowe, obrazowanie i wizualizacja danych są narzędziami wzajemnie uzupełniającymi się. Podejścia wykorzystywane w analizie biomechaniki kości makroskopowych (skala makro) oraz badaniu mikromechaniki tkanek (skala mikro i mezo) wymagają odrębnych metod. Z kolei podejście do modelowania w przypadku biomechaniki tkanki kostnej różni się zasadniczo od założeń dla tkanek miękkich, ponieważ dotyczy małych odkształceń oraz zachowania bliskiego sprężystemu w zakresie głównych zainteresowań. Jednak analiza właściwości większości tkanek wiąże się zazwyczaj z problemem określenia wartości przemieszczeń i odkształceń wymagających wyrafinowanych metod i modeli komputerowych w mechanice.

Rzeczywiste obciążenia i interakcje są złożone, a wartości im odpowiadające nie są z reguły znane, co wymaga wspomaganie się precyzyjnymi protokołami pomiarowymi. Tkanki poddawane są różnorodnym bodźcom biofizycznym, przez co analiza ich właściwości wymaga wzięcia pod uwagę różnych skal czasowych. Są one najczęściej kompozytami zbudowanymi hierarchicznie, z określonymi właściwościami makroskopowymi organów z nich zbudowanych (np. kości), zależnymi od zróżnicowanych skal przestrzennych, dlatego analiza wieloskalowa jest zazwyczaj niezbędna. W przeciwieństwie do typowych materiałów inżynierskich, tkanki są optymalizowane przez mechanizmy wzrostu i przebudowy, mając zdolność lokalnej adaptacji właściwości mechanicznych i geometrii do zmian środowiskowych.

Dostępne dane eksperymentalne cechują się dużym zróżnicowaniem co utrudnia precyzyjne określenie uśrednionych parametrów modeli. Pomimo określonej anizotropowej budowy, kość zbita w skali mezo rozważana jest z dużą dokładnością jako izotropowy materiał. Jednakże, w przypadku kości gąbczastej założenie o izotropowości w tej skali z racji wysokiej porowatości i kierunkowości beleczek kostnych jest niesatysfakcjonujące. Dlatego rozważa się modele uśredniające, wiążące analizę mikrostruktury z właściwościami mechanicznymi. Wartości stałych

materiałowych wyznacza się dla zdyskretyzowanej struktury (siatki obliczeniowej), bądź też określa się je z modeli uśredniających na bazie homogenizacji w połączeniu z analizą anizotropii.

### 2.3.2. Modele uśredniające

Pierwsze prace wykorzystujące modelowanie do badania zachowania kości dotyczyły zakresu sprężystego oraz symetrii izotropowej. Wielu autorów próbowało wyznaczać pozorne właściwości materiałowe na bazie *homogenizacji*, wykorzystując reguły mieszania dwóch przeciwstawnych modeli dla kompozytów: modelu Voigta (narzucone odkształcenie) [15] i modelu Reussa (narzucone naprężenie) [160]. Techniki homogenizacyjne w celu wyznaczenia uśrednionych właściwości mechanicznych materiałów kompozytowych opartych na koncepcji inkluzji Eshelby’ego (ang. *Eshelby’s inclusion*) [43], czyli wbudowanych heterogenicznych elementów wpływających na strukturę materiału, były definiowane i dostosowywane, w tym modele Mori–Tanaka [131] i Samozgodny (ang. *Self-Consistent*) [44]. Aktualnie w kontekście modelowania materiałów kompozytowych zestawia się je z nowszymi podejściami do uwzględnienia inkluzji [194], które po zaadaptowaniu mogą pozwalać na skuteczne przewidywanie właściwości kości o wysokiej porowatości [84].

Matematyczny model opisujący strukturę kości gąbczastej w dwóch wymiarach wykorzystując obrazy z elektronowego mikroskopu skaningowego został zaproponowany przez Whitehouse’a w 1974 roku [199]. W cytowanej pracy zaprezentowano zbliżony do elipsy wykres biegunowy reprezentujący lokalną anizotropię w różnych kierunkach. Harrigan i Mann w 1984 roku rozszerzyli to podejście do trzech wymiarów, wprowadzając użycie tensora drugiego rzędu do opisu kierunkowości w materiałach ortotropowych na bazie elipsoidy [68]. W 1985 roku Cowin rozwinął to podejście, pokazując że istnieje teoretyczna relacja pomiędzy tensorem stałych materiałowych czwartego rzędu dla porowatego, anizotropowego, liniowo-sprężystego materiału oraz tensorem drugiego rzędu opisującym strukturę [32]. Zdefiniował on dodatnio określony tensor drugiego rzędu, który nazwał tensorem struktury  $\mathbf{H}$  (ang. *fabric tensor*), będącym stereologiczną miarą kierunkowej dystrybucji masy kości. Określoną w taki sposób wielkość można powiązać bezpośrednio z anizotropowymi właściwościami kości gąbczastej.

Metoda pomiaru anizotropii koresponduje z tensorem struktury  $\mathbf{H}$ , którego wartości własne odpowiadają długościom osi głównych elipsoidy opisującej geometrię niejednorodności materiału, a wektory własne określają orientację ortotropowych osi głównych. Kolejne badania były wykonywane aby jednocześnie potwierdzić założenia Cowina, jak i rozwijać twórczo praktyczne zastosowanie relacji struktura-właściwości [216, 146, 219]. Rezultaty badań z tego okresu pokazały z dużą precyzją, że kierunki i wartości anizotropii struktury korelują bardzo wysoko z lokalną anizotropią właściwości kości, to jest z tensorami sztywności  $\mathbf{C}$  i podatności sprężystej  $\mathbf{S}$ . Dlatego kość gąbczasta może być rozważana z wystarczającą dokładnością jako lokalnie ortotropowa dla orientacji zgodnej z głównymi osiami anizotropii. W symulacjach na podstawie danych eksperymentalnych udowodniono zasadność wykorzystywania symetrii ortotropowej dla modeli obliczeniowych bazujących na pomiarach [166, 211]. Wykazano ponadto, że choć można

zdefiniować inne wielkości opisujące anizotropię, w przypadku kości właściwości mechaniczne definiuje się dostatecznie dobrze na bazie elipsoidy odpowiadającej analizie kierunkowości struktury [75, 34]. Obliczenia wykonane dla sztucznie wygenerowanych parametrycznych modeli porowatych struktur również wykazały z dużą precyzją zgodność właściwości z symetrią ortotropową [102, 103]. Choć w niektórych badaniach stosuje się założenie o eksperymentalnych korelacjach wiążących właściwości mechaniczne w symetrii izotropowej w funkcji gęstości pozornej (ang. *apparent density*) [74, 57], w najnowszych opracowaniach ugruntowaną pozycję zajmuje założenie o właściwościach zgodnych z symetrią ortotropową [56, 192].

Pośród wszystkich opracowanych podejść adaptujących pojęcie tensora struktury  $\mathbf{H}$ , model Zysseta–Curniera dla symetrii ortotropowej z 1995 roku stosowany jest jako najbardziej uniwersalny i efektywny, będąc zdefiniowanym na bazie jedynie 5 parametrów  $(E_0, \nu_0, G_0, k, l)$  [217]. Aby formalnie powiązać wyniki analizy struktury z właściwościami materiałowymi należy w najprostszym podejściu odwołać się do elipsoidy określającej anizotropię, która opisywana jest przez tensor struktury  $\mathbf{H}$ , z wartościami własnymi  $h_1 \leq h_2 \leq h_3$  oraz wektorami własnymi  $\mathbf{h}_1, \mathbf{h}_2, \mathbf{h}_3$ . Tym samym, kierunkowi określającemu oś największej anizotropii, zgodnemu z orientacją wektora własnego  $\mathbf{h}_1$ , odpowiada najmniejsza wartość własna tensora struktury  $\mathbf{H}$  ( $h_1$ ). Postać Jordana macierzy  $\mathbf{H}$  wiąże się przez przejście odpowiadające zmianie bazy:

$$\mathbf{H} = \mathbf{P}_h \mathbf{D}_h \mathbf{P}_h^{-1}, \quad (2.17)$$

z macierzą Jordana  $\mathbf{D}_h$  oraz macierzą wektorów własnych  $\mathbf{P}_h$ , które przyjmują postać:

$$\mathbf{D}_h = \begin{bmatrix} h_1 & 0 & 0 \\ 0 & h_2 & 0 \\ 0 & 0 & h_3 \end{bmatrix}, \quad \mathbf{P}_h = \left[ \mathbf{h}_1 \mid \mathbf{h}_2 \mid \mathbf{h}_3 \right]. \quad (2.18)$$

Na bazie tensora struktury  $\mathbf{H}$  określa się powiązaną wielkość tensora struktury  $\mathbf{M}$  jako:

$$\mathbf{M} = \mathbf{H}^{-\frac{1}{2}}, \quad (2.19)$$

z wartościami własnymi  $m_i$ , gdzie  $m_i = h_i^{-\frac{1}{2}}$ , zatem  $m_1 \geq m_2 \geq m_3$ . Równanie odnosi się do geometrycznej relacji wartości własnych tensora struktury  $\mathbf{H}$  opisującego elipsoidę z długościami jej półosi. Tym samym, kierunkowi określającemu oś anizotropii o największej wartości, zgodnemu z orientacją wektora własnego  $\mathbf{m}_1$ , odpowiada największa wartość własna tensora struktury  $\mathbf{M}$  ( $m_1$ ) oraz najdłuższa półoś elipsoidy. Wykorzystując przejście przez macierz Jordana  $\mathbf{D}_m$  przy użyciu macierzy wektorów własnych  $\mathbf{P}_h$  tensora  $\mathbf{H}$  otrzymuje się zależności:

$$\mathbf{M} = \mathbf{P}_m \mathbf{D}_m \mathbf{P}_m^{-1} = \mathbf{P}_h \mathbf{D}_h^{-\frac{1}{2}} \mathbf{P}_h^{-1}, \quad (2.20)$$

dla których przyjmuje się wartości:

$$\mathbf{D}_m = \begin{bmatrix} m_1 & 0 & 0 \\ 0 & m_2 & 0 \\ 0 & 0 & m_3 \end{bmatrix} = \mathbf{D}_h^{-\frac{1}{2}} = \begin{bmatrix} h_1^{-\frac{1}{2}} & 0 & 0 \\ 0 & h_2^{-\frac{1}{2}} & 0 \\ 0 & 0 & h_3^{-\frac{1}{2}} \end{bmatrix}, \quad \mathbf{P}_m = [\mathbf{m}_1 | \mathbf{m}_2 | \mathbf{m}_3] = \mathbf{P}_h. \quad (2.21)$$

Ortotropowy model Zysseta–Curniera oparty na wyznaczeniu tensora struktury  $\mathbf{M}$  (orientacja mikrostruktury) jest zdefiniowany na bazie następujących relacji:

$$E_i = E_0 \rho^k (m_i^2)^l, \quad \nu_{ij} = \nu_0 \left( \frac{m_j}{m_i} \right)^l, \quad G_{ij} = G_0 \rho^k (m_i m_j)^l, \quad (2.22)$$

gdzie:

$E_i, \nu_{ij}, G_{ij}$	9 poszukiwanych niezależnych lokalnych stałych materiałowych,
$E_0, \nu_0, G_0$	3 właściwości materiałowe tkanki kostnej (beleczek kostnych),
$\rho$	znormalizowana gęstość kości (np. z pomiaru frakcji objętościowej),
$m_i$	3 znormalizowane wartości własne tensora struktury $\mathbf{M}$ (np. z pomiaru MIL),
$k, l$	2 wykładniki odpowiednio dla gęstości i anizotropii.

W oryginalnych założeniach modelu, tensor stałych materiałowych jest określony dodatkowo dla następujących założeń:  $E_0 > 0$ ,  $-1 < \nu_0 < \frac{1}{2}$ ,  $G_0 > 0$ , gdzie relacje modelu zachodzą dla dowolnego dodatnio określonego tensora  $\mathbf{M}$  [219]. Aby wyznaczyć zoptymalizowane wartości dla 5 niezależnych parametrów ortotropowego modelu Zysseta–Curniera ( $E_0, \nu_0, G_0, k, l$ ) wykorzystuje się najczęściej wyniki symulacji na bazie testów obciążeniowych ściskania i ścinania, w których zakłada się określone właściwości materiałowe w skali mikro ( $E_0^s, \nu_0^s$ ), zwykle w powiązaniu z pomiarami eksperymentalnymi ( $E_0^e, \nu_0^e$ ), uzyskując pełną postać tensorów  $\mathbf{C}^s$  i  $\mathbf{S}^s$ . Frakcję objętościową (identyfikowaną jako znormalizowaną do jedności gęstość  $\rho$ ) wyznacza się na bazie stosunku objętości zajmowanej przez kość do objętości całego obszaru (najczęściej po binaryzacji struktury). Anizotropia wyrażana jest w postaci wartości własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  ( $m_1, m_2, m_3$ ). Tak uzyskane wyniki w postaci wielu zestawów następujących 13 wartości:  $E_1^s, E_2^s, E_3^s, G_{12}^s, G_{23}^s, G_{31}^s, \nu_{12}^s, \nu_{23}^s, \nu_{31}^s, \rho, m_1, m_2, m_3$ , wykorzystuje się jako dane wejściowe do problemu optymalizacji (regresja wielokrotna). Na bazie przewidywanych przez model lokalnych stałych materiałowych oraz brakujących stałych materiałowych wyznaczanych z użyciem relacji symetrii 2.14, uzyskuje się ostatecznie z modelu pełną postać tensora sztywności  $\mathbf{C}^m$  i tensora podatności sprężystej  $\mathbf{S}^m$ , z zachowaniem zależności  $E_1 \geq E_2 \geq E_3$ . Frakcja objętościowa w połączeniu z orientacją mikrostruktury na bazie analizy anizotropii stanowi generalnie najlepszy zestaw zmiennych objaśniających właściwości materiałowe dla kości gąbczastej [122]. Z użyciem relacji 2.22 można uzyskać izotropowy model zależności modułu Younga od gęstości  $E = E_0 \rho^k$ , zdefiniowany na bazie 3 niezależnych parametrów ( $E_0, \nu_0, k$ ) oraz zależnego  $G_0 = \frac{E_0}{2(\nu_0+1)}$ , redukując człony z wartościami własnymi (gdy  $m_i = 1$ ), a tym samym wykorzystując w rozszerzonym zapisie tensor jednostkowy zamiast tensora struktury



M [58, 6]. Warto zauważyć, że w przypadku symulacji w zakresie liniowo-sprężystym uzyskane wartości stałych materiałowych skalują się liniowo z wielkością modułu Younga dla beleczek kostnych, tym samym nie wpływają na uzyskane relacje pomiędzy strukturą a właściwościami, wyłączając czynnik skalujący.

### 2.3.3. Metoda elementów skończonych

W przypadku rzeczywistych struktur kostnych, sformalizowany opis analityczny określający relacje pomiędzy przyłożonymi siłami a wywoływanymi lokalnymi odkształceniami, wykorzystywany jest jedynie dla uproszczonych geometrii i obciążeń. Jednakże dla bardziej złożonych obiektów i rozkładów naprężeń, w szczególności podczas analizy trójwymiarowej, tego typu podejście jest nieskuteczne. Metoda elementów skończonych (MES, ang. *finite element method*, FEM), opracowana pierwotnie w latach pięćdziesiątych XX wieku, dzieli skomplikowany problem obliczeniowy na wiele mniejszych, które mogą być rozwiązane w prosty sposób [3, 16]. Trzema podstawowymi składnikami analizy MES są: informacje o geometrii obiektu, warunki brzegowe określające obciążenia i ograniczenia dla danego testu, oraz właściwości materiałowe (na bazie związków konstytutywnych). W przypadku kości gąbczastej podejście to, w połączeniu z danymi wejściowymi otrzymywanymi z użyciem nieniszczącej techniki  $\mu$ CT, pozwoliło na wykonywanie wielu testów, dla różnych kombinacji parametrów i warunków brzegowych [135].

Zasadniczo, MES korzysta z podziału rozważanego obszaru na proste figury geometryczne, określane jako *elementy*, które odtwarzają geometrię badanych struktur wykorzystywanych do rozwiązywania złożonych problemów, z których większość może być reprezentowana przez jedno lub więcej równań różniczkowych cząstkowych. Elementy są połączone w punktach zwanych *węzłami*. Dokładne rozwiązania otrzymuje się tylko w węzłach, natomiast w innych obszarach przestrzeni aproksymacyjne rozwiązanie obliczane jest poprzez *funkcje kształtu*, na podstawie wartości w węzłach należących do danego elementu. Funkcje kształtu są określane lokalnie w pojedynczym elemencie i wykorzystują lokalny układ współrzędnych. Tym samym rząd elementu jest zawsze równy rzędowi funkcji kształtu, zaś liczba funkcji kształtu w pojedynczym elemencie jest równa liczbie jego węzłów. Z kolei *funkcje bazowe* zdefiniowane są dla całego obszaru obliczeniowego, wykorzystują współrzędne fizyczne i stanowią bazę dla przestrzeni funkcyjnej, w której poszukiwane jest rozwiązanie przybliżone problemu. Niekiedy funkcje kształtu stają się funkcjami bazowymi (z uwzględnieniem transformacji między układami współrzędnych), w szczególności dla funkcji związanych z wnętrzem elementu. W przypadku ścianek, krawędzi, a także wierzchołków elementów, funkcje bazowe skleja się z kilku funkcji kształtu, najczęściej zapewniając spełnienie warunków ciągłości rozwiązania przybliżonego.

Proces podziału struktury na proste kształty tworzące *siatkę elementów skończonych*, określany jest mianem *dyskretyzacji*. Dyskretyzacji podlegają również pozostałe wielkości fizyczne, takie jak obciążenia, przemieszczenia czy naprężenia. Od wybranego sposobu dyskretyzacji zależy liczba niewiadomych, wielkość i kształt elementów. Wpływa to na oczekiwaną dokładność rozwiązania, którą uzyskuje się, stosując elementy w takich kształtach, aby aproksymowane

wewnątrz nich funkcje mogły być przybliżone za pomocą wielomianów. Zmniejszanie elementów prowadzi jednak do wydłużenia czasu obliczeń, wskutek zwiększania liczby węzłów. Stąd najczęściej stosuje się nierównomierne rozmieszczenie elementów, dbając o to, aby tam, gdzie poszukiwana funkcja zmienia się gwałtownie, siatka była zagęszczona [16].

Jednym z pierwszych kroków dla analizy MES jest ustalenie, czy model będzie jedno-, dwu- lub trójwymiarowy. W przypadku trójwymiarowej mikrostruktury kości gąbczastej, model może zawierać elementy pierwszego rzędu (ang. *first order*), z dwoma węzłami na wierzchołkach krawędzi, lub elementy drugiego rzędu (ang. *second order*), z trzema węzłami, w tym jednym leżącym na środku krawędzi. Elementy te określa się również mianem liniowych i kwadratowych, co odnosi się bezpośrednio do rodzaju funkcji kształtu z nimi związanych. Jeśli wartość pomiędzy węzłami jest opisana funkcją liniową, w przypadku jej zróżniczkowania dostaniemy wartość stałą. W tej sytuacji w sąsiednich elementach będzie miała różną wartość, zatem nie otrzymamy ciągłości. Najczęściej stosowane są elementy trójwymiarowe: liniowe 8-węzłowe (pierwszego rzędu) i kwadratowe 20-węzłowe (drugiego rzędu) elementy heksagonalne (ang. *hexahedra*), oraz liniowe 4-węzłowe (pierwszego rzędu) i kwadratowe 10-węzłowe (drugiego rzędu) elementy tetragonalne (ang. *tetrahedra*).

Dokładność rozwiązania w przypadku MES, może być poprawiona przez użycie bardziej zagęszczonej siatki, użycie elementów wyższego rzędu lub wykorzystanie obu tych możliwości. Najczęściej mniejsza liczba elementów wyższego rzędu pozwala osiągnąć ten sam stopień dokładności wyników co większa liczba elementów liniowych. Dlatego też wybór odpowiedniego typu elementów jest kluczowy zarówno przez wzgląd na złożoność obliczeniową, a co za tym idzie czas symulacji, jak i obciążenie pamięci operacyjnej. Z racji większej liczby węzłów, kształt może być oddany wierniej dla elementów wyższego rzędu [16].

Zależności pomiędzy zbiorami parametrów dla pojedynczego elementu zapisuje się w postaci macierzy sztywności. Następnie dochodzi do złożenia globalnego układu algebraicznych równań liniowych z pojedynczych zależności macierzowych (agregacja macierzy). Większość pakietów MES znajduje rozwiązanie poprzez obliczenie macierzy sztywności dla elementów, a następnie odwracając te macierze, aby znaleźć ich wektor przemieszczeń węzłowych. Używając elementów wyższych rzędów, konieczne staje się wykorzystanie całkowania numerycznego do wyznaczenia macierzy sztywności. Najczęściej wykorzystywaną jest metoda *kwadratur Gaussa*, w której dla całkowanych funkcji wyznaczana jest liczba punktów, a ich pozycje są optymalizowane. Dla każdego z tych punktów funkcja jest mnożona przez zoptymalizowane wagi, po czym składają się one na sumę będącą wyznaczaną całką.

Program rozwiązujący problem za pomocą MES, znajduje rozwiązanie, na bazie zdefiniowanej siatki zawierającej geometrię, warunki brzegowe i właściwości materiałowe. Obejmuje ono zazwyczaj lokalne deformacje siatki oraz siły reakcji dla każdego węzła, a także uśrednione w punktach Gaussa naprężenia i odkształcenia dla elementów. Rozwiązanie to, uzyskiwane poprzez zastosowanie procedur typowych dla MES, przedstawiane jest jako kombinacja liniowa funkcji bazowych. Współczynniki tej kombinacji (*stopnie swobody*) są uzyskiwane w efekcie

rozwiązania układu równań MES. Liniowy model MES jest opisywany przez globalny układ równań, które mogą być przedstawione w postaci macierzowej:

$$\mathbf{Ax} = \mathbf{b}, \quad (2.23)$$

gdzie macierze sztywności elementów są reprezentowane przez macierz  $\mathbf{A}$ , przemieszczenia węzłowe są zawarte w wektorze  $\mathbf{x}$ , a siły reakcji w wektorze  $\mathbf{b}$ . Kluczowym elementem dużych modeli MES jest podejście iteracyjne, w którym unika się składania pełnej macierzy  $\mathbf{A}$ , w przeciwieństwie do metod bezpośrednich, takich jak eliminacja Gaussa [16]. Wyniki analizy MES dla struktur kostnych są wykorzystywane podczas optymalizacji parametrów modeli uśredniających, w tym modelu Zysseta–Curniera, stanowiąc uzupełnienie pomiarów doświadczalnych.

## 2.4. Pomiar właściwości

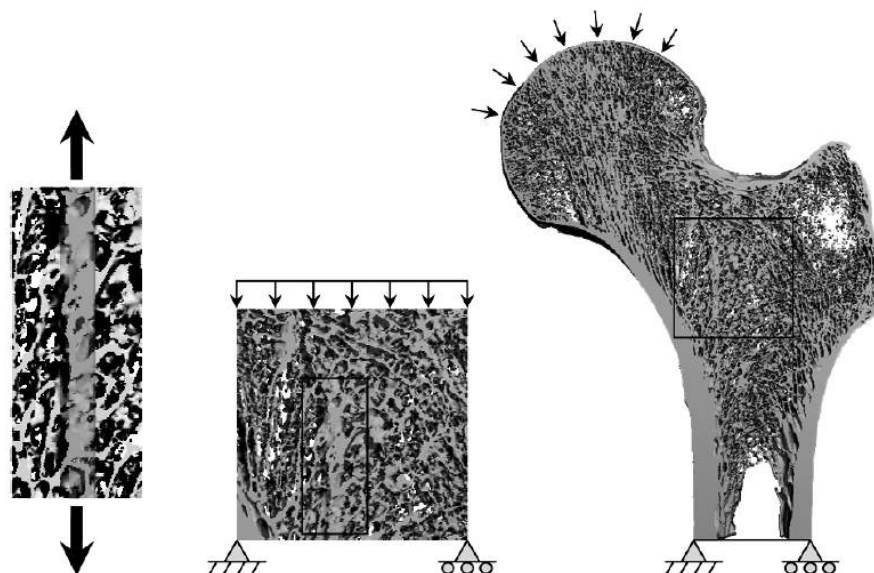
### 2.4.1. Techniki pomiarowe

Określenie własności mechanicznych kości gąbczastej jest powszechnie wykonywane z wykorzystaniem eksperymentalnych testów mechanicznych takich jak ściskanie i rozciąganie [59, 42]. Powszechnie wykonywanymi badaniami są testy jednoosiowe dla całych kości lub ich podobszarów w postaci sześciennych lub walcowych bloczków. Zgodnie z kanonem dla tego typu materiału próbka zostaje umocowana w odpowiednim urządzeniu i stopniowo rozciągana lub ściskana, a relacja pomiędzy przemieszczeniem i przyłożonymi obciążeniami dostarcza precyzyjnych informacji na temat właściwości mechanicznych próbki [92, 93]. Podobnie, ale w innej skali, mogą zostać określone właściwości beleczek, jednak testy tego rodzaju są trudniejsze w przygotowaniu i rzadziej wykonywane [16], [210]. Przykładowe podejście do pomiaru właściwości mechanicznych kości w skali mikro, mezo i makro zaprezentowano na rysunku 2.4.

Odnotowuje się również pojedyncze wyniki dla modułu ścinania przy pomiarze w postaci skręcania [141], jednakże charakterystyka pomiaru w takich testach nie pozwala na otrzymanie stanu ścinania odpowiadającego rzeczywistym wartościom. Rezultat taki mógłby przynieść jedynie efektywny pomiar w teście ścinania, który dla materiałów porowatych takich jak kość gąbczasta jest trudny do zaplanowania i wykonania.

Stosowane są również badania ultradźwiękowe, ale słabe zrozumienie tego jakie właściwości dokładnie są mierzone i ograniczenia prędkości fal akustycznych, nie przyczyniają się do szerokiego zastosowania tego typu badań [27]. Stosunkowo nową, ale intensywnie rozwijaną grupę metod stanowią pomiary ilościowe, w tym nanoidentacja i pokrewne metody mikrotwardości, które wykorzystuje się najczęściej do wyznaczenia zakresu wartości właściwości materiałowych dla beleczek kostnych [141, 190].

Wyniki badań mogą być wykorzystane do określenia podstawowych związków konstytutywnych, pełniąc rolę danych wejściowych dla analiz MES. Jednocześnie badania eksperymentalne są również często wykorzystywane do sprawdzania poprawności metod obliczeniowych [16].



Rysunek 2.4. Przekrój poprzeczny końca bliższego ludzkiej kości udowej uzyskany techniką  $\mu$ CT. Konfiguracja obciążeń dla całej kości (po prawej) ilustruje test potrzebny do scharakteryzowania właściwości materiału w skali makro. Dla wskazanego podobzaru (w środku) zaprezentowano test ściskania określający właściwości kości gąbczastej w skali mezo oraz test rozciągania wycinka (po lewej) w celu wyznaczenia właściwości materiałowych tkanki kostnej w skali mikro [16].

### 2.4.2. Wyniki literaturowe

Doświadczalnie wyznaczone wartości modułu Younga dla kości gąbczastej i kości zwartej obejmują szeroki zakres wartości. Generalnie dla kości gąbczastej odnotowuje się wartości z przedziału 1,3 - 18,0 GPa, zaś dla kości zwartej 12,0 - 26,0 GPa [141]. W literaturze można jednak wynotować pojedyncze wartości spoza tego zakresu, bowiem własności mechaniczne silnie zależą od wielu czynników, opisanych we wcześniejszych paragrafach.

W tabeli 2.1 zestawiono wartości modułu Younga pojedynczych beleczek kostnych ( $E_0^e$ ) dla różnych podejść eksperymentalnych. Trudności w prawidłowym zdefiniowaniu właściwości mechanicznych poszczególnych beleczek są duże i prowadzą do zróżnicowanych wyników. Uśrednione wyniki modelowania modułu Younga i współczynnika Poissona dla beleczek wykorzystuje się najczęściej do określenia izotropowych danych materiałowych w modelowaniu MES.

W tabeli 2.2 zebrano wyniki doświadczalne modułu Younga kości gąbczastej z odcinka udowego ( $E^e$ ) dla różnych metod. Średnia wartość modułu Younga dla wszystkich metod niszczących wyniosła  $1,40 \pm 0,80$  GPa, zaś dla metod nieniszczących wartość ta wyniosła  $15,70 \pm 3,00$  GPa [141]. W przypadku kości gąbczastej wyniki z technik niszczących i nieniszczących różnią się więc znacznie pomiędzy sobą, co może oznaczać, że rezultaty podejść wykorzystywanych w pomiarach wymagają odrębnych interpretacji. Dlatego też w dalszych rozważaniach za referencyjne przyjęto wyniki z testów obciążeniowych. W najnowszych doniesieniach dotyczących testów obciążeniowych próbek z wołowych kości udowych różnicuje się wyniki w zależności od miejsca poboru. W pracy [42] wykazano  $428.1 \pm 70.5$  MPa w grupie przynasady,  $520.5 \pm 195.0$  MPa dla grupy szyjki, oraz  $926.9 \pm 100.0$  MPa w grupie głowy kości.

Zastosowanie analizy MES stało się typową metodą szacowania właściwości mechanicznych materiałów biologicznych z racji precyzji obliczeń i nieinwazyjnego charakteru. W tabeli 2.3 zestawiono wybrane wyniki modelowania modułu Younga beleczek kostnych ( $E_0^s$ ). W tabeli 2.4 zaprezentowano z kolei wybrane wyniki modelowania modułu Younga kości gąbczastej ( $E^s$ ).

Tabela 2.1. Porównanie wartości modułu Younga  $E_0^e$  pojedynczych beleczek kostnych w kości gąbczastej dla różnych danych eksperymentalnych [135].

Autorzy	$E_0^e$ [GPa]	Pochodzenie	Warunki
Wolff (1986)	17,00 – 20,00	Ludzkie	Mokre
	18,00 – 22,00	Wołowe	Mokre
Townsend i inni (1975)	11,38	Ludzkie (kość udowa)	Mokre
	14,13		Suche
Ashman, Rho (1988)	10,90 ± 1,60	Wołowe (kość piszczelowa)	Mokre
	12,70 ± 2,00	Ludzkie (kość udowa)	Mokre
Runkle, Pugh (1975)	8,69 ± 3,17	Ludzkie (kość udowa)	Suche
Mente, Lewis (1987)	5,30 ± 1,50	Ludzkie (kość udowa)	Suche
	5,30 ± 1,50	Ludzkie (kość piszczelowa)	Mokre
Khun i inni (1987)	3,17 ± 1,50	Ludzkie (kość piszczelowa)	Zmrożone

Tabela 2.2. Eksperymentalne wartości modułu Younga  $E^e$  kości gąbczastej z odcinka udowego [141].

Autorzy	$E^e$ [GPa]	Pochodzenie	Warunki	Rodzaj testu
Lubarda i inni (2011)	1,40 ± 0,30	Wołowe	Suche	Ściskanie
Lotz i inni (1990)	0,44 ± 0,27	Ludzkie	Mokre	Ściskanie
Morgan i inni (2001)	2,40 ± 0,80	Ludzkie	Mokre	Rozciąganie
Turner i inni (1999)	17,50 ± 1,10	Ludzkie	Mokre	Ultradźwięki
van Lenthe i inni (2001)	4,50 ± 0,70	Wołowe	Mokre	Ultradźwięki+MES

Tabela 2.3. Wybrane wyniki modelowania modułu Younga  $E_0^s$  pojedynczych beleczek kostnych [141].

Autorzy	$E_0^s$ [GPa]	Metoda modelowania
van Rietbergen i inni (1995)	2,23 – 10,10	Eksperyment-MES
Ulrich i inni (1997)	3,50 – 8,60	Eksperyment-MES
Van Eijden i inni (2004)	11,87 ± 2,74	Eksperyment-MES
Bayraktar i inni (2004)	18,00 ± 2,80	Eksperyment-MES
Hamed i inni (2011)	7,84 – 20,24	Teoria warstwowych kompozytów

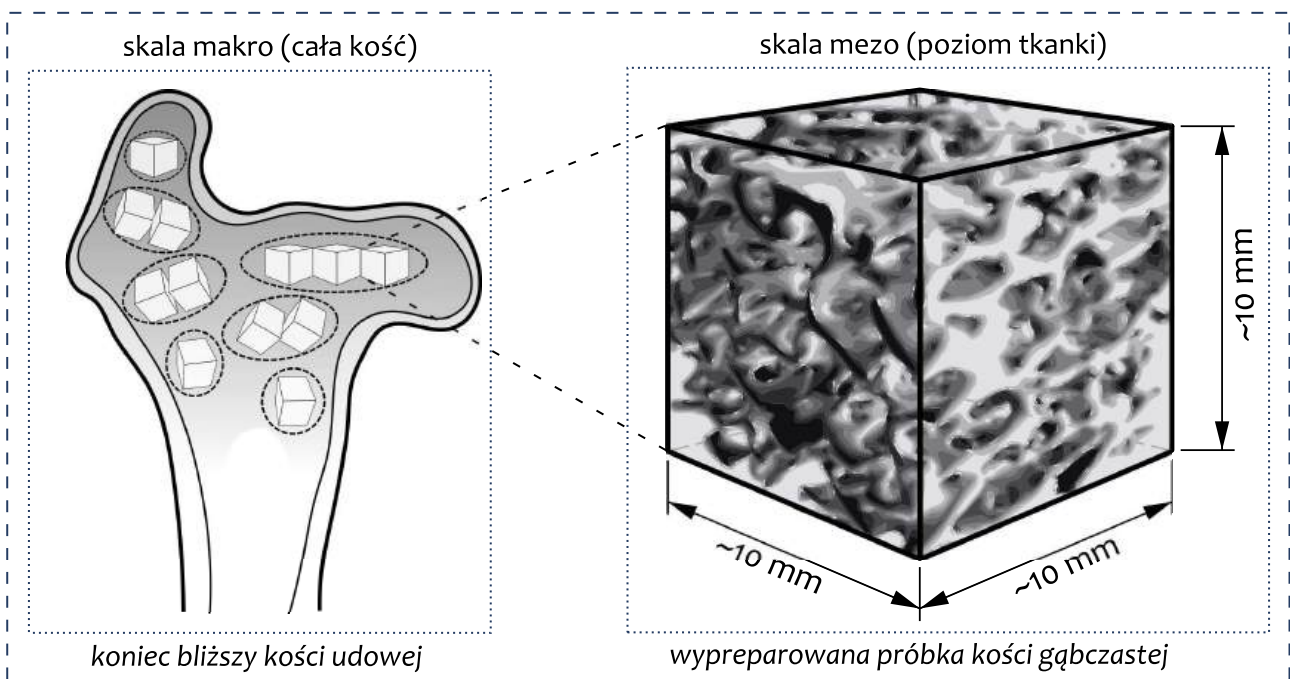
Tabela 2.4. Wybrane wyniki modelowania modułu Younga  $E^s$  kości gąbczastej [141].

Autorzy	$E^s$ [GPa]	Metoda modelowania
Diamant i inni (2005)	0,16 – 0,44	MES oparty geometrii
Harrison i inni (2008)	1,64 ± 0,32	MES oparty na $\mu$ CT

W symulacjach zakłada się najczęściej izotropowe i jednorodne właściwości dla pojedynczych beleczek, które nie mają miejsca w rzeczywistości. W szczególności najnowsze pomiary wytrzymałości dla 18 pojedynczych beleczek kostnych o długości przynajmniej 3 mm, pobranych

z 3 nasad bliższych wołowych kości udowych, pozwoliły określić zróżnicowane wartości modułu Younga materiału  $E_0^e$  w zakresie 4,5–23,6 GPa z wartością średnią  $11,5 \pm 5,0$  GPa [210]. Jednak modelowanie z wykorzystaniem uśrednionych wyników może posłużyć do wystarczająco wiarygodnych symulacji, dlatego w najnowszych pracach wykorzystuje się je zarówno w przypadku symulacji w zakresie liniowo-sprężystym [155, 122], jak również sprężysto-plastycznym [156].

## Pomiary eksperymentalne



Rysunek 3.1. Proces pomiarów eksperymentalnych: uzyskanie danych mikrotomograficznych dla kości udowych i wypreparowanych próbek kości gąbczastej wraz z określeniem właściwości materiałowych.

### Najważniejsze zagadnienia rozdziału

- Charakterystyka metod i urządzeń pomiarowych użytych w badaniach.
- Preparatyka zwierzęcych kości udowych (koniec bliższy) i próbek kości.
- Pomiar mikrotomograficzny kości udowych w skali makro.
- Pomiar mikrotomograficzny próbek kości gąbczastej w skali mezo.
- Pomiar mikrotomograficzny pojedynczych próbek kości w trakcie testu ściskania w zakresie sprężystym z użyciem miniaturowej maszyny do obciążania.
- Opracowanie wyników pomiaru skrócenia w zakresie sprężystym na bazie regresji liniowej z dopasowania prostej.
- Pomiar masy wypreparowanych próbek przed i po wypaleniu w piecu w celu wyznaczenia gęstości kości w oparciu o informację o objętości z rekonstrukcji mikrotomograficznej.

### 3.1. Wstęp

**P**IERWSZE historyczne pomiary struktury kości wykorzystywały mikroskopię optyczną i były oparte na *histomorfometrii* (histologii ilościowej opartej na stereologii), dzięki której można było opisać mikrostrukturę, badając rzeczywiste przekroje próbek kości [157]. Ta technika była nie tylko czasochłonna, ale również wiązała się z utratą próbki. Od tego czasu wypracowano jednak wiele zaawansowanych metod pomiaru, w tym nieniszczące metody bezkontaktowe, które w przeciwieństwie do metod kontaktowych, mogących doprowadzić do zniszczenia próbki, wykorzystują do pomiaru szeroko pojętą obserwację.

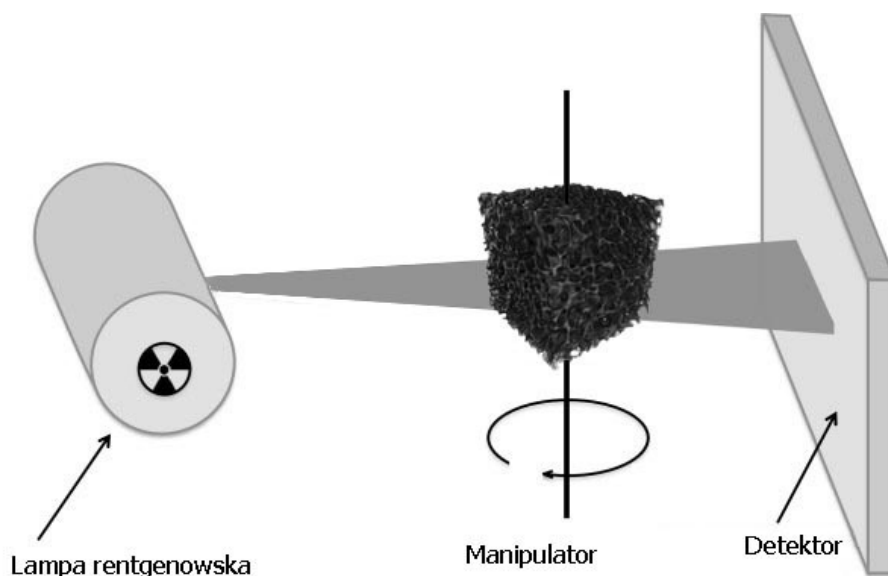
Wyróżnia się wiele technik pozwalających zobrazować szczegóły budowy różnych struktur i materiałów takimi metodami. Wszystkie te metody opierają się na zasadzie uwidocznienia atomów lub cząstek mających specyficzne właściwości wyróżniające je w stosunku do otoczenia. W większości przypadków uzyskanie tych różnic wymaga pobudzenia obiektu za pomocą promieniowania bądź przy użyciu fal akustycznych, elektronowych czy też wiązki jonów [203].

Systemy oparte na odbiciach, w tym optyczne i nieoptyczne, są ekonomicznymi rozwiązaniami, ale pozwalają na zarejestrowanie jedynie zewnętrznego kształtu obiektu. Do bardziej kosztownych rozwiązań należą metody prześwietlające, które rejestrują przekroje poprzeczne i na ich podstawie rekonstruuje się później trójwymiarową reprezentację. Ich użycie uwarunkowane jest potrzebą uzyskania struktury wewnętrznej badanego obiektu. Wśród nich można wyróżnić nowoczesne techniki diagnostyczne, w tym rentgenowską tomografię komputerową (ang. *X-ray computed tomography*, X-CT, **CT**) i obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (ang. *magnetic resonance imaging*, MRI), które są stale rozwijane i efektywnie dostosowywane do badanych rozdzielczości. Dzięki temu powstały wyspecjalizowane wysokorozdzielcze techniki takie jak ilościowa tomografia komputerowa (ang. *quantitative computed tomography*, QCT), obwodowa ilościowa tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości (ang. *high resolution peripheral quantitative computed tomography*, **HR-pQCT**) z uzyskiwaną rozdzielczością w zakresie 80–400  $\mu\text{m}$ , tomografia wiązki stożkowej (ang. *cone beam computed tomography*, **CBCT**) dla 75–200  $\mu\text{m}$ , czy też obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego o wysokiej rozdzielczości (ang. *high resolution magnetic resonance imaging*, HR-MRI) dla 100–200  $\mu\text{m}$ .

Wśród wszystkich metod bezkontaktowych największym powodzeniem, w kontekście badań mikrostruktury kości gąbczastej, cieszy się rentgenowska mikrotomografia komputerowa (ang. *X-ray micro-computed tomography*, micro-CT, X- $\mu$ CT,  **$\mu$ CT**). Jest to nieinwazyjna metoda badawcza, pozwalająca odwzorować mikrostrukturę wewnętrzną badanego obiektu na podstawie zarejestrowanych pod różnymi kątami jego dwuwymiarowych projekcji. Opiera się ona na podobnych założeniach jak klasyczna tomografia komputerowa, jednak dzięki użyciu wiązki elektronów o mniejszym rozmiarze możliwe jest uzyskanie wyższej rozdzielczości zrekonstruowanego obrazu. Jedną z głównych różnic  $\mu$ CT względem typowych spiralnych tomografów stosowanych klinicznie jest układ pomiarowy. Akwizycji dokonuje się na bazie obrotu badanej próbki z nieruchomym układem prześwietlająco-rejestrującym, zamiast opierając się na cią-



głym ruchu obrotowego układu lampa-detektor i przesuwu stołu wzdłuż powierzchni badanego nieruchomego obiektu. Schemat działania metody  $\mu$ CT został zilustrowany na rysunku 3.2.



Rysunek 3.2. Schematyczna ilustracja działania metody  $\mu$ CT. Skolimowana płaska wiązka promieni X jest kierowana z lampy rentgenowskiej (po lewej) na próbkę obracaną z użyciem manipulatora (w środku) i umożliwia odczyt danych na detektorze (po prawej), na przeciwko lampy [96].

Ze względu na stosunkowo wysoką rozdzielczość i nieniszczący charakter, metoda  $\mu$ CT znalazła zastosowanie w wielu dziedzinach nauki i techniki. Jednak to wykorzystanie w medycynie przy obrazowaniu wypreparowanych tkanek i organów spowodowało intensywny rozwój urządzeń  $\mu$ CT [176]. Główna wada tej metody, związana z brakiem uzyskiwania informacji na temat aktywności komórek dla badanej tkanki, może być zniwelowana dodatkowymi badaniami konwencjonalnej histologii, bezpośrednio po pomiarach  $\mu$ CT, wobec jej niedestruktywnego charakteru. Obecnie stacjonarne urządzenia tego typu są w stanie osiągać rozdzielczości submikrometrowe (schodzące z rozdzielczością poniżej  $1\ \mu\text{m}$ ). Wdrożenie tej technologii w przypadku tak wymagających badań wiązało się z pokonaniem dwóch głównych przeszkód. Pierwszą była konieczność wykorzystania komputerów zdolnych do przetwarzania dużych ilości danych w możliwie krótkim czasie. Sprzęt tego rodzaju, choć obecny w przemyśle, często był nieosiągalny badawczo z powodów finansowych. Drugą, istotniejszą przeszkodą była konieczność zastosowania systemu rentgenowskiego o wysokiej rozdzielczości, z lampą wyposażoną w submikrometrowe ognisko i na tyle dużej mocy, aby umożliwiła wnikanie w gęste próbki i zwracanie obrazu w odpowiedniej rozdzielczości [27].

Pracuje się nad ograniczeniem dawek promieniowania rentgenowskiego (ang. *X-ray*), tak aby pomiar na żywych organizmach (łac. *in vivo*) był w jak najmniejszym stopniu inwazyjny. Podobnie jak w klinicznych wersjach CT, przy takich badaniach osiąga się wysokie rozdzielczości i teoretycznie powinny być wykorzystywane najczęściej. Jednak w dalszym ciągu rozdzielczości te wymagają zbyt dużych dawek promieniowania. Z powodu wad rozwiązań *in vivo*, dużą po-

pularnością cieszą się badania wypreparowanych próbek (łac. *ex vivo* i *in vitro*) w warunkach laboratoryjnych, poza organizmem [96]. W klasycznym podejściu z użyciem promieniowania X, lampa rentgenowska prześwietla organizm, a płaski obraz jest nanoszony na błonę fotograficzną. Wiązki promieni przechodzą przez kolejne warstwy, a detektory rejestrują, jak są one pochłaniane. Na obrazie najciemniejsze są tkanki zawierające powietrze, które zatrzymują najmniej promieni, natomiast kości dają najjaśniejszy obraz. Metoda  $\mu$ CT w badaniach *ex vivo* i *in vitro* jest rozwinięciem konwencjonalnej techniki tomograficznej. Wykorzystuje odwzorowanie struktury wewnętrznej obiektu na podstawie zarejestrowanych pod różnymi kątami jego projekcji 2D dla małych próbek, które muszą znajdować się w polu widzenia, tak aby podczas pełnego obrotu o  $360^\circ$  wiązka prześwietlała cały obiekt. Wielkość próbki jest tu istotnym czynnikiem, bowiem największe powiększenie może być uzyskane dla najmniejszych próbek. Rozdzielczość obrazu zależy od rozmiaru ogniska w lampie rentgenowskiej — im mniejsze ognisko zostanie zastosowane, tym większą ostrość można uzyskać w rezultacie. Dane zarejestrowane poprzez pełny obrót próbki, przy stałym interwale kątowym, zawierają informacje o pozycji i gęstości obiektu. Wynik jest dostępny bezpośrednio po zakończeniu procesu numerycznej rekonstrukcji objętościowej.

Aby uzyskać rezultat obrazowania, najczęściej wykorzystuje się metodę projekcji wstecznej, pozwalającej na rekonstrukcję trójwymiarową obiektu na bazie uzyskanych prześwietleń. Wizualizacja 3D badanego obiektu stanowi wynik pomiaru, możliwy jest również podgląd w każdym kierunku i dla przekrojów poprzecznych w dowolnej orientacji [176]. W przypadku obrazowania tomograficznego, podstawowym uzyskiwanym parametrem jest woxel (ang. *volumetric picture element, voxel*), inaczej trójwymiarowy piksel (ang. *picture element, pixel*), najmniejszy element przestrzeni w grafice trójwymiarowej. Podczas wykonywania badania obrazowego, obiekt może być dodatkowo poddawany deformacji, np. z użyciem miniaturowych maszyn do ściskania. Jednak tego typu podejście wymaga określenia procesu przygotowania obiektu.

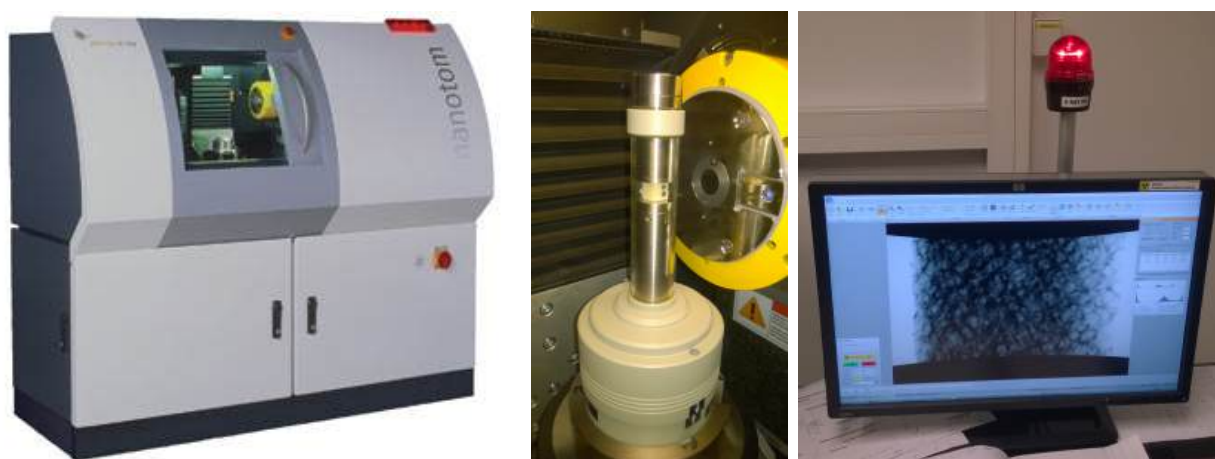
### 3.2. Przygotowanie do pomiarów

Eksperymentalne badania właściwości mechanicznych kości gąbczastej przeprowadza się zazwyczaj na poziomie mikrostruktury (poziom mezo) na próbkach sześciennych lub cylindrycznych o określonej objętości [3]. W przeciwieństwie do innych materiałów, kość gąbczasta jako materiał kompozytowy nie wykazuje znaczącej różnicy między modułem sprężystości przy rozciąganiu i ściskaniu [93]. Choć uzyskanie dokładnych wyników przy użyciu testu ściskania jest znacznie trudniejsze niż przy teście rozciągania, obciążenie ściskające ma kilka zalet w przypadku kości gąbczastej. Przede wszystkim ściskane próbki nie muszą być tak duże jak próbki rozciągane, a samo przygotowanie próbek do ściskania może nie być tak trudne jak w przypadku próbek do rozciągania [34]. Wykazano też, że kość udowa pracuje głównie pod wpływem ściskania, a nie rozciągania [93]. Dlatego zdecydowano się na technikę pomiaru w teście ściskania w celu wyznaczenia sprężystych właściwości mechanicznych kości gąbczastej.

### 3.2.1. Metody pomiarowe

W przypadku testu ściskania próbek kości gąbczastej najczęściej wykorzystuje się punktowy pomiar przy pomocy czujnika przemieszczeń liniowych o układzie różnicowym (ang. *linear variable differential transformer*, LVDT) [3]. Metoda pozwala odczytać wartości przemieszczeń dla odpowiednich ścianek próbki, a na bazie tego wyznaczyć wartości odkształceń. Do określenia modułu sprężystości w technice tensometrycznej wykorzystuje się odkształcenie mierzone za pomocą tensometru, a do obliczenia naprężeń dokonuje się pomiaru pola przekroju próbki. W literaturze można odnaleźć alternatywne podejścia, w których wykorzystuje się dedykowane techniki do wiarygodniejszego oszacowania pola [54], jednak w przypadku niniejszego opracowania założono ograniczenie górne, przyjmując pełne pole powierzchni, co w rezultacie nieznacznie zaniża wynik (zawyżając pole powierzchni), ale interpretacja innych podejść nie jest jeszcze do końca wyjaśniona teoretycznie [34]. Z racji pomiaru punktowego i niejednoznaczności wynikających z tego faktu dla struktur porowatych, wciąż trwają starania nad opracowaniem innych technik eksperymentalnych, w tym również dla przypadku testu ścinania.

Eksperymentalna część pracy została wykonana w całości przy pomocy aparatury mikrotomograficznej dostępnej w Laboratorium Mikro- i Nano Tomografii (LMINT) na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH w Krakowie. W celu pomiaru  $\mu$ CT został wykorzystany nanotomograf *Phoenix Nanotom s*. Na wyposażeniu laboratorium znajduje się również miniaturowa maszyna do wykonywania testów ściskania *Deben CT500*, umożliwiająca obciążenie podczas obrazowania. Układ obu urządzeń został zaprezentowany na rysunku 3.3, wraz z widokiem prześwietlenia w trakcie obrazowania pod obciążeniem.



Rysunek 3.3. Nanotomograf *phoenix nanotom s* znajdujący się na wyposażeniu LMINT (po lewej), miniaturowa maszyna do testów ściskania *Deben CT500* wewnątrz nanotomografu z próbką kości gąbczastej przed obciążeniem (w środku) oraz widok prześwietlenia w trakcie obrazowania próbki kości gąbczastej pod obciążeniem [LMINT WFIS AGH].

### 3.2.2. Preparatyka kości

Pozyskano 7 wołowych kości udowych w zróżnicowanym wieku. Wybrano próbki kości zwierzęcych, a nie kości ludzkich, z racji większej powtarzalności oraz dostępności, a także możliwości uzyskania szerszego zakresu zmienności wieku. Każda kość otrzymała oznaczenie identyfikacyjne (K01–K07), a anatomicznym obszarem zainteresowania był koniec bliższy. Kości zostały oczyszczone, a następnie przez wymagania pomiarowe pocięte na części, otrzymując dla każdej z nich fragment „lewy” (L) i „prawy” (R), dzieląc na obszary poddawane różniącym się obciążeniom w kości (oznaczenia: K01L, K01R, itd.). Jedna z kości (K02) posłużyła do przetestowania metod cięcia i roboczych pomiarów  $\mu$ CT, a w rezultacie nie została ujęta w dalszych analizach.

Poszczególne fragmenty każdej z kości po obrazowaniu  $\mu$ CT w skali makro (opis w podrozdziale 3.3), zostały umownie podzielone na charakterystyczne obszary (A, B, C, itd.). Następnym etapem było wypreparowanie 70 prostopadłościennych próbek kości gąbczastej o rozmiarach wynoszących 10–12 mm zbliżonych do obszarów sześciennych, które ponumerowano na potrzeby obrazowania  $\mu$ CT w skali mezo. Geometria próbek wybrana w niniejszym opracowaniu została określona jako sześcienna, aby umożliwić badanie próbek w 3 prostopadłych kierunkach z użyciem maszyny wytrzymałościowej [61]. Każda próbka otrzymała unikalny identyfikator zgodny ze wcześniejszym schematem (np. K01RB2, K07LC1), odnoszący się orientacyjnie do miejsca pobrania. Zaplanowano opracowanie i wykorzystanie automatycznej rejestracji cyfrowej próbek po rekonstrukcji trójwymiarowej, dlatego precyzyjna informacja nie była konieczna (rozdział 4). W tabeli 3.1 zamieszczono symbole kości z odpowiadającym im wiekiem, liczbą wypreparowanych próbek oraz szacunkową masą osobnika. Do dalszej analizy przeznaczono 6 wołowych kości udowych z gradacją wiekową (2× młode, 2× średnie, 2× dojrzałe).

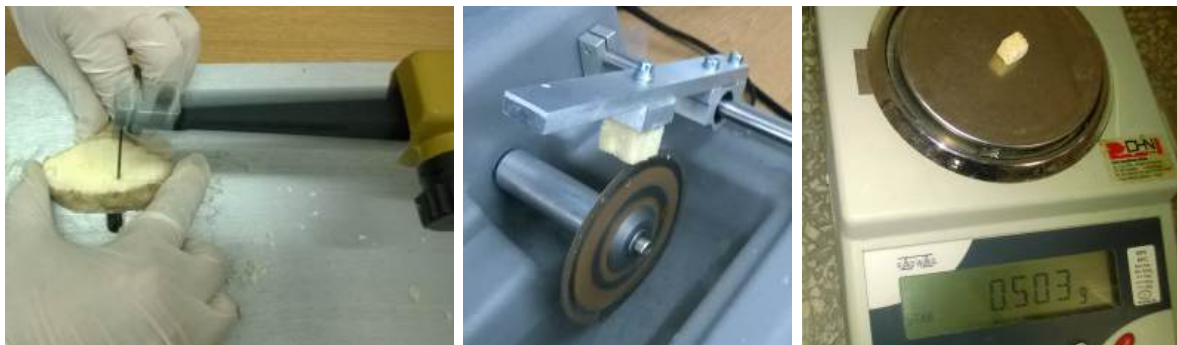
Tabela 3.1. Symbole wołowych kości udowych z odpowiadającym im wiekiem, liczbą wypreparowanych próbek oraz szacunkową masą osobnika, z którego daną próbkę pobrano.

Oznaczenie	Liczba próbek ( $n$ )	Wiek [lata]	Szacunkowa masa osobnika [kg]
K01	5	1–2 (młody)	400
K03	10	8–9 (dojrzały)	500
K04	11	2–3 (młody)	450
K05	11	5–6 (średni)	500
K06	10	7–8 (dojrzały)	500
K07	23	3–4 (średni)	500

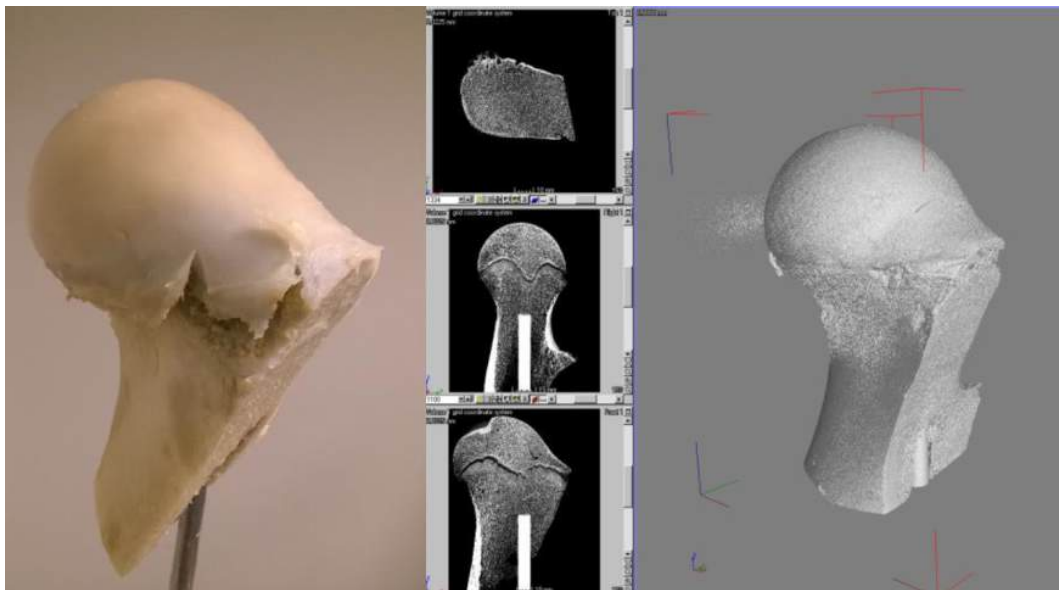
Na rysunku 3.4 zamieszczono zdjęcia końca bliższego wołowej kości udowej w trakcie preparatyki, wymagającej przecięcia piłą brzeszczotową w celu uzyskania fragmentów nadających się do pomiaru  $\mu$ CT w skali makro. Na rysunku 3.5 zaprezentowano zdjęcia fragmentów kości udowej w trakcie docięcia próbek kości gąbczastej piłą tarczową na potrzeby pomiaru  $\mu$ CT w skali mezo oraz podczas ważenia z użyciem wagi laboratoryjnej. Na rysunku 3.6 zamieszczono zdjęcie fragmentu końca bliższego wołowej kości udowej z uwidocznioną głową kości przed pomiarem  $\mu$ CT, przekroje poprzeczne w 3 prostopadłych kierunkach uzyskane po rekonstrukcji oraz wizualizacja 3D cyfrowej reprezentacji obiektu.



Rysunek 3.4. Zdjęcia końca bliższego wołowej kości udowej przed pocięciem (po lewej), w trakcie cięcia (w środku) oraz po przecięciu w celu uzyskania fragmentów nadających się do pomiaru  $\mu$ CT w skali makro (po prawej), z widoczną linijką dla pokazania skali).



Rysunek 3.5. Zdjęcia fragmentów wołowej kości udowej w trakcie docięcia próbek kości gąbczastej na potrzeby pomiaru  $\mu$ CT w skali mezo (po lewej i w środku) oraz podczas ważenia (po prawej).



Rysunek 3.6. Zdjęcie fragmentu końca bliższego wołowej kości udowej z uwidocznioną głową kości przed pomiarem  $\mu$ CT (po lewej), przekroje poprzeczne w 3 prostopadłych kierunkach uzyskane po rekonstrukcji (w środku) oraz trójwymiarowa wizualizacja cyfrowej reprezentacji obiektu (po prawej).

W przypadku kości gąbczastej przyjęło się, że obszary powinny zawierać przynajmniej pięć średnich odległości międzybeleczkowych, co przekłada się na rozmiary nie mniejsze niż 3–5 mm [67, 79]. W niniejszym opracowaniu rozmiary próbek były dopasowane do możliwości miniaturowej maszyny do testów ściskania. W przypadku końca bliższego kości udowych generalnie trudno jest wypreparować więcej niż kilka próbek, które byłyby zgodne z głównymi osiami ortotropowymi [54], ponieważ lokalny układ orientacji zmienia się stosunkowo szybko z jednego obszaru do drugiego. Zazwyczaj w badaniach, w których wzięto pod uwagę kierunkowość przy preparatyce, uzyskiwano tylko pojedyncze próbki dla głowy kości udowej [147]. Obserwuje się także różnice pomiędzy kierunkiem anatomicznym, a głównym kierunkiem beleczkowym, co może dodatkowo utrudniać tego rodzaju wycięcie [147]. Dlatego rozmiary próbek były motywowane również etapem dalszego przetwarzania uwzględniającego cyfrowy obrót i wycięcie podobszaru o wielkości nie mniejszej niż 5 mm, zorientowanego zgodnie z symetrią ortotropową na bazie analizy morfometrycznej (podrozdział 5.3.6). Warto zaznaczyć, że w ogólności orientacja obszarów nie wpływa na analiza morfometryczną, ale ma kluczowe znaczenie w przypadku wyznaczenia efektywnych właściwości mechanicznych.

Przeprowadzono szereg wstępnych walidacji na próbkach z testowej kości (K02). Cele były różne: ocena najbardziej odpowiedniej metody przechowywania, wrażliwość pomiarów na warunki (np. wilgotność) i walidacja cięcia próbek. Finalnie zdecydowano się na użycie piły z brzeszczotem do pocięcia kości na fragmenty i piły tarczowej w celu docięcia próbek do oczekiwanej geometrii. Pomiary były przewidziane do wykonania niezwłocznie po wycięciu z racji charakteru próbek, mogących zmieniać swoje właściwości po wypreparowaniu. Próbki kości były utrwalane i przechowywane w 4% roztworze formaldehydu w lodówce laboratoryjnej (4 °C).

### 3.3. Pomiary mikrotomograficzne

Wszystkie pomiary  $\mu$ CT zostały przeprowadzone z użyciem nanotomografu rentgenowskiego *Phoenix Nanotom s* (General Electric) z napięciem zasilania 100 kV i natężeniem 160  $\mu$ A. Wykorzystane narzędzie to precyzyjny system o wyjątkowo wysokiej rozdzielczości (do 500 nm), a jednocześnie z powodu małych gabarytów (160 × 74 cm) urządzenie zaprojektowane do pracy w małych laboratoriach badawczych. Dysponuje wysoką wykrywalnością detali (do 200 nm) i potrafi skanować próbki o wielkości do 1 kg i o średnicy 120 mm<sup>1</sup>. Jest on pierwszym na świecie systemem tomografii komputerowej, oferującym analizę wysokiej rozdzielczości dla mikromechaniki i badań materiałowych wykonanym w technologii nanofocus (moc lampy 180 kV).

#### 3.3.1. Skala makro i mezo

Przeprowadzono nieniszczące obrazowanie  $\mu$ CT z izotropowym wokselem: 45,6  $\mu$ m dla kości udowych w skali makro oraz 6,5  $\mu$ m dla wypreparowanych próbek w skali mezo. Wykorzystano

1. Pełna specyfikacja urządzenia:

<http://www.ge-mcs.com/en/radiography-x-ray/ct-computed-tomography/nanotom-s.html>

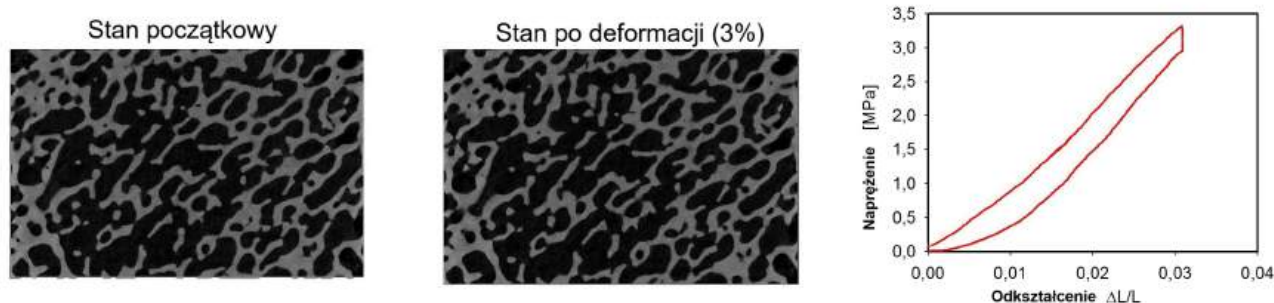
koncepcję pomiaru dla całej objętości (czas trwania 45 minut) z użyciem rekonstrukcji obrazów otrzymanych metodą  $\mu$ CT bez użycia fantomu kalibracyjnego. Zastosowano filtr miedziany w celu skutecznej redukcji efektu utwardzania wiązki (ang. *beam hardening*) [158]. W efekcie każdy z obrazów 3D w skali szarości po rekonstrukcji do obrazów 32-bitowych został wyeksportowany do 8-bitowego stosu „surowych danych” (ang. *raw data*), w pliku w formacie TIF w rozdzielczości przekroju poprzecznego równej  $2048 \times 2048$  pikseli. Zobrazowane fragmenty kości makroskopowych wymagały cyfrowego połączenia (opis wykorzystanego podejścia w rozdziale 4). Na rysunku 1.2 (r. 1) pokazano wyniki przykładowych pomiarów  $\mu$ CT kości w obu skalach (mezo i makro), zestawiając z obrazem struktury zobrazowanej w skali mikro.

### 3.3.2. Pomiar w teście ściskania

W celu wyznaczenia pozornych właściwości mechanicznych w postaci modułów Younga w zakresie liniowo-sprężystym, wykorzystano miniaturową maszynę do ściskania *Deben CT500*. Jest to maszyna pozwalająca zarówno na ściskanie, jak i rozciąganie badanego materiału z maksymalną siłą 500 N. Urządzenie wyposażone jest w sterownik wraz z oprogramowaniem do sterowania eksperymentem. Szczegółowe parametry urządzenia zawarto w dodatku A.

Dzięki sześcienniej geometrii wypreparowanych próbek kości gąbczastej, możliwy był pomiar ściskania w 3 prostopadłych kierunkach. W celu zmniejszenia błędu eksperymentalnego podczas pomiaru uwzględnione zostały rekomendacje z pracy [93]. W szczególności założono bezpieczną wartość maksymalnej deformacji równą 3,5%, bazując na granicy 4% przyjętej w pracy [42]. Dla każdego z punktów pomiarowych odczekano odpowiednią ilość czasu, tak aby mogło dojść do relaksacji obciążenia danej próbki. W wyniku tak przeprowadzonych testów, dla każdego z kierunków otrzymano kilka przedziałów, w których zależność dla kości była liniowa i dla każdego z tych przedziałów możliwe było wyznaczenie wartości modułu Younga.

W przypadku wybranych próbek z każdej z kości makroskopowych zdecydowano się na umieszczenie maszyny wewnątrz nanotomografu *Phoenix Nanotom s* (zgodnie ze zdjęciami zamieszczonymi na rysunku 3.3). Dzięki temu można było uzyskać pomiar  $\mu$ CT pojedynczych próbek kości w trakcie testu ściskania.



Rysunek 3.7. Krzywa zależności naprężenia od odkształcenia dla testu obciążenia próbek (po prawej) oraz struktura kości przed i w trakcie deformacji (3%) z użyciem  $\mu$ CT (po lewej i w środku).

Ponieważ w trakcie testu mechanicznego wykonywano pomiar  $\mu$ CT, test ściskania był w takim przypadku zatrzymywany, dochodziło do relaksacji i można było przeprowadzić pomiar  $\mu$ CT (trwający 45 minut). Na rysunku 3.7 zaprezentowano typową krzywą zależności naprężenia od odkształcenia dla testu obciążenia próbki kości gąbczastej wraz z pokazaniem mikrostruktury przed i w trakcie deformacji (3 %) z użyciem  $\mu$ CT.

Także i w tym przypadku wykonano testy (dla kości K02), poddając próbki obciążeniu w trakcie obrazowania  $\mu$ CT, co pozwoliło na obserwację deformacji i dobór parametrów cyklu. Po uzyskaniu odpowiednich parametrów, ustalono następujący przebieg dla pomiarów:

1. Próbkę umieszczano w maszynie pomiędzy wypolerowane, równoległe, hartowane stalowe płyty, a następnie zaciskano szczęki, tak aby dokonać wstępnego obciążenia próbki. Na tym etapie maksymalne naprężenie nie przekraczało ustalonej wartości 0,11 MPa. Odległość między szczękami maszyny wyznaczała początkową wysokość próbki.
2. Próbka była ściskana do wartości odkształcenia 1,5 %.
3. Pomiędzy wartością odkształceń 0,5 %, a 1,5 % wykonano 8–10 cykli naprzemiennego ściskania i odpuszczania obciążenia, mających na celu ustabilizowanie próbki w uchwycie.
4. Właściwe pomiary (w tym z użyciem  $\mu$ CT) wykonywano dla wartości odkształcenia 0,5; 1,5; 2,5 i 3,5 %. Przed wykonaniem każdego pomiaru odczekano odpowiedni czas, w którym wartość zadanego naprężenia ustabilizowała się (relaksacja).
5. Po wykonaniu ostatniego pomiaru zmieniono zadane obciążenie do wartości zerowej.

Ze względu na deformację tubusu w maszynie wytrzymałościowej w przypadku pomiarów dla obiektów o określonej geometrii, przeprowadzono dodatkową kalibrację, której celem było zniwelowanie tego efektu poprzez korektę obliczeń. Brak jego uwzględnienia, spowodowałby otrzymanie zaniżonych wartości modułów Younga, ze względu na niekorzystny wpływ tarcia na wyniki dla badanej próbki. Wyznaczenie krzywej kalibracyjnej polegało na zbadaniu odkształcenia osłony maszyny w zależności od przyłożonej siły. Zależność tę otrzymano, ściskając stalowy bloczek (przyjmując jego brak odkształceń dla takich sił) w zakresie 0–500 N. Ostatecznie od wydłużenia wskazanego przez maszynę należało odjąć wartość wyznaczoną z uzyskanej zależności kalibracyjnej.

### 3.4. Wyniki

Na potrzeby zaplanowanych badań eksperymentalnych, 6 wołowych kości udowych zostało pociętych na fragmenty i zobrazowanych w  $\mu$ CT w skali makro (izotropowy woksel 45,6  $\mu$ m). Następnie dzięki otrzymanym zrekonstruowanym obrazom 3D kości, oceniono lokalne przebiegi kierunków w jej mikrostrukturze i przeprowadzono preparatykę 70 sześciennych próbek kości gąbczastej, które zważono i zwymiarowano. Tak uzyskane próbki zostały zobrazowane w  $\mu$ CT w skali mezo (izotropowy woksel 6,5  $\mu$ m). Dzięki otrzymanym zrekonstruowanym obrazom 3D, oceniono uzyskane obszary pod kątem poprawności pomiarowej i wartości frakcji objętościo-



wej. Następnie przeprowadzono testy ściskania próbek w 3 prostopadłych kierunkach, w tym w trakcie obrazowania  $\mu$ CT w skali mezo dla wybranych próbek z każdej kości. Użycie pomiaru  $\mu$ CT próbek podczas obciążenia pozwoliło na dodatkową weryfikację i umożliwiło skalibrowanie wartości z pomiarów ściskania. Opracowano wyniki pomiaru skrócenia w zakresie sprężystym na bazie regresji liniowej rezultatów testów ściskania (opis 3.4.1). Dokonano także pomiaru masy wypreparowanych próbek przed i po wypaleniu w piecu w celu wyznaczenia gęstości kości w oparciu o informację o objętości z rekonstrukcji  $\mu$ CT (opis 3.4.2). Przeprowadzono także pomiar  $\mu$ CT fragmentu kości zbitej K07 (struktura pokazana na rysunku 1.5, r. 1), uzyskując uśrednioną porowatość o wartości 0,025. Znormalizowana gęstość kości zbitej o wartości 0,975 (wyrażona jako odwrotność porowatości) została oceniona na podstawie struktury i użyto jej do przypisania właściwości materiałowych w symulacjach wieloskalowych w rozdziale 7.

W celu uzyskania wyników badań eksperymentalnych wykorzystano następujące narzędzia:

- nanotomograf *GE Phoenix Nanotom S*: użyty do obrazowania wieloskalowego  $\mu$ CT,
- miniaturowa maszyna *Deben CT500*: użyta do testów ściskania próbek,
- stacja robocza z Intel Xeon X5560 96GB (24 wątki): użyta do rekonstrukcji  $\mu$ CT,
- stacja robocza z Intel i7 2700K 64GB (8 wątków): użyta do przetwarzania danych,
- karta graficzna Nvidia GTX Titan Black (2880 rdzenie): użyta do wizualizacji 3D,
- piła brzeszczotowa *Proxxon*: użyta do przygotowania fragmentów kości udowej,
- diamentowa piła tarczowa *GE*: użyta do przygotowania próbek kości gąbczastej,
- waga laboratoryjna: użyta do zważenia próbek kości przed i po wypaleniu,
- piec laboratoryjny: użyty do wypalania próbek kości po pomiarze  $\mu$ CT.

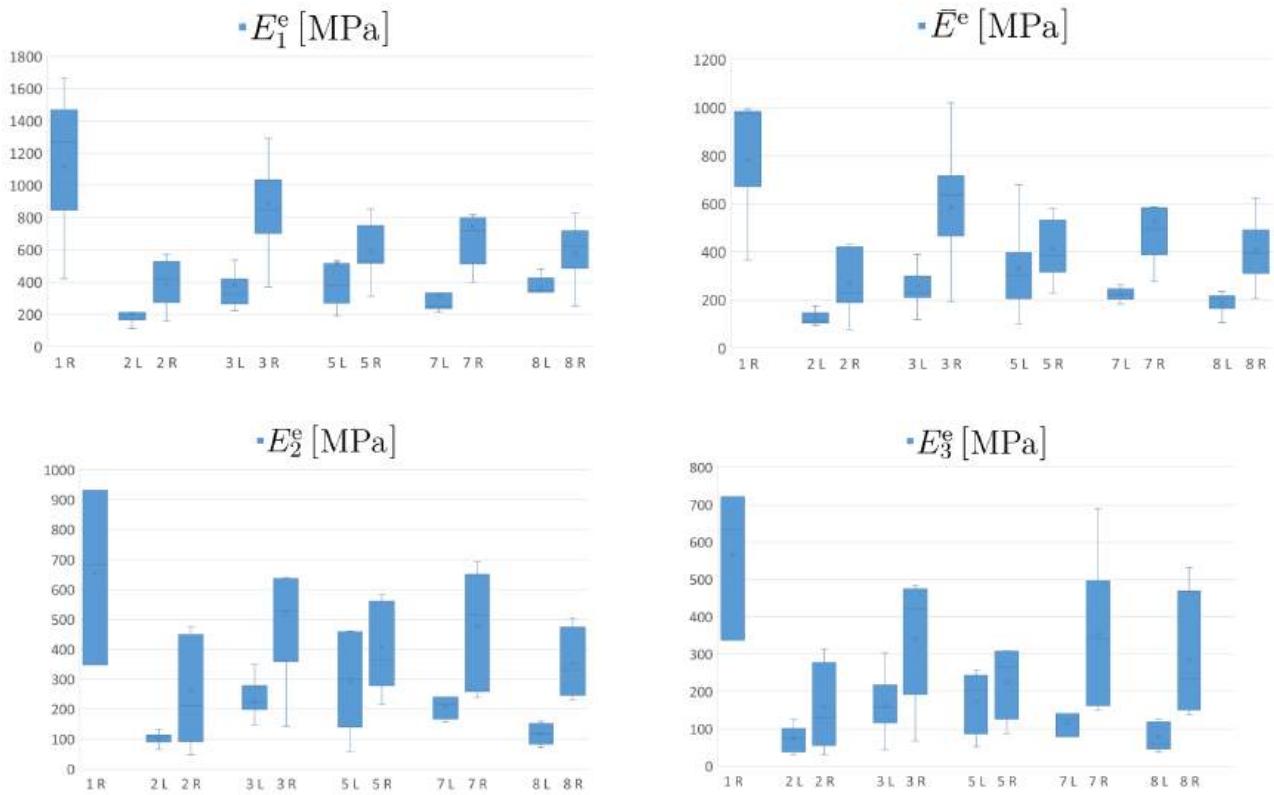
Zbiorcze zestawienie tabelaryczne wyników ściskania dla każdego z kierunków, wraz ze szczegółowymi informacjami o każdej z próbek kości, a także zestawienie tabelaryczne wyników pomiarów gęstości dla poszczególnych próbek zawarto w dodatku A.

### 3.4.1. Wyznaczenie stałych materiałowych

W celu uzyskania pomiaru skrócenia w zakresie sprężystym dla próbek, wykorzystano regresję liniową z dopasowania prostej do rezultatów testów ściskania. Stosując pół-automatyczne podejście do dopasowania dla 30–70% zakresu krzywej [94], uzyskano wartości współczynnika determinacji  $r^2$  (ang. *coefficient of determination*, *R-squared*) powyżej 0,9 dla większości pomiarów, na bazie skryptów (Python). Wartości modułów Younga w 3 kierunkach dla próbek zostały skalibrowane na bazie metody opisanej w podrozdziale 3.3.2 i zawarte w dodatku A.

Na rysunku 3.8 zamieszczono wykresy z uśrednionymi wynikami modułów Younga dla 3 kierunków ( $E_1^e \geq E_2^e \geq E_3^e$ ) oraz średnich ( $\bar{E}^e$ ) z pomiarów eksperymentalnych ściskania dla próbek wypreparowanych z 6 wołowych kości udowych, z podziałem na anatomiczne strony oznaczające miejsce wycięcia z obszarów poddawanych różnym obciążeniom ściskającym, rozciągającym i skręcającym (rozdział 3). Spodziewając się zróżnicowanych wyników, w analizie uwzględniono podział wyników dla próbek pobranych z osobników w różnym wieku (1, 2, 3, 5,

7, 8 lat) na 2 zgrupowane obszary — część „prawą” (R) obejmującą szyjkę i głowę kości oraz pozostałą „lewą” (L). Z powodów anatomicznych (ilości chrząstki nasadowej) dla kości osobnika jednorocznego otrzymano zbyt małą statystykę dla grupy L (pojedyncza jednorodna wycięta próbka z obszaru), dlatego nie uwzględniono tego wyniku na uśrednionych wykresach.



Rysunek 3.8. Wykresy z uśrednionymi wynikami wartości modułów Younga dla trzech prostopadłych kierunków ( $E_1^e \geq E_2^e \geq E_3^e$ ) oraz wartości średniej ( $\bar{E}^e$ ) z pomiarów eksperymentalnych w postaci testów jednoosiowego ściskania dla wszystkich kości z podziałem na stronę lewą (L) i prawą (R).

Na bazie uzyskanych wartości można wyciągnąć szczegółowe wnioski. Zarówno w przypadku wyników modułu Younga dla poszczególnych kierunków ( $E_i^e$ ), jak i wartości średnich ( $\bar{E}^e$ ), uzyskuje się analogiczne wielkości, ale zgodne z ortotropią właściwości, charakterystyczną dla kości gąbczastej z kości udowej. Z racji przyjętej konwencji ( $E_1^e \geq E_2^e \geq E_3^e$ ), wartości  $E_1^e$  są największe, a  $E_3^e$  najmniejsze, jednak wykazują różnice pomiędzy poszczególnymi kośćmi. Dla osobnika w średnim wieku (3–4 lata, K07), wartość odchylenia jest stosunkowo duża, co może wynikać z największej liczby próbek. Z kolei statystyka uzyskana dla młodego osobnika (1–2 lata, K01) z powodu wieku rozwojowego i dużej ilości chrząstki nasadowej, a co za tym idzie małej liczby próbek, przyjmuje największe i najbardziej rozległe wartości. Charakterystyczne są niższe wartości średnie ( $\bar{E}^e$ ) dla strony lewej (L), względem tych z prawej (R) z obszaru w okolicach głowy i szyjki kości udowej, co jasno wskazuje na inny charakter obciążeń rozciągających, skręcających i ściskających tam działających. Uzyskane wartości średnie i odchylenia zawierają się w danych literaturowych dla kości zawartych w podrozdziale 2.4.2 i mogą stanowić referencję przy kalibracji wyników symulacji dla danych w skali mezo (rozdział 6).

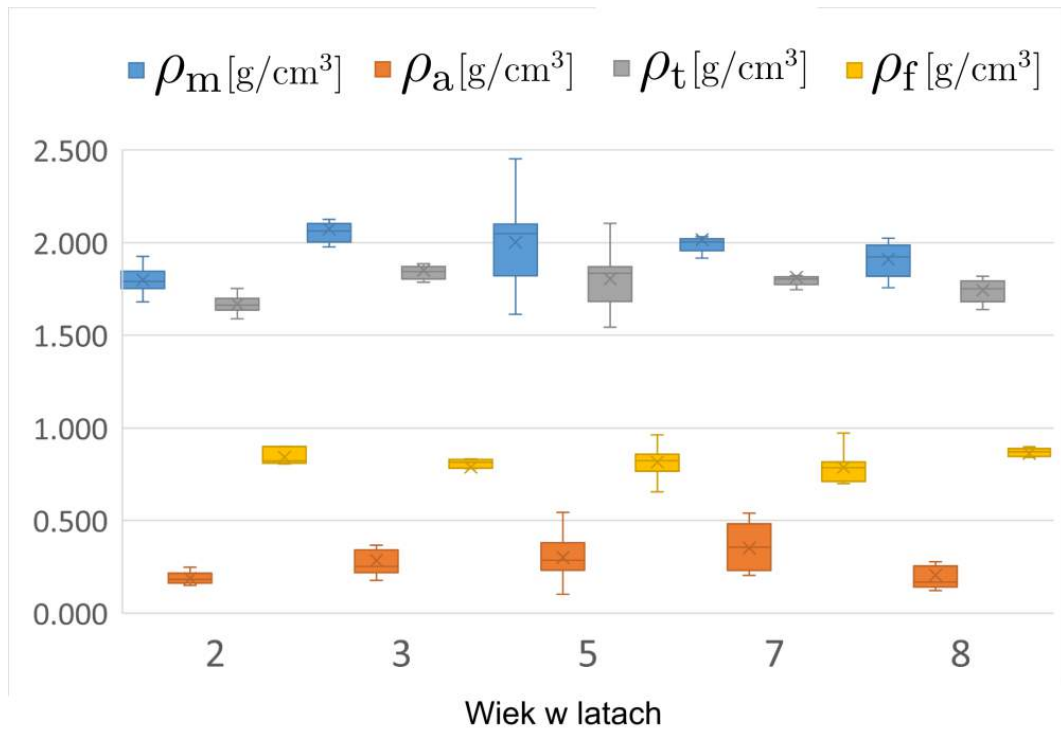
### 3.4.2. Wyznaczenie gęstości

Kości wołowe i ludzkie mimo wielu podobieństw w wyglądzie anatomicznym różnią się pod względem zawartości związków organicznych i nieorganicznych. Ze względu na złożoną budowę, w przypadku kości definiuje się szereg różnych wielkości opisujących gęstość. Na bazie porównania kości różnych ssaków ocenia się [215], że parametrem, który pozostaje taki sam, jest gęstość materiałowa  $\rho_m$  (ang. *material density*), odnoszącą się do masy materiału kostnego względem objętości zajmowanej przez sam materiał, a której wartość przyjmuje się w zakresie 2,0–2,2 g/cm<sup>3</sup>. Mimo tej samej gęstości materiałowej, kości wołowe charakteryzują się wyższą zawartością białka oraz związków mineralnych. Skutkuje to tym, że kości te są bardziej odporne na obciążenia, a co za tym idzie na złamania. Osobniki zwierzęce mają dużo większą masę (rzędu 500 kg) niż ludzie (rzędu 70 kg), kości wykazują się więc większą wytrzymałością. Zwyczajowo gęstość pozorną  $\rho_a$  (ang. *apparent density*) jest określana jako stosunek całkowitej zmineralizowanej masy tkanki wilgotnej do całkowitej objętości próbki, ze względu na występowanie licznych porów wypełnionych fazą organiczną. Oznacza się także gęstość szpiku  $\rho_f$  (ang. *marrow density, fat density*) oraz gęstości beleczek  $\rho_t$  (ang. *trabeculae density, mineral density*).

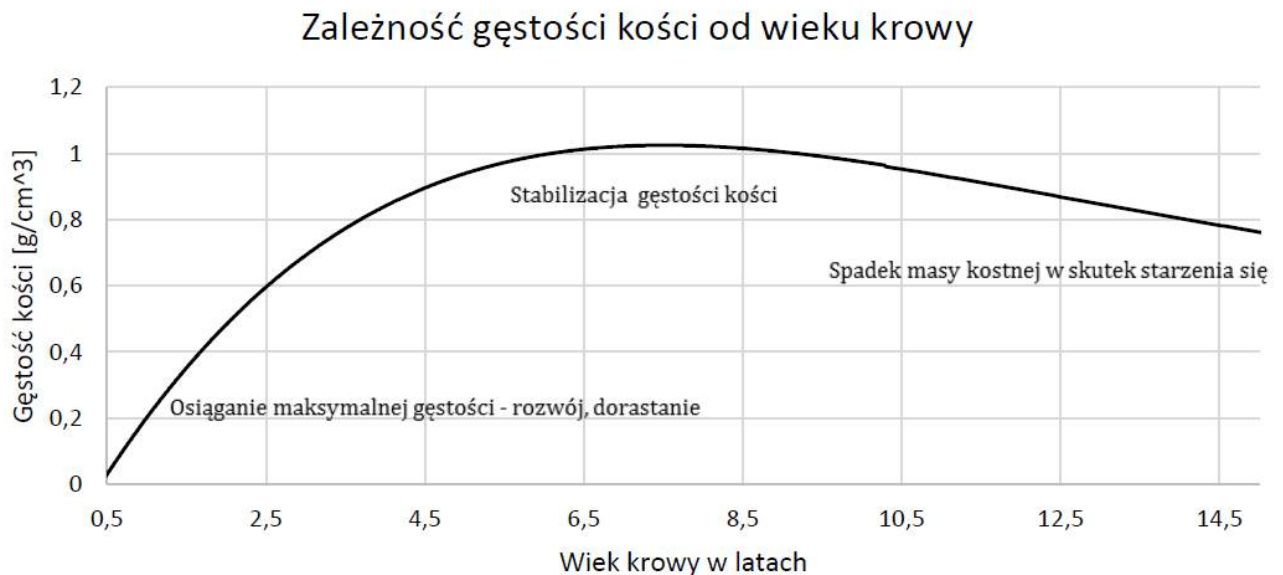
W przypadku niniejszego opracowania wypreparowane próbki po obrazowaniu  $\mu$ CT, zostały wypalone w piecu co pozwoliło na ulotnienie się części organicznej, a zachowanie niemal w całości części mineralnej. Po tym procesie próbki zostały powtórnie zważone i zobrazowane w  $\mu$ CT. Czynności te były przeprowadzone w celu uzyskania eksperymentalnych wartości gęstości na bazie pomiaru masy i objętości, adaptując metodologię i oznaczenia z pracy [215] oraz stałe wyznaczone w pracach [60, 196]. Uzyskane wartości zostały zawarte zbiorczo w dodatku A.

Na rysunku 3.9 zamieszczono uśrednione wyniki eksperymentalnego pomiaru gęstości dla próbek kości gąbczastej wypreparowanych z wołowych kości udowych w różnym wieku (2, 3, 5, 7, 8 lat). Przyjęto oznaczenia gęstości materiału ( $\rho_m$ ), gęstości pozornej ( $\rho_a$ ), gęstości beleczek ( $\rho_t$ ) oraz gęstości szpiku ( $\rho_f$ ). Uzyskano charakterystyczny przebieg wzrostowo-spadkowy wraz z wiekiem dla 3 gęstości ( $\rho_m$ ,  $\rho_a$ ,  $\rho_t$ ). Jedynie w przypadku gęstości szpiku ( $\rho_f$ ) nie stwierdzono przebiegów tego rodzaju. Najmniejsze wartości gęstości uzyskano dla młodego osobnika (2–3 lata, K04), dla średnich (3–6 lat, K05, K07) wartości były największe, a dla dojrzałych (7–9 lat K03, K06) nieco mniejsza niż dla średnich. Co istotne, uzyskane wartości średnie gęstości materiału ( $\rho_m$ ), zawierają się w zakresie danych literaturowych przytoczonych powyżej.

Na rysunku 3.10 zamieszczono wykres zależności gęstości kości od wieku krowy po adaptacji danych dla kości ludzkich z pracy [34], ze wskazaniem momentu osiągnięcia maksymalnej gęstości w trakcie dorastania, stabilizacji gęstości oraz spadku masy kostnej na skutek procesów starzenia. Gęstość kości została znormalizowana na wykresie do wartości maksymalnej 1 g/cm<sup>3</sup>. Dzięki temu w przypadku każdej z wyznaczonych gęstości, dla których uzyskano przebieg wzrostowo-spadkowy, można przeskalować liniowo wykres (poza gęstością szpiku, której wartość średnia utrzymuje się na stałym poziomie). Choć zamieszczony wykres przedstawia wyidealizowane zależności, to przebiegi w przypadku rzeczywistych danych są analogiczne.



Rysunek 3.9. Uśrednione wyniki eksperymentalnego pomiaru gęstości dla próbek kości gąbczastej wypreparowanych z wołowych kości udowych w różnym wieku (2, 3, 5, 7, 8 lat). Oznaczenia gęstości materiału ( $\rho_m$ ), gęstości pozornej ( $\rho_a$ ), gęstości beleczek ( $\rho_t$ ) oraz gęstości szpiku ( $\rho_f$ ). Charakterystyczny przebieg wzrostowo-sпадkowy dla wybranych parametrów ( $\rho_m$ ,  $\rho_a$ ,  $\rho_t$ ) wraz z wiekiem.



Rysunek 3.10. Wyidealizowany wykres zależności gęstości kości od wieku krowy po adaptacji danych kości ludzkich z pracy [34], ze wskazaniem momentu osiągnięcia maksymalnej gęstości w trakcie dorastania, stabilizacji gęstości kości oraz spadku masy kostnej na skutek procesów starzenia.

### 3.5. Dyskusja

Opracowana metodologia łącząca obrazowanie  $\mu$ CT i testy ściskania w celu wyznaczenia stałych materiałowych pozwoliła na osiągnięcie zamierzonych rezultatów. Uzyskano reprezentacje cyfrowe 6 wołowych kości udowych (koniec bliższy) na podstawie obrazowania  $\mu$ CT w niższej rozdzielczości w skali makro (45,6  $\mu$ m). Następnie z każdej kości wypreparowano do zobrazowania w  $\mu$ CT w 7-krotnie wyższej rozdzielczości w skali mezo (6,5  $\mu$ m) statystycznie reprezentatywne sześciennie próbki kości gąbczastej o objętości 1 cm<sup>3</sup> w łącznej liczbie 70 sztuk. Dla każdej próbki wyznaczono eksperymentalnie parametry materiałowe w zakresie liniowo–sprężystym w 3 kierunkach z użyciem miniaturowej maszyny do ściskania, w tym dla wybranych próbek w trakcie obrazowania tomograficznego w celu weryfikacji. Korzystając z nieniszczącego charakteru badań obrazowych, przeprowadzono także analizę wartości gęstości próbek kości, w oparciu o pomiar masy i objętości na bazie obrazowania  $\mu$ CT przed i po wypaleniu w piecu. Metody, które zostały wykorzystane w trakcie opisywanych badań, korzystają z najnowszych zdobyczy technik, takich jak wysokorozdzielcza mikrotomografia laboratoryjna, czy też urządzenia do obciążenia z możliwością użycia w trakcie obrazowania. W przypadku obrazowania zadbano o to, aby nie było artefaktów oraz odpowiednio dobrano charakterystykę prądowo–napięciową do materiału. Rozmiary próbek dobrano, tak aby uzyskać obszary reprezentatywne dla kości gąbczastej, a wewnętrzne miejsca wycięcia w położeniu pośrednim zostały wskazane na bazie przestrzennej struktury kości udowej (kość zbita na zewnątrz). Dzięki zaplanowanej analizie głównych osi anizotropii, możliwa była weryfikacja orientacji wyciętych próbek. Postarano się, aby uważnie przestrzegać wytycznych preparatyki próbek. Niemniej jednak przyjęte założenia prowadzą do szeregu ograniczeń dla uzyskanych rezultatów.

Testy ściskania lub rozciągania w przypadku wypreparowanych próbek kości gąbczastej zostały w literaturze omówione wyczerpująco [3] i przeprowadza się je standardowo również dla próbek kości zwierzęcych [140, 198]. W przypadku struktur, których wysokość jest mniejsza bądź równa bokom, otrzymuje się zaniżone wartości modułów Younga, ze względu na znaczący wpływ tarcia na rozkład naprężeń. Optymalną geometrię próbki otrzymuje się w przypadku, gdy stosunek wysokości do boku podstawy wynosi 1,5–1,6 [92, 93]. Dlatego proponuje się wykorzystanie geometrii cylindrycznej dla próbek w zalecanym stosunku rozmiarów 2:1 wysokości do średnicy, zamiast geometrii sześciennej, poświęcając daną próbkę do bardziej wiarygodnego testu obciążenia, ale tylko dla jednego wybranego kierunku. Tego typu geometria nie była jednak akceptowalna w przypadku niniejszego opracowania z powodu chęci wykorzystania miniaturowej maszyny do obciążenia próbek (ograniczenie do 12 mm), w tym podczas obrazowania  $\mu$ CT, w celu wyznaczenia ortotropowych właściwości kości gąbczastej w 3 prostopadłych kierunkach. Założenie to bazowało również na planach kalibracji symulacji, które również miały być przeprowadzone w 3 kierunkach, w celu otrzymania pełnej postaci tensora sztywności. Wydaje się, że w przypadku zbliżonych rozmiarów boków sześciennych obszarów, uzyskiwane pozorne stałe materiałowe, choć mogą być zaniżane względem rzeczywistych, czy też efektywnych, to wpłynie

to analogicznie na wartości dla wszystkich kierunków, zatem ortotropia zostanie odwzorowana. Także chęć wykonania analizy morfometrycznej dla uzyskanych obrazów 3D z użyciem  $\mu$ CT oraz potrzeba wycięcia optymalnych podobszarów zgodnych z orientacją osi głównych w rozmiarach reprezentatywnych determinowała przyjęte założenia co do rozmiarów sześciennych obszarów. Warto podkreślić, że analiza morfometryczna dla obrazów 3D jest niezależna od zorientowania próbek [147]. Również założenie co do możliwie dużej liczby obszarów w celu uzyskania odpowiedniej statystyki dla próbek wskazywało na wybór geometrii sześciennych. Należy przy tym zaznaczyć, że to założenie wpływało również na wypreparowanie próbek z obszarów, w których nie było możliwe precyzyjne docięcie zgodnie z kierunkami głównymi, ale uzyskiwano lepszą statystykę dla zróżnicowanej mikrostruktury.

Wykonanie pomiarów obciążenia próbek w testach ściskania z użyciem miniaturowej maszyny do ściskania również miało swoje ograniczenia. Zarówno mały zakres sił (maksymalnie do 500 N), jak i rodzaj materiału, z którego była wykonana maszyna, wpływały na dokładność uzyskiwanych pomiarów. Urządzenie składało się z tubusu wykonanego z pleksi, który mógł ulegać odkształceniu, powodując niedokładności w pomiarze ściskania próbki. Dlatego pomiary wymagały skalibrowania w oparciu o wyznaczenie krzywej kalibracyjnej uzyskanej dla materiału o znikomym odkształceniu dla wykorzystywanego zakresu sił.

Brak uwzględnienia obok modułu Younga pozostałych parametrów materiałowych jak moduł ścinania, może także stanowić ograniczenie opisywanej metodologii. Trzeba jednak podkreślić, że dotychczas nie opracowano efektywnego pomiaru właściwości w teście ścinania dla tego typu struktur jak kość gąbczasta. Choć w literaturze brakuje wiarygodnych wyników dla takich pomiarów z wyznaczeniem doświadczalnych wartości modułów ścinania, które mogłyby posłużyć do zaadaptowania i szerszej weryfikacji analiz  $\mu$ FE na bazie danych z  $\mu$ CT, to dedykowane urządzenia pomiarowe są już w fazie projektowej, np. w zespole prof. Pawła Lipińskiego z LaBPS w Metz, co może pozwolić w niedalekiej przyszłości na skuteczne wzbogacenie badań. Również eksperymentalny pomiar z użyciem nanoindentacji i mikroindentacji rozszerzyłby możliwości kalibracji symulacji. W przypadku wypreparowanych próbek kości, techniki te pozwalają na precyzyjniejsze określenie dla nich właściwości tkanki kostnej [156, 190].

Rosnąca popularność metody cyfrowej korelacji objętościowej (ang. *digital volume correlation*, DVC), także może pozwolić na wzmocnienie opisywanej metodologii. Umożliwiłyby to wykonanie bezpośrednich zestawień lokalnych przemieszczeń w eksperymentach i symulacjach na bazie danych obrazowych z  $\mu$ CT. Technika ta może pozwolić jednocześnie na rozszerzenie uzyskanych wyników stałych materiałowych oraz lepszą weryfikację pomiarów [212, 36, 181]. Opcja wyznaczenia bezwymiarowych wartości współczynników Poissona na bazie testów ściskania z użyciem metody DVC, choć rozszerzyłaby wyniki pomiarów, nie wpłynęłaby na możliwość liniowej kalibracji symulacji. Jednak metodologia opracowana na potrzeby niniejszej pracy została zaprojektowana w taki sposób, żeby dało się wykorzystać w tym celu uzyskane dane, wykonując testy obciążeniowe w trakcie pomiarów  $\mu$ CT. Także symulacje były zaplanowane, uwzględniając kompatybilność z metodą DVC (rozdział 6).

Brak wykorzystania fantomu kalibracyjnego podczas obrazowania  $\mu$ CT może wpłynąć na możliwość użycia heterogenicznego mapowania właściwości tkanki kostnej dla każdego woksela. Takie podejścia przypisujące właściwości do elementów skończonych zamiast globalnej wartości właściwości tkanki kostnej, bazują na lokalnym wyznaczeniu gęstości bezpośrednio z danych w skali szarości z  $\mu$ CT [36]. Jednak wykorzystywane w opracowaniu metody analizy morfometrycznej danych uzyskanych w obrazowaniu  $\mu$ CT bazują na reprezentacji zbinaryzowanej, którą można kalibrować metodami progowania lokalnego (opis w podrozdziale 5.2.2) z użyciem precyzyjnej rejestracji wieloskalowej (opis w rozdziale 4). Niemniej jednak aby mogło dojść do rejestracji, każda pocięta przez wymagania pomiarowe kość, musiała zostać cyfrowo połączona z rozłącznych fragmentów, co także mogło mieć wpływ na dalszą analizę.

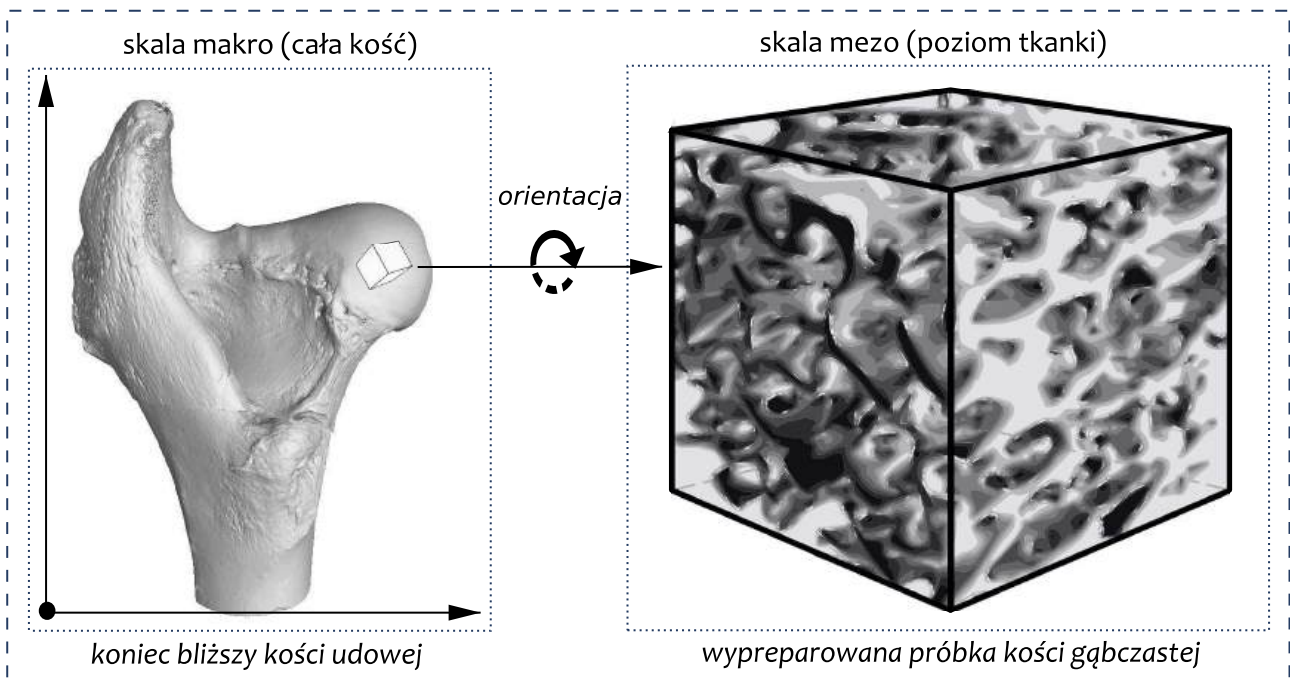
Jednak nawet przy ograniczeniach pomiarowych scharakteryzowanych powyżej, testy ściskania w wypracowanym wydaniu, mogą dostarczyć użytecznych danych biomechanicznych [3]. Przeprowadzono szereg badań eksperymentalnych w celu oceny zachowania mechanicznego kości gąbczastej w trzech ortogonalnych kierunkach [5, 30]. Badania te potwierdziły ortotropowe zachowanie kości gąbczastej. Charakterystyczna postać krzywych naprężenie—odkształcenie mogą wskazywać, że właściwości mechaniczne kości gąbczastej zależą głównie od sieci beleczek kostnych i właściwości materiałowych tkanki. Wołowa kość gąbczasta (ang. *bovine trabecular bone*, BTB) jest często wybierana do takich badań eksperymentalnych zamiast kości ludzkich, ze względu na wielkość i dostępność próbek oraz podobieństwo do ludzkiej kości gąbczastej. W pracy [94] przeprowadzono eksperymentalną i numeryczną charakterystykę właściwości sprężysto-plastycznych sześciennych próbek kości wołowych i sztucznych struktur zbliżonych do nich właściwościami, stosując podejście z wykorzystaniem dopasowania nachylenia fragmentu 30–70% uzyskanej krzywej. W przypadku pracy [54] dokonano pomiaru i weryfikacji eksperymentalnej dla dwóch skal z wykorzystaniem 6 makroskopowych kości udowych i 18 sześciennych próbek z 3 kości. Z kolei w pracy [42] wykorzystano 2 wołowe kości udowe oraz 15 wypreparowanych 5 mm próbek sześciennych kości wyciętych zgodnie z kierunkiem wzdłuż trzonu. Metodologia wykorzystana w przytoczonych pracach jest w dużym stopniu zgodna z przyjętą w niniejszym opracowaniu, potwierdzając słuszność założeń, ale większa statystyka uzyskana dzięki wypreparowaniu 70 próbek kości, może pozwolić na odwzorowanie bardziej zróżnicowanych zależności parametrów morfometrycznych i właściwości mechanicznych. Wykorzystanie kości zwierzęcych pozwala także na uzyskanie przebiegów czasowych pokazujących zmianę gęstości kości wraz z wiekiem. Objawia się to także w mikrostrukturze i właściwościach mechanicznych. Cechy te mogą pozwolić na lepsze zbadanie przebudowy kości w celu tworzenia modeli uwzględniających nie tylko zmianę struktury przestrzennej, ale także gęstości kości.

Dane z obrazowania  $\mu$ CT w skali mezo i makro oraz wyniki pomiarów ściskania stanowiły podstawę do analizy w dalszej części pracy. Pozwoliło to na rejestrację obszarów z obu skal (r. 4), wyznaczenie parametrów morfometrycznych (r. 5), symulacje wyznaczenia właściwości mechanicznych oraz otrzymanie parametrów modelu uśredniającego (r. 6), a także zastosowanie uzyskanych wyników do analizy wieloskalowej z użyciem modelu kostno-mięśniowego (r. 7).





## Rejestracja danych



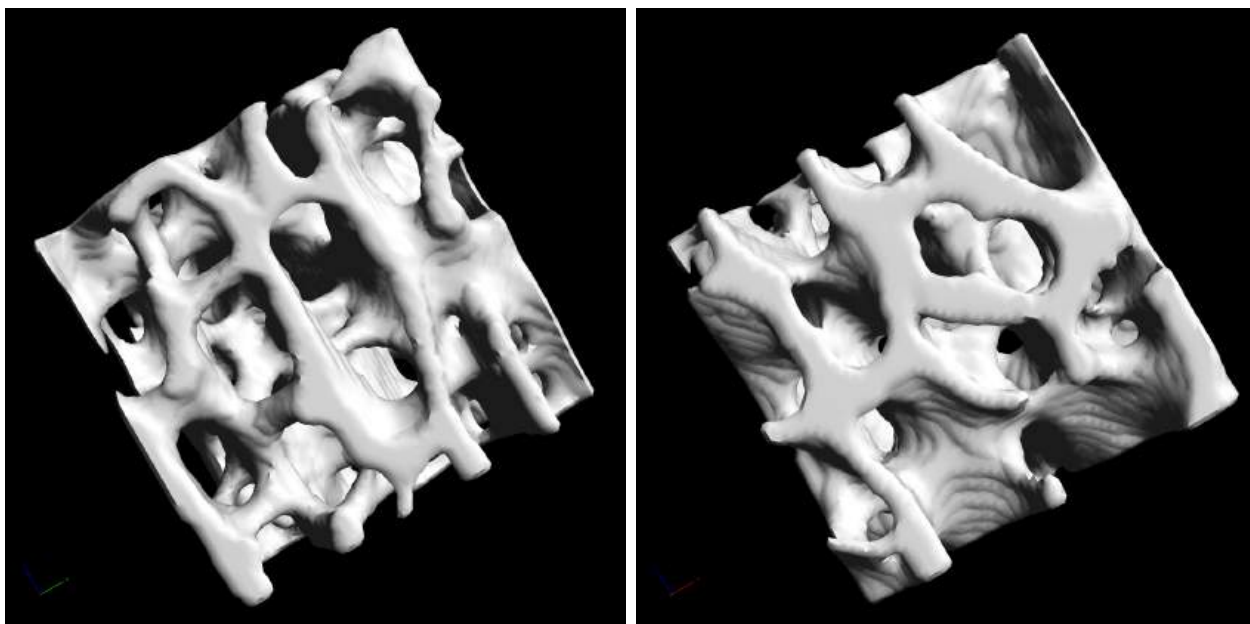
Rysunek 4.1. Proces rejestracji danych z pomiarów mikrotomograficznych w dwóch różnych skalach: wyznaczenie dopasowania pomiędzy kością udową (po lewej) i próbką kości gąbczastej (po prawej).

### Najważniejsze zagadnienia rozdziału

- Rekonstrukcja kości udowych na bazie precyzyjnego połączenia fragmentów zobrazowanych mikrotomograficznie w skali makro.
- Przygotowanie objętości reprezentatywnych próbek kości uzyskanych w pomiarach mikrotomograficznych w skali mezo.
- Przetworzenie i zreskalowanie struktur na potrzeby dalszych etapów analizy.
- Zoptymalizowanie parametrów rejestracji cyfrowej na bazie testów wstępnych.
- Uzyskanie precyzyjnej informacji o położeniu i orientacji próbek kości w kościach udowych na bazie rejestracji cyfrowej struktur z użyciem deskryptorów.
- Naniesienie i wizualizacja zorientowanych wzajemnie próbek i kości udowych.
- Rejestracja z użyciem przekształcenia odwrotnego pozwalająca na zestawienie struktury próbek z obu skal pomiarowych.

## 4.1. Wstęp

POMIARY mikrotomograficzne pozwalają na otrzymanie obrazów struktur o zróżnicowanej orientacji, budowie i rozmiarach, zmierzonych z różną rozdzielczością. Opracowana w niniejszej pracy metodologia analizy zrekonstruowanych próbek kości gąbczastej i końca bliższego kości udowej wymaga efektywnego rozwiązania problemu rejestracji danych. Precyzyjne określenie miejsca wycięcia próbki w kości pozwala dobrać odpowiednią metodę binaryzacji (rozdział 5) oraz zorientować w układzie współrzędnych kości makroskopowej zmierzone właściwości materiałowe wyprzebarowanych próbek (rozdział 7). Struktury kości gąbczastej z odrębnych miejsc kości udowej potrafią różnić się porowatością, grubością i odległością beleczek oraz anizotropią. Jednak pomimo unikalnych cech efektywna identyfikacja podobszarów kości wymaga odpowiedniego podejścia. Na rysunku 4.2 zestawiono rekonstrukcje dwóch różnych próbek kości gąbczastej tej samej wielkości pobranych z końca bliższego kości udowej.



Rysunek 4.2. 7-krotnie zreskalowane rekonstrukcje 3 mm próbek kości gąbczastej (K07RB2, K07LF1) z pomiaru  $\mu$ CT z wokselem  $6,5\ \mu\text{m}$ , pobranych z 2 różnych miejsc końca bliższego kości udowej (K07). *Kliknij, aby uaktywnić wersje interaktywne: klawisz shift do zbliżenia/oddalenia i ctrl do przesunięcia.*

Problem rejestracji obrazów (ang. *image registration*) jest zagadnieniem dobrze poznany w obrazowaniu medycznym [120] i zwykle jego rozwiązanie jest realizowane poprzez niezależne od próbki znaczniki odniesienia (ang. *fiducial markers*) [201]. Podejście to pozwala na szerokie spektrum zastosowań, dzięki czemu nałożone mogą być na siebie obrazy tego samego obiektu z różnych chwil czasowych lub z różnych systemów obrazowania [99]. Ponieważ liczba znaczników odniesienia dostępnych przy rejestracji jest zazwyczaj niska, poprawność rejestracji jest sprawdzana najczęściej z wykorzystaniem analizy błędów, rzadziej zaś na bazie oceny skuteczności dopasowania wielu markerów pokrywających się jedynie częściowo [49]. W przeciwieństwie do obrazowania medycznego, rejestracja którą wykorzystuje się w robotyce i automatyce wyma-

ga lokalizacji dużej liczby obiektów, które są zazwyczaj ekstrahowane z obrazów i porównywane z zawartością baz danych aby określić ich typ i orientację [24]. Mamy więc tu do czynienia z zagadnieniem porównania zdecydowanie większej liczby obiektów niż w przypadku znaczników odniesienia z podejścia stosowanego w medycynie. Z kolei dopasowanie lokalnych deskryptorów (ang. *local descriptors*) zamiast całych obrazów jest stosowane w wielu dziedzinach, w tym widzenia komputerowego (ang. *computer vision*) i rejestracji obrazów [118], jak również robotyce i systemach autonomicznych [105]. Rejestracja oparta o cechę charakterystyczną opisującą dany fragment obrazu (ang. *feature-based*) jest często efektywniejsza niż wykorzystująca pełną informację o nim (ang. *intensity-based*), która choć pozwala na uzyskanie większej dokładności, wymaga dużych zasobów sprzętowych, a wynik trudno zweryfikować automatycznie [66].

Analizując zastosowanie rejestracji do obrazów tomograficznych, można wyróżnić szereg podejść, w szczególności dedykowane pomiarom *in vivo* [17], w tym do tkanek miękkich takich jak serce [7], jak również metody dedykowane kościom [195]. Rejestrację stosuje się także do badania lokalnych deformacji kości w trakcie obciążeń, z wykorzystaniem markerów [82], lub poprzez analizę różnic w poszczególnych przekrojach [134]. Jednak problem automatycznej rejestracji struktur zobrazowanych mikrotomograficznie z różną rozdzielczością i w odmiennej orientacji, wymaga wyspecjalizowanego podejścia, nieopisanego w literaturze w kontekście badań kości tą techniką pomiarową. Tego rodzaju metoda została jednak z powodzeniem zastosowana dla danych z innej techniki pomiarowej, mianowicie jednopłaszczyznowego mikroskopu świetlnego (ang. *Selective/Single Plane Illumination Microscope*, SPIM), umożliwiając rejestrację dowolnej liczby częściowo nakładających się chmur wyodrębnionych punktów [164]. Podejście łączy w sobie ideę znaczników odniesienia, lokalnych deskryptorów, jak również globalnej optymalizacji i choć zostało użyte do rejestracji określonych danych z mikroskopowej metody pomiarowej, spełnia wymagania efektywnej rejestracji 3D skomplikowanych struktur kostnych.

## 4.2. Przygotowanie do rejestracji

Aby przeprowadzić rejestrację pozwalającą na precyzyjne określenie miejsca wycięcia w kości udowej danej próbki kości gąbczastej, wyniki pomiarów mikrotomograficznych zostały odpowiednio przygotowane. W szczególności połączono cyfrowo fragmenty kości udowej oraz docięto cyfrowo próbki kości gąbczastej do objętości reprezentatywnych. Zaplanowane operacje wymagały oprogramowania pozwalającego na precyzyjne korzystanie z przekształceń macierzowych oraz pracę na dużych objętościach danych. Zdecydowano się na użycie programu *3D Slicer*<sup>1</sup> oraz pakietu *ImageJ*<sup>2</sup>. *3D Slicer* jest darmowym oprogramowaniem do przetwarzania i wizualizacji obrazów z intuicyjnym i użytecznym interfejsem użytkownika. Posiada on liczne moduły bazujące na szerokich możliwościach bibliotek ITK i VTK, będąc stale rozwijanym przez ośrodki medyczne jako uniwersalna platforma obliczeniowa [46]. *ImageJ* jest darmowym i otwartym

1. Strona główna programu *3D Slicer*: <http://www.slicer.org/>

2. Strona główna pakietu *ImageJ*: <http://imagej.nih.gov/ij>

pakiem w domenie publicznej do przetwarzania, analizy i wizualizacji obrazów, stworzonym przez Wayne’a Rasbanda [1] i stale rozwijanym przez międzynarodową grupę kontrybutorów od 1997 roku, stając się standardowym narzędziem analitycznym m.in. dla obrazowania biomedycznego [174]. Został napisany w języku *Java* dzięki czemu można go uruchomić na większości systemów operacyjnych, w tym *Windows*, *Mac OS* i *Linux*, zarówno w oparciu o architekturę 32-bitową, jak i 64-bitową. Program wspiera wielowątkowość i ma otwartą architekturę, dzięki czemu można rozszerzyć jego funkcjonalności poprzez mechanizm wtyczek, skryptów i makropoleceń, czyli zestawów instrukcji przeznaczonych do wykonywania w celu automatyzacji przetwarzania. Program można uruchomić w trybie cichym (bez interfejsu i interakcji z użytkownikiem), realizując wywołania makropoleceń. Możliwości te wykorzystywane są zarówno przez mniej doświadczonych badaczy do prostych analiz, jak i w przypadku zaawansowanego przetwarzania danych i interaktywnych wizualizacji trójwymiarowych. Na bazie pakietu *ImageJ* powstało wiele dystrybucji rozszerzających jego możliwości. *Fiji*<sup>3</sup> jest dystrybucją pakietu wspieraną przez Instytut Maxa Plancka (MPI-CBG), bogato wyposażoną w zestaw wtyczek, których struktura została uporządkowana [173], polecaną do użycia przez autorów pakietu.

#### 4.2.1. Przekształcenia macierzowe

Operacje konieczne do przeprowadzenia na danych 3D wymagały standaryzacji reprezentacji przekształceń. Skorzystano z własności elementarnych macierzy transformacji, często wykorzystywanych w grafice komputerowej, które opisują zależności pomiędzy współrzędnymi wskazanego punktu przed i po transformacji [189]. Za pomocą macierzy transformacji można zdefiniować przekształcenia: rotację (obrót), translację (przesunięcie) i skalowanie. Macierz rotacji pozwala na obrót punktu wokół danej osi układu współrzędnych. W przestrzeni 3D ma ona wymiary  $3 \times 3$ . Zakładając, że układ współrzędnych jest lewoskrętny i obrót następuje zgodnie z ruchem wskazówek zegara, można przedstawić odpowiednie macierze rotacji o kąt  $\alpha$  wokół danych osi, odpowiednio macierz  $\mathbf{R}_X$  rotacji wokół osi X,  $\mathbf{R}_Y$  wokół osi Y i  $\mathbf{R}_Z$  wokół osi Z:

$$\mathbf{R}_X = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \alpha & -\sin \alpha \\ 0 & \sin \alpha & \cos \alpha \end{bmatrix}, \quad \mathbf{R}_Y = \begin{bmatrix} \cos \alpha & 0 & \sin \alpha \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin \alpha & 0 & \cos \alpha \end{bmatrix}, \quad \mathbf{R}_Z = \begin{bmatrix} \cos \alpha & -\sin \alpha & 0 \\ \sin \alpha & \cos \alpha & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}.$$

Macierz reprezentująca obrót wokół trzech osi jest złożeniem zdefiniowanych powyżej macierzy. W przypadku składania macierzy (użycia kilku transformacji jednocześnie), kolejność obliczeń ma znaczenie. Składając ze sobą macierz rotacji i translacji z reguły najpierw dokonujemy rotacji (wokół środka układu współrzędnych), a później translacji. Operacje typu: translacja, rotacja czy skalowanie oraz ich dowolne złożenia mogą być przedstawione za pomocą macierzy rozszerzonej ze współrzędnymi jednorodnymi. Jest to macierz o jeden wymiar wyższa niż liczba wymiarów przestrzennych (dla przestrzeni trójwymiarowej będzie to macierz  $4 \times 4$ ). Trzy pierwsze kolumny w takiej macierzy reprezentują osie układu współrzędnych do jakiego dokonujemy

3. Strona główna projektu *Fiji*: <http://fiji.sc/wiki/index.php/Fiji>

transformacji. Macierz translacji  $\mathbf{T}$  oraz macierz skalowania  $\mathbf{S}$  w takiej notacji definiuje się jako:

$$\mathbf{T} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & t_x \\ 0 & 1 & 0 & t_y \\ 0 & 0 & 1 & t_z \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}, \quad \mathbf{S} = \begin{bmatrix} s_x & 0 & 0 & 0 \\ 0 & s_y & 0 & 0 \\ 0 & 0 & s_z & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}.$$

Można zauważyć, że odpowiednie przekształcenie wektora  $[v_x \ v_y \ v_z]$  za pomocą zdefiniowanej macierzy  $\mathbf{T}$  i przeskalowanie wektora  $[v_x \ v_y \ v_z]$  z użyciem macierzy  $\mathbf{S}$  upraszcza się do:

$$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & t_x \\ 0 & 1 & 0 & t_y \\ 0 & 0 & 1 & t_z \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} v_x \\ v_y \\ v_z \\ 1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} v_x + t_x \\ v_y + t_y \\ v_z + t_z \\ 1 \end{bmatrix}, \quad \begin{bmatrix} s_x & 0 & 0 & 0 \\ 0 & s_y & 0 & 0 \\ 0 & 0 & s_z & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} v_x \\ v_y \\ v_z \\ 1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} s_x v_x \\ s_y v_y \\ s_z v_z \\ 1 \end{bmatrix}.$$

Własności elementarnych macierzy transformacji można pokazać na sprowadzonym do dwóch wymiarów przypadku złożenia dla translacji  $\mathbf{T}'$  o wektor  $(t'_x, t'_y)$ , rotacji  $\mathbf{R}$  o kąt  $\alpha$  zgodnie z ruchem wskazówek zegara, skalowania  $\mathbf{S}$  ze współczynnikami  $(s_x, s_y)$  i translacji  $\mathbf{T}$  o wektor  $(t_x, t_y)$ , którego wynikowa macierz transformacji  $\mathbf{T}'\mathbf{R}\mathbf{S}\mathbf{T}$  będzie miała następującą postać:

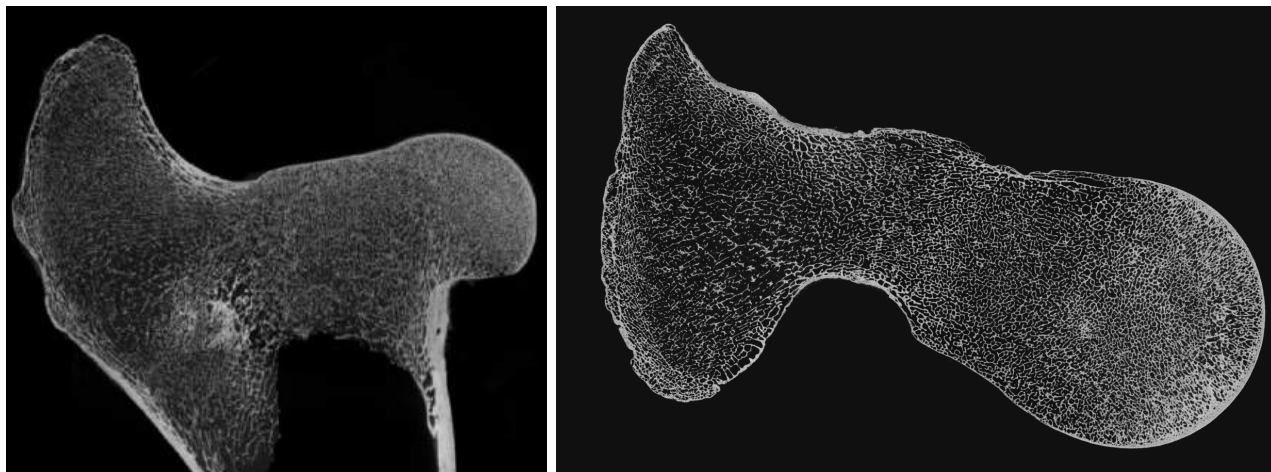
$$\begin{bmatrix} s_x \cos \alpha & -s_y \sin \alpha & t_x s_x \cos \alpha - t_y s_y \sin \alpha + t'_x \\ s_x \sin \alpha & s_y \cos \alpha & t_x s_x \sin \alpha + t_y s_y \cos \alpha + t'_y \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}.$$

Macierz transformacji otrzymywana w wyniku złożenia szeregu przekształceń została wykorzystana jako standardowa reprezentacja, zarówno w przypadku połączenia zmierzonych fragmentów kości udowych, jak i rejestracji próbek kości gąbczastej w kości udowej. Korzystając z własności macierzy można było w szczególności przeprowadzić obie operacje — ze względów wydajnościowych — na danych zreskalowanych, a następnie przemnożyć odpowiednie składowe translacji przez czynnik skalujący, pozostawiając składowe rotacje niezmienione.

#### 4.2.2. Połączenie fragmentów kości udowych

W celu precyzyjnego połączenia fragmentów kości udowych zobrazowanych mikrotomograficznie w skali makro (opis w rozdziale 3) oraz zorientowania w osi trzonu kości, wykorzystano dane zreskalowane 4-krotnie do otrzymania macierzy transformacji (*3D Slicer, Transforms*), a następnie oryginalne dane i otrzymane macierze transformacji z przeskalowanymi składowymi translacji do docelowej operacji w pełnej rozdzielczości (*ImageJ, TransformJ*) z użyciem interpolacji [124]. Z powodów wydajnościowych nie można było skorzystać z metod automatycznych dedykowanych tego typu problemom, dlatego wynikowe dopasowanie przeprowadzono poprzez serię przekształceń składowych (rotacji i translacji). Jednakże wysoka rozdzielczość pomiaru mikrotomograficznego pozwoliła na wizualną weryfikację na podstawie oceny połączenia poszczególnych beleczek kostnych. Należy podkreślić, że tego typu podejście było zrealizowane

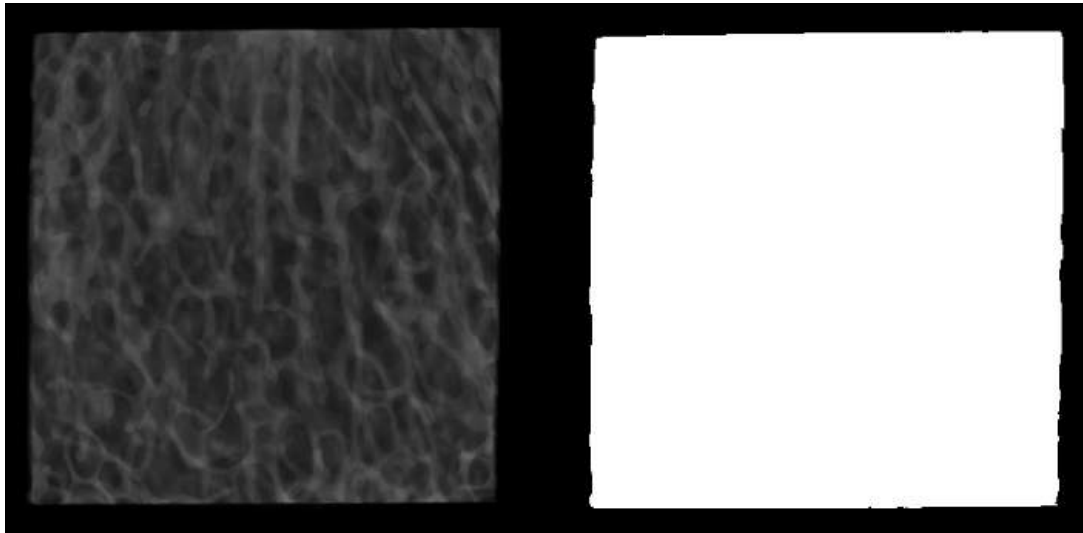
dzięki interfejsowi użytkownika programu *3D Slicer* umożliwiającemu podgląd trzech prostopadłych rzutów obrazu 3D oraz pracę w trybie sparametryzowanej przezroczystości. Z kolei połączenia w oryginalnej skali pomiarowej dokonano w konfiguracji *ImageJ* efektywnie wykorzystującej dostępną ilość pamięci operacyjnej w stacji roboczej z układem Intel Xeon X5560 (96 GB). Na rysunku 4.3 zilustrowano przekroje poprzeczne końca bliższego kości udowej (K03) po połączeniu fragmentów z pomiarów mikrotomograficznych.



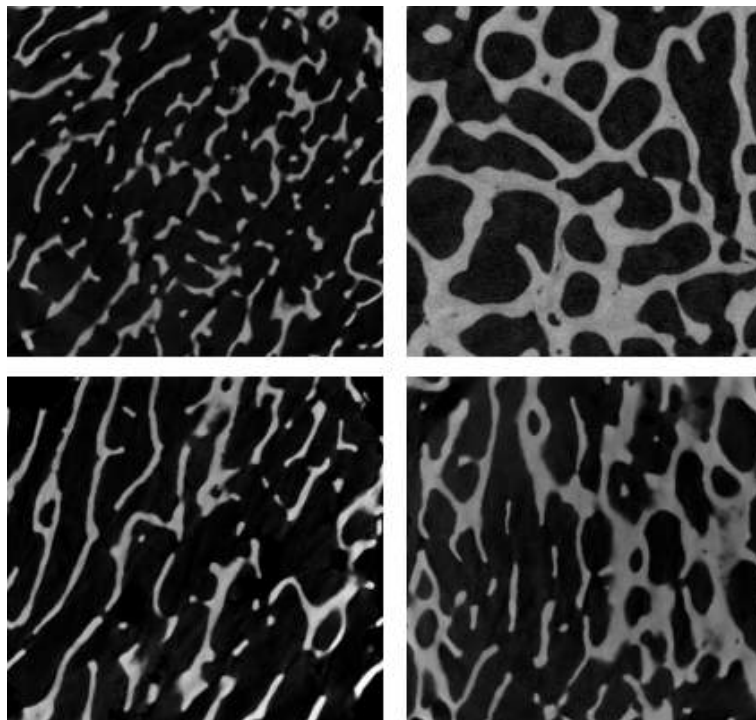
Rysunek 4.3. Przekroje poprzeczne końca bliższego kości udowej (K03) po połączeniu fragmentów z pomiarów mikrotomograficznych. Dane zreskalowane 4-krotnie w rzucie od boku (po lewej) oraz dane w oryginalnej skali pomiaru mikrotomograficznego w rzucie od góry (po prawej).

### 4.2.3. Obszary reprezentatywne próbek kości

Próbki kości gąbczastej zmierzone mikrotomograficznie w skali mezo z wokselem  $6,5 \mu\text{m}$  (opis w rozdziale 3), wymagały docięcia cyfrowego do objętości reprezentatywnych, a także zreskalowania na potrzeby rejestracji oraz dalszych etapów analizy (rozdziały 5 i 6). Jako że rozmiar objętości reprezentatywnej kości gąbczastej powinien obejmować przynajmniej pięć odległości międzybeleczkowych, co odpowiada 3-5 mm [79], zazwyczaj wykorzystuje się sześciennie obszary o boku 5 mm lub dłuższym [67], zarówno z przeznaczeniem do pomiarów mechanicznych uwzględniających anizotropię [42], jak również symulacji komputerowych [155, 156]. W przypadku niniejszego opracowania wykorzystano sześciennie próbki kości gąbczastej o boku zbliżonym do 10 mm. Dokonano weryfikacji rozmiarów próbek zmierzonych mikrotomograficznie oraz reskalowania z efektywną interpolacją (*ImageJ*). Powierzchnia próbki kości gąbczastej po uśrednieniu w objętości przekrojów poprzecznych i binaryzacji pozwalającej na weryfikację jej rozmiarów w trzech kierunkach oraz wybór parametrów docięcia została zilustrowana na rysunku 4.4. Zróznicowane pod względem struktury i orientacji beleczek obszary reprezentatywne próbek kości gąbczastej po cyfrowym docięciu zilustrowano na rysunku 4.5, wraz z informacją o orientacji beleczek w stosunku do orientacji obszaru.



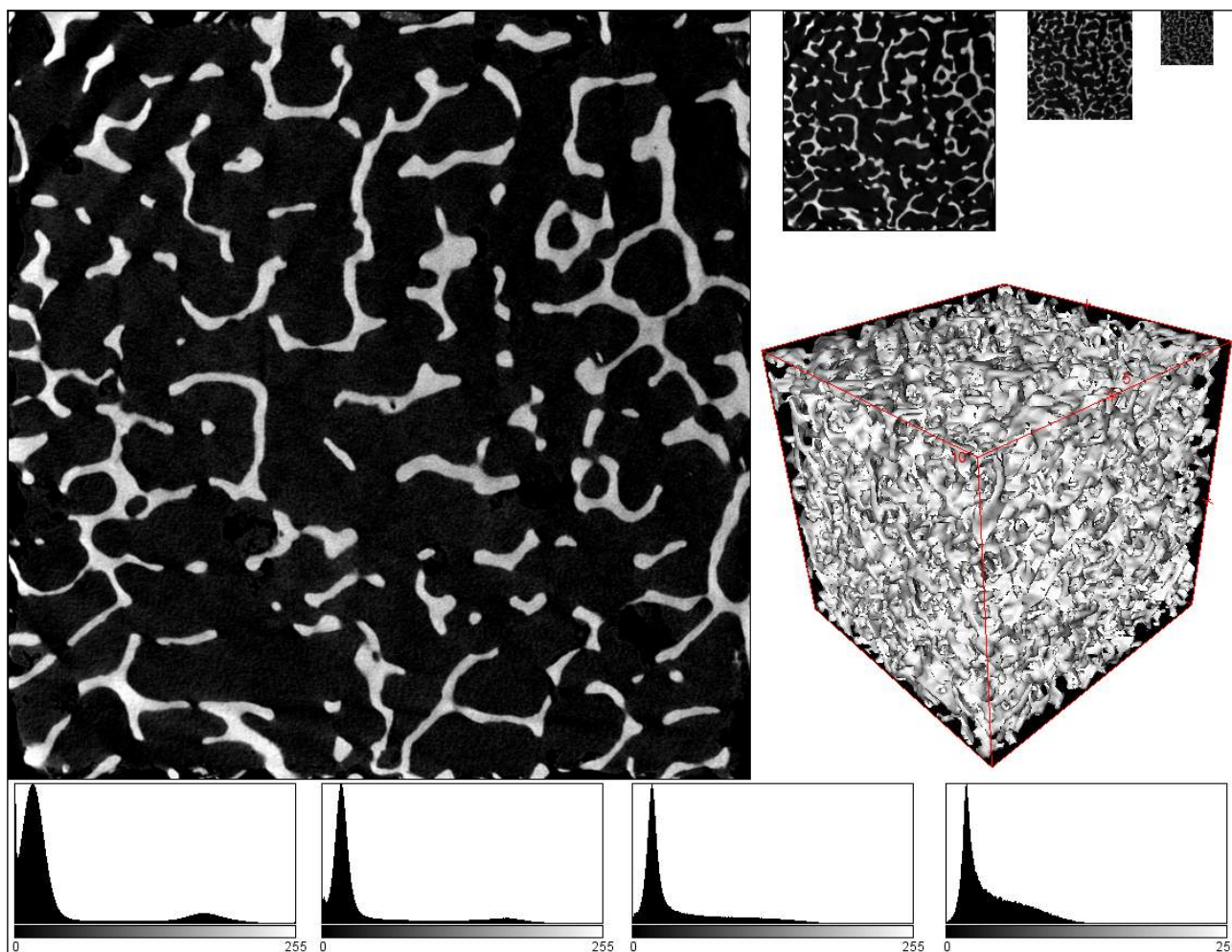
Rysunek 4.4. Uśrednienie w objętości przekrojów poprzecznych (po lewej) oraz powierzchnia ścianki próbki kości gąbczastej zbinaryzowana na podstawie uśrednienia (po prawej), pozwalająca na weryfikację jej rozmiarów w trzech kierunkach i wybór parametrów docięcia.



Rysunek 4.5. Zróżnicowane pod względem struktury obszary reprezentatywne po cyfrowym docięciu: z orientacją beleczek niezgodną (po lewej) oraz zgodną z osiami docięcia (po prawej).

Im więcej przekrojów struktury uzyskuje się w trakcie obrazowania, tym rozdzielczość jest wyższa a opis dokładniejszy. Jest to jednak powiązane z dodatkowym narzutem niezbędnej do operowania na danych pamięci operacyjnej (w trzech wymiarach rosnącej sześciennie wraz ze wzrostem rozmiaru struktury) i czasu. Ważny jest zatem dobór odpowiedniego współczynnika reskalowania struktur. Efekt zreskalowania struktur zmierzonych z wokselem  $6,5 \mu\text{m}$ :

2-krotnego (efektywny woksel  $13\ \mu\text{m}$ ), 7-krotnego (odpowiada pomiarowi kości udowych w skali makro z wokselem  $45,6\ \mu\text{m}$ ), 14-krotnego (2-krotne zreskalowanie pomiarów kości udowych) i 28-krotnego (4-krotne zreskalowanie pomiarów kości udowych), zilustrowano na rysunku 4.6.



Rysunek 4.6. Efekt zreskalowania danych z pomiarów w skali mezo (z wokselem  $6,5\ \mu\text{m}$ ): (na górze od lewej) 2-krotnego, 7-krotnego, 14-krotnego i 28-krotnego, wraz z odpowiadającymi histogramami (na dole) oraz rekonstrukcją 3D dla danych w najniższej uzyskanej rozdzielczości (po prawej).

### 4.3. Efektywna rejestracja danych 3D

Zrekonstruowane po pomiarze mikrotomograficznym dane 3D kości udowych i wypreparowanych próbek kości gąbczastej zostały wykorzystane podczas rejestracji. Zaadaptowano metodę rejestracji danych z techniki pomiarowej SPIM opartą na lokalnych deskryptorach [164]. Poniżej przedstawiono najważniejsze założenia metody, zaś pełny opis znajduje się na stronie z opisem wtyczki z dystrybucji *Fiji*, implementującej opisywaną metodę<sup>4</sup>.

4. Opis rejestracji danych ze SPIM: [http://imagej.net/index.php?title=SPIM\\_Registration\\_Method](http://imagej.net/index.php?title=SPIM_Registration_Method)



### 4.3.1. Założenia rejestracji opartej na deskryptorach

Jedno z pierwszych i najczęściej wykorzystywanych podejść do wykrywania cech charakterystycznych na obrazie bazuje na operatorze Laplace'a (laplasjanie). Z powodu dużej wrażliwości laplasjanu na szum często wykorzystuje się go w powiązaniu z wygładzeniem funkcją Gaussa o określonej wartości jądra  $\sigma$  (w uproszczeniu dla dwóch wymiarów przestrzennych):

$$G_{\sigma}(x, y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}}. \quad (4.1)$$

Tak powstały laplasjan funkcji Gaussa (ang. *Laplacian of Gaussian*, LoG) definiuje się (po opuszczeniu czynnika skalującego  $1/\sqrt{2\pi\sigma^2}$  przy wyznaczaniu pochodnych drugiego rzędu) jako:

$$LoG \triangleq \Delta G_{\sigma}(x, y) = \frac{x^2 + y^2 - 2\sigma^2}{\sigma^4} e^{-(x^2+y^2)/2\sigma^2}. \quad (4.2)$$

Operator LoG może być w praktyce przybliżony z dużą dokładnością z wykorzystaniem różnicy funkcji Gaussa (ang. *Difference of Gaussian*, DoG) z dwoma różnymi wartościami  $\sigma_1$  i  $\sigma_2$ :

$$G_{\sigma_1}(x, y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_1^2}} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma_1^2}}, \quad G_{\sigma_2}(x, y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_2^2}} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma_2^2}}, \quad (4.3)$$

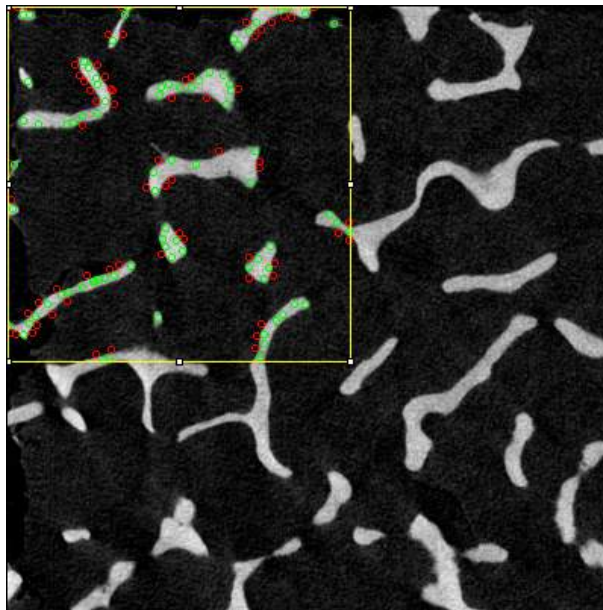
co daje w rezultacie definicję operatora DoG jako:

$$DoG \triangleq G_{\sigma_1} - G_{\sigma_2} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \left( \frac{1}{\sigma_1} e^{-(x^2+y^2)/2\sigma_1^2} - \frac{1}{\sigma_2} e^{-(x^2+y^2)/2\sigma_2^2} \right). \quad (4.4)$$

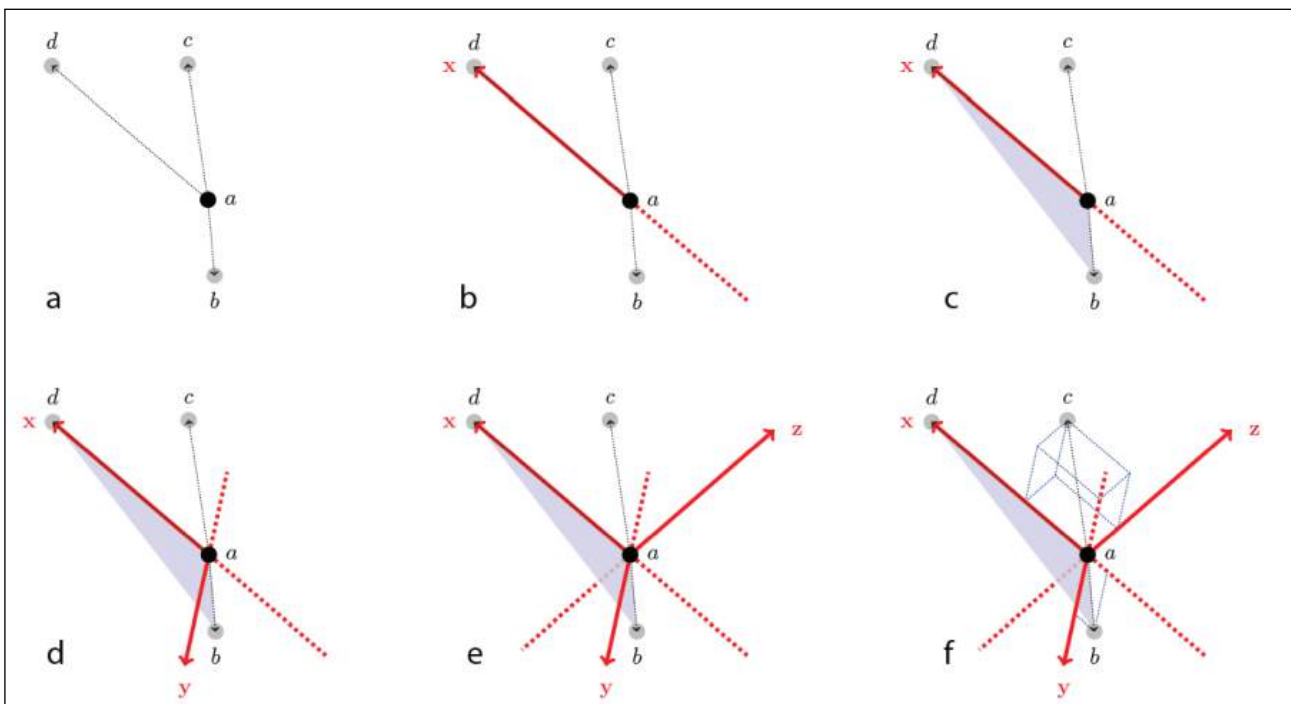
Wykorzystanie operatora DoG w przypadku danego obrazu pozwala na wykrywanie punktów charakterystycznych (ang. *interest point detection*), a także krawędzi, narożników i innych obiektów, odznaczając się efektywnym tłumieniem nawet wysokoczęstotliwościowego szumu. Identyfikacja punktów jest możliwa dzięki wykorzystaniu lokalnych ekstremów (minimów i maksimów) operatora DoG. Na rysunku 4.7 pokazano efekt użycia operatora DoG dla obrazu ze strukturą kości gąbczastej (dobre wartości  $\sigma_1$  i  $\sigma_2$ ) z lokalnymi minimami i maksimami.

Z uwagi na wysoką efektywność i stabilność w kontekście ekstrakcji cech obrazów, podejście to zostało zaimplementowane zarówno w szeroko wykorzystywanym w grafice komputerowej algorytmie skalo-niezmiennego przekształcenia cech (ang. *Scale-Invariant Feature Transform*, SIFT) [118], jak również rejestracji danych ze SPIM [164]. W obu przypadkach lokalny deskryptor jest wektorem cech charakterystycznych dla wykrytego punktu, będąc niezmiennymi względem przekształceń geometrycznych i pozwala na dopasowanie dwóch widoków tego samego obiektu. W oryginalnej implementacji drugiego rozwiązania autorstwa Stephana Preibischa (*ImageJ, Descriptor-based registration*) lokalny deskryptor wykrytego znacznika jest definiowany na bazie lokalizacji jego trzech najbliższych sąsiadów w przestrzeni trójwymiarowej, upo-

rządowanych zgodnie z odległością od znacznika. Definicja lokalnego deskryptora z metody rejestracji danych ze SPIM została zilustrowana graficznie na rysunku 4.8.



Rysunek 4.7. Efekt użycia operatora DoG: wykryte lokalne minima (czerwone znaczniki) i maksima (zielone znaczniki) naniesione na fragment przekroju poprzecznego ze strukturą kości gąbczastej.



Rysunek 4.8. Definicja lokalnego deskryptora z metody rejestracji danych ze SPIM [164]. Deskryptor  $a$  jest opisany przez położenie trzech najbliższych sąsiadów:  $b$ ,  $c$  i  $d$  (a). Lokalna oś  $x$  wyznaczana jest przez wektor z punktu  $a$  do  $d$  (b). Pierwszy oraz trzeci najbliższy sąsiad  $b$  i  $d$  tworzą płaszczyznę (c). Prostopadle do tej płaszczyzny i osi  $x$  biegnie oś  $y$  zorientowana w kierunku  $b$  (d). Oś  $z$  jest prostopadła do osi  $x$  i  $y$ , oraz zorientowana w kierunku  $c$  (e). W oparciu o tak zdefiniowany układ współrzędnych wyznaczone zostają niezmiennie względem rotacji i skalowania wartości opisujące deskryptor (f).

W celu efektywnej identyfikacji najbliższych sąsiadów, wynikowe 6-wymiarowe wektory opisujące lokalny deskryptor są sortowane z użyciem drzewa hierarchicznego, aby zredukować problem do złożoności logarytmicznej. Dopasowanie deskryptorów realizowane jest niezmiennie względem rotacji poprzez mapowanie uporządkowanej chmury punktów z wszystkich obszarów, a wynikiem jest to o najmniejszym błędzie. Jednak zamiast używania jednego systemu odniesienia dla obrazu, definiowany jest indywidualny lokalny system dla każdego deskryptora.

Deskryptor opisany na podstawie jedynie czterech punktów (znacznik wraz z trzema sąsiadami) nie jest wystarczająco unikalny, w szczególności w wyniku rejestracji można otrzymać całkowicie błędne dopasowanie (ang. *false correspondence*). Aby zapobiec takim przypadkom zastosowano algorytm losowego doboru próby (ang. *Random Sample Consensus*, RANSAC) wraz z efektywną regresją globalną na podstawie modelu przekształcenia [48].

#### 4.3.2. Adaptacja funkcjonalności rejestracji

Oryginalna implementacja rejestracji danych ze SPIM daje możliwość wykrycia znaczników, efektywnego znalezienia dopasowania pomiędzy lokalnymi deskryptorami, odrzucenia błędnych dopasowań i nałożenia obrazów na siebie (*ImageJ, Descriptor-based registration*). Wtyczka pozwala w ogólności na rejestrację uwzględniającą deformację obiektów (ang. *affine registration*) w celu znalezienia lepszego dopasowania struktur. Jednak z racji charakterystyki techniki obrazowania w przypadku rejestracji danych z pomiarów mikrotomograficznych zdecydowano się na wykorzystanie opcji zachowania wzajemnego położenia poszczególnych pikseli względem siebie (ang. *rigid registration*).

Aby przeprowadzić rejestrację próbek kości gąbczastej (jako obrazów dopasowywanych) względem kości udowych (jako obrazów referencyjnych) zdecydowano się na modyfikacje wtyczki. Wynikiem działania tak postawionego problemu powinna być w ogólności macierz transformacji, zawierająca informacje o orientacji i miejscu pobrania próbki z kości referencyjnej. W opisywanej metodzie obok macierzy transformacji rezultatem są również dwa parametry opisujące jakość dopasowania: liczba znaczników biorących udział we wzajemnym dopasowaniu lokalnych deskryptorów (im więcej, tym lepiej) oraz uśredniony błąd pomiaru wyrażony w pikselach. W praktyce wysoka wartość błędu wskazuje przeważnie na odnalezienie błędnego dopasowania, a niska na dopasowanie poprawne, dlatego może zostać wykorzystany do oceny rejestracji. Jako, że w oryginalnym podejściu możliwa jest lokalizacja na poziomie subpikselowym (estymowanym przez dopasowanie kwadratowe w lokalnym sąsiedztwie), również uśredniony błąd otrzymany w wyniku rejestracji powinien oscylować w granicach wartości poniżej 1 piksela.

Im wyższa rozdzielczość, tym więcej znaczników zostaje wyznaczonych na obrazie dla tych samych parametrów operatora DoG, co skutkuje większym zapotrzebowaniem na pamięć operacyjną i dłuższym czasem potrzebnym na ich przetworzenie podczas rejestracji. Wychodząc z tych założeń oraz biorąc pod uwagę subpikselową dokładność rejestracji oraz wpływ rozmiaru obrazów wejściowych na szybkość dopasowania danych, zdecydowano się na wykorzystanie danych zreskalowanych. Należy przy tym zauważyć, że tak jak w przypadku połączenia frag-

mentów kości udowych, tak i w tym przypadku, możliwe było wykorzystanie zmodyfikowanej macierzy transformacji (na bazie własności omówionych na początku rozdziału). Wykonana analiza wpływu współczynnika reskalowania i interpolacji na obrazy z pomiarów mikrotomograficznych (ilustracja dla konkretnej próbki na rysunku 4.6), pozwoliła ustalić, że zreskalowane 4-krotnie dane kości udowych i odpowiadające im dane próbek kości gąbczastej zreskalowane 28-krotnie będą odpowiednie do tego celu. Konieczne stało się więc dostosowanie wykorzystywanego rozwiązania, aby możliwe było wykorzystanie wyników otrzymanych dla obrazów zreskalowanych do rejestracji obrazów docelowych.

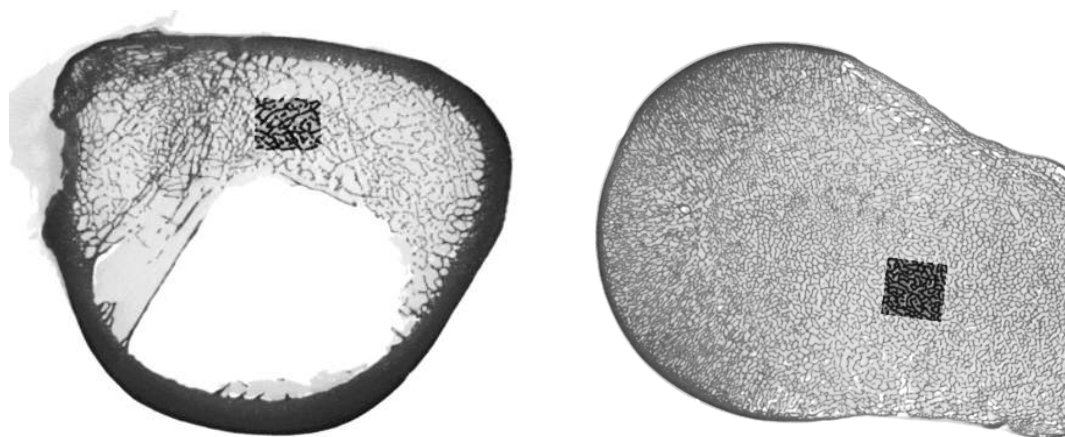
W wyniku rejestracji obrazów wyznaczona zostaje macierz transformacji. Wykorzystując informacje o rotacji i translacji możliwe jest odtworzenie miejsca wypreparowania próbki oraz nałożenie obszarów na siebie w skali kości makroskopowej. Jako że w taki sposób wyznacza się orientację i położenie próbki w referencyjnej kości udowej, aby zestawić dopasowane obszary względem siebie przyjmując za strukturę referencyjną sześcienną próbkę niezbędne było podejście odwrotne. Pierwszym krokiem jest w tym przypadku odwrócenie macierzy przekształceń wyznaczonej podczas procesu rejestracji. Użycie otrzymanej w ten sposób macierzy odwrotnej na obrazie kości udowej pozwala na jego obrót zgodnie z orientacją próbki, zaś przekształcenie obrazu 3D realizowane jest przy użyciu liniowej interpolacji (*ImageJ*, *TransformJ*). Wektor translacji uzyskuje się w następnym kroku poprzez ponowną rejestrację, tym razem z referencyjną próbką kości gąbczastej, otrzymując w wyniku tej operacji poszukiwane składowe translacje macierzy transformacji. Ostatnim krokiem całego procesu jest skadrowanie obrazu na podstawie wymiarów próbki oraz punktu wyznaczającego narożnik obszaru, w efekcie czego otrzymuje się dwie objętości obrazujące ten sam obszar z dwóch różnych pomiarów mikrotomograficznych.

## 4.4. Wyniki

Aby sprawdzić w praktyce zaadaptowane rozwiązanie wykonano szereg testów, w szczególności zoptymalizowano parametry rejestracji na bazie dopasowań wstępnych przy użyciu cyfrowego wycięcia próbek z kości udowych (sztucznie wygenerowanego problemu), a także zbadano wpływ zrównoważenia histogramu na jakość otrzymywanego dopasowania. Dzięki temu możliwa była efektywna rejestracja kości z dwóch różnych skal pomiarowych (mezo i makro).

### 4.4.1. Cyfrowe wycięcie próbek z kości udowych

W celu wstępnego przetestowania metody na bazie sztucznie wygenerowanego problemu, wycięto cyfrowo z obrazów kości udowych sześciennie obszary odpowiadające objętościom reprezentatywnym w celu odnalezienia dopasowania. Metoda sprawdziła się zarówno dla obszarów o wysokiej porowatości, jak również wysokiej frakcji objętościowej. Wyniki rejestracji dla tego typu obszarów z końca bliższego kości udowej zilustrowano na rysunku 4.9.



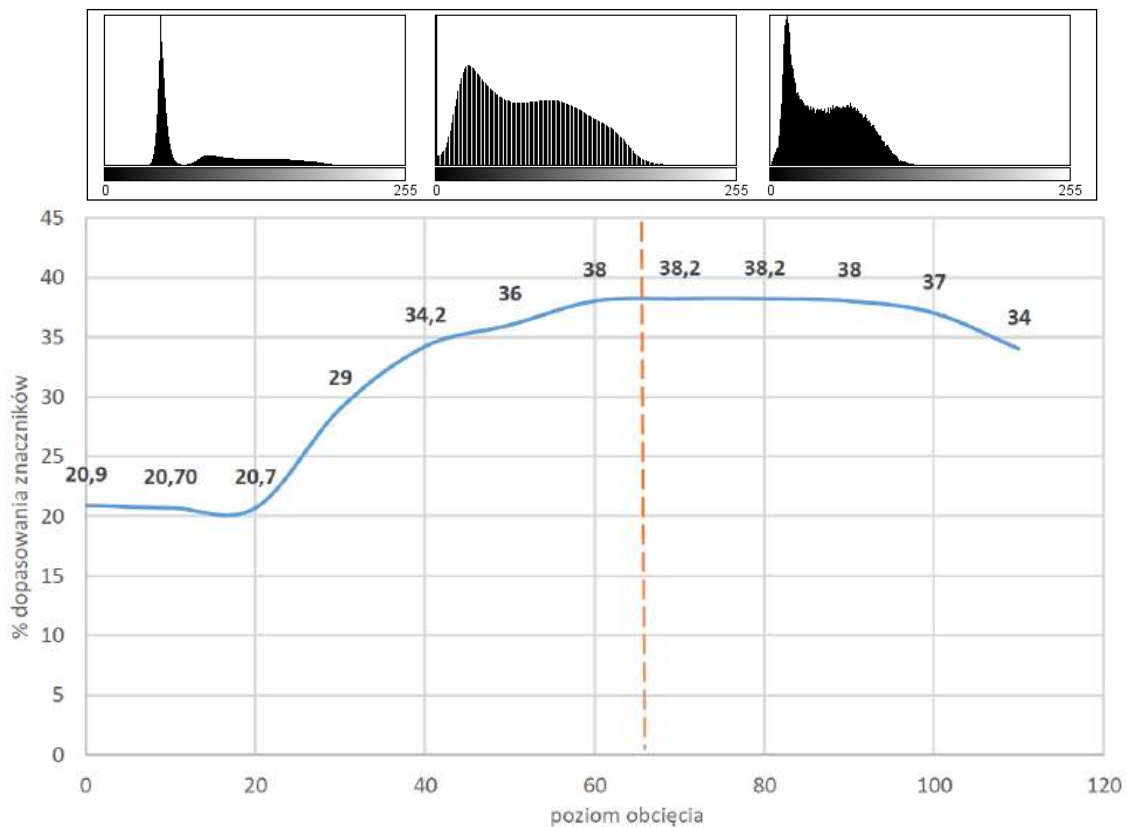
Rysunek 4.9. Zestawienie wyników rejestracji w przypadku cyfrowego wycięcia próbek z końca bliższego kości udowej (sztucznie wygenerowany problem). Dopasowanie dla obszaru blisko części trzonowej o wysokiej porowatości (po lewej) i blisko głowy kości o wysokiej frakcji objętościowej (po prawej).

W trakcie testów zauważono, że głównym czynnikiem decydującym o liczbie lokalizowanych znaczników na obrazie referencyjnym z kością udową oraz sześciennych obszarach oraz jakości wynikowego dopasowania jest zarówno rozmiar, jak i możliwie duża zgodność histogramów rejestrowanych obrazów. Dlatego ze względów wydajnościowych wynikowe stosy przekrojów poprzecznych zreskalowano do niższych rozdzielczości (4-krotnie), dobierając parametry dopasowania tak, aby wykrywana liczba znaczników nie była zbyt niska.

#### 4.4.2. Rejestracja kości z dwóch różnych skal pomiarowych

Na bazie testów wstępnych zdecydowano się na wykorzystanie w docelowej rejestracji z dwóch różnych skal pomiarowych obrazów kości udowych zreskalowanych 4-krotnie i odpowiadających im obrazów próbek kości gąbczastej zreskalowanych 28-krotnie. Aby proces rejestracji uczynić efektywniejszym, zautomatyzowano go (*ImageJ*, makropolecenia pakietu). Przeprowadzając testy rejestracji zauważono, że pary obrazów o zrównoważonych histogramach generują dopasowanie o lepszej jakości – otrzymany zostaje wynik o mniejszym błędzie oraz przy udziale większej ilości znaczników. Mając to na uwadze opracowano algorytm, który na bazie odpowiednio przygotowanej tablicy LUT wyznaczał automatycznie wartość odcięcia dla histogramu obrazu referencyjnego z niższej rozdzielczości, równą minimum funkcji histogramu następującym po globalnym maksimum. Przeprowadzone testy potwierdziły skuteczność obranego podejścia. Na rysunku 4.10 zaprezentowano zależność dopasowanych znaczników (w procentach) od poziomu obcięcia histogramu obrazu referencyjnego oraz histogramami obrazu referencyjnego przed i po optymalnym obcięciu (na wykresie zaznaczono wartość wyznaczoną przez algorytm), zestawionymi z histogramem dopasowywanej próbki. W rezultacie histogram danych z niższej rozdzielczości pomiarowej jest rozciągnięty tak, aby operator DoG efektywniej wykrywał tożsame znaczniki na obu obrazach. Podobne zależności otrzymano dla większości dopasowywanych

próbek, uzyskując w rezultacie rejestrację z mniejszym błędem i większą liczbą dopasowanych znaczników (średnio o kilkanaście procent) w stosunku do oryginalnych danych.



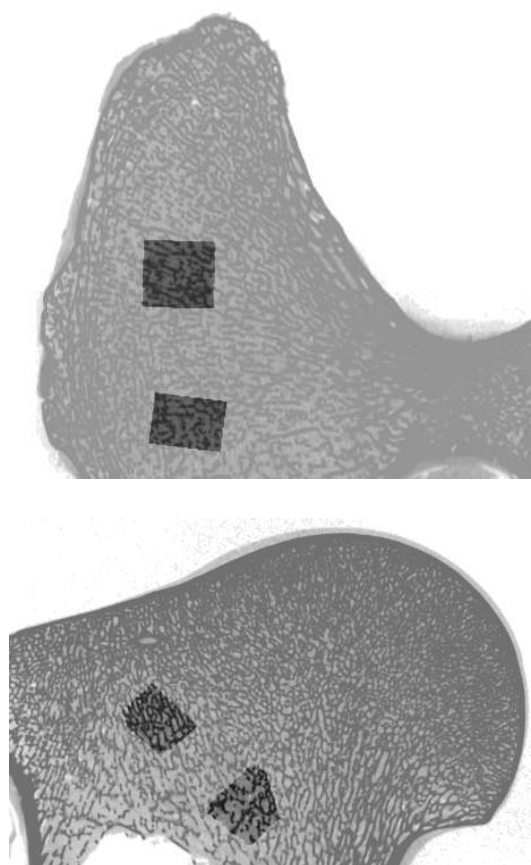
Rysunek 4.10. Histogram obrazu referencyjnego przed i po optymalnym obcięciu, zestawiony wraz z histogramem dopasowywanej próbki (od lewej na górze). Procent dopasowanych znaczników w zależności od poziomu obciążenia histogramu obrazu referencyjnego z wartością wyznaczoną automatycznie przez algorytm zaznaczoną linią przerywaną (na dole).

Proces rejestracji obrazów z użyciem lokalnych deskryptorów zależy od wielu parametrów, przy czym najważniejszym i mającym największy wpływ na wynik dopasowania, w tym liczbę zlokalizowanych znaczników, jest parametr  $\sigma_d$ , na bazie którego wyznacza się wartości jądra Gaussa  $\sigma_1$  i  $\sigma_2$  występujące w definicji operatora DoG (wzór 4.4). Aby w rezultacie rejestracji opartej na lokalnych deskryptorach uzyskać precyzyjną informacji o położeniu i orientacji próbek kości gąbczastej w kościach udowych należało dobrać parametr  $\sigma_d$  do danej próbki, zmieniając wartość domyślną (2,0). Dodatkowo w trakcie testowania metody dla niektórych próbek otrzymywano zbyt małą liczbę dopasowanych znaczników lub błąd większy niż 1 piksel. W tych przypadkach zdecydowano się wykorzystać mniejsze obszary kości referencyjnej wycięte cyfrowo na bazie informacji o rzeczywistej preparatyce, co pozwoliło na skuteczne znalezienie dopasowania o poszukiwanej charakterystyce. W praktyce dobór parametru  $\sigma_d$  sprowadził się do przeszukania wartości z zakresu 2,0-3,0 (*ImageJ*, makropolecenia pakietu), otrzymując rozpiętość wartości 2,118 - 2,940 po dopasowaniu próbek. W każdej zmierzonej kości makroskopowej udało znaleźć się dopasowania wykorzystując opisaną metodologię. Szczegółową analizę przepro-

wadzono dla reprezentatywnych próbek kości gąbczastej wypreparowanych z odrębnych miejsc kości udowych K03 i K07 (po 10 obszarów dla każdej). Wyniki rejestracji wraz z informacją o dobranej wartości  $\sigma_d$ , liczbie dopasowanych znaczników i błędzie dopasowania (w pikselach), zestawiono w tabeli 4.1. Oba parametry opisujące jakość rejestracji, tj. liczba dopasowanych znaczników (im więcej tym wiarygodniejsza rejestracja) oraz średni błąd pomiaru poniżej 1 piksela wskazują na jej efektywne zastosowanie. W praktyce nawet przy dopasowaniu mniej niż 10 % znaczników (próbki K03LB3 i K07LC1) udało się skutecznie zastosować metodę. Wynik nałożenia obrazów wybranych próbek kości gąbczastej na obraz kości K03 z użyciem uzyskanej macierzy transformacji został zilustrowany graficznie na rysunku 4.11.

Tabela 4.1. Wyniki rejestracji dla kości K03 i K07 z informacją o dopasowanych znacznikach i błędzie.

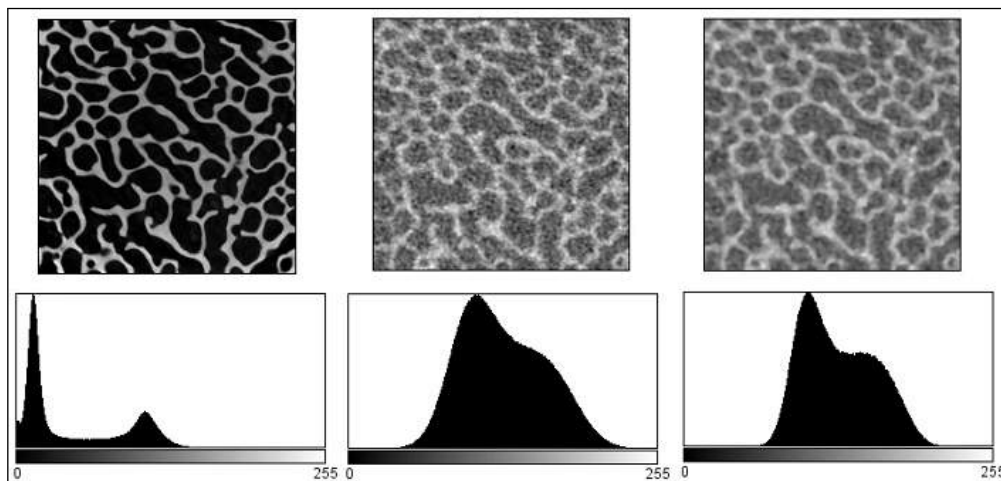
Próbka	$\sigma_d$	Dopasowanie		
		znaczniki		błąd
K03RA1	2,313	40 z 114	(35 %)	0,398
K03RA2	2,372	16 z 67	(23 %)	0,567
K03RB1	2,723	13 z 55	(23 %)	0,489
K03RB2	2,333	38 z 151	(25 %)	0,568
K03LA1	2,700	34 z 93	(36 %)	0,594
K03LA2	2,488	52 z 121	(42 %)	0,530
K03LB1	2,488	38 z 100	(38 %)	0,504
K03LB2	2,488	51 z 148	(34 %)	0,560
K03LB3	2,410	12 z 139	(9 %)	0,362
K03LC	2,313	50 z 164	(30 %)	0,607
K07RA1	2,235	26 z 104	(25 %)	0,458
K07RA2	2,391	18 z 93	(19 %)	0,272
K07RA3	2,235	18 z 133	(13 %)	0,331
K07RB2	2,410	15 z 103	(14 %)	0,381
K07RC1	2,940	17 z 110	(15 %)	0,398
K07RC2	2,196	24 z 143	(16 %)	0,321
K07RD1	2,508	24 z 90	(26 %)	0,501
K07RD2	2,274	33 z 172	(19 %)	0,400
K07LC1	2,703	7 z 71	(9 %)	0,295
K07LF2	2,469	32 z 106	(30 %)	0,467
średnia	2,450		(24 %)	0,450



Rysunek 4.11. Wyniki rejestracji dla kości K03: strona L (na górze) i R (na dole).

Otrzymane dopasowania weryfikowano obracając referencyjne dane kości udowych zgodnie z parametrami macierzy transformacji odwrotnej do uzyskanej i dokonując rejestracji z daną próbką kości gąbczastej jako obrazem referencyjnym (bez zmiany parametrów rejestracji). W rezultacie otrzymywano poszczególne składowe dla rotacji w wynikowych macierzach przekształceń bliskie przekształceniu tożsamościowemu, a dodatkowo uzyskiwano składowe translacji odpowiadające wektorowi przemieszczenia do lewego górnego narożnika obszaru odpowiadającego próbce kości gąbczastej w kości udowej. Parametry translacji po przeskalowaniu zgodnym ze współczynnikiem reskalowania posłużyły do otrzymania obrazu próbki kości gąbczastej z dwóch

różnych skal pomiarowych. Zastosowanie filtru medianowego (wartości środkowej) do obrazów z niższej rozdzielczości pozwoliło na redukcję szumu bez rozmycia informacji o strukturze [203], pozwalając na rozseparowanie maksimów na histogramach. Operacja ta pozwoliła na przeprowadzenie efektywniejszej binaryzacji danych (opis w rozdziale 5). Na rysunku 4.12 zestawiono wynik odwrotnej rejestracji obszarów kości gąbczastej wraz z informacją o histogramach.



Rysunek 4.12. Zestawienie dopasowanych obszarów kości gąbczastej (K03RA) z 2 różnych skal pomiarowych (na górze), wraz z odpowiadającymi histogramami (na dole). Obraz z wyższej rozdzielczości (po lewej) został zreskalowany 7-krotnie. W przypadku obrazu z niższej rozdzielczości (w środku) zastosowano filtr medianowy redukujący szum bez rozmycia informacji o strukturze (po prawej).

## 4.5. Dyskusja

Podjęcie oparte na wykrywaniu znaczników z użyciem filtru DoG i dopasowaniu lokalnych deskryptorów zostało wykorzystane do rejestracji obrazów 3D kości gąbczastej zobrazowanych mikrotomograficznie w dwóch różnych skalach pomiarowych. Aby efektywnie wykorzystać zaadaptowaną metodę, skorygowano histogram danych referencyjnych na bazie automatycznie wyznaczanego poziomu obciążenia, co pozwoliło na polepszenie rejestracji (zmniejszenie błędu dopasowania i zwiększenie liczby dopasowanych znaczników).

Pomimo, że metoda okazała się być bardzo czułą na dobór parametrów rejestracji, udało się uzyskać dopasowania dla wszystkich kości makroskopowych. W niektórych przypadkach konieczne okazało się cyfrowe docięcie obszaru referencyjnego (na bazie informacji o rzeczywistej preparatyce), tak aby dopasować struktury o mniej unikalnych cechach deskryptorów, np. w przypadku obszarów o dużej porowatości. W trakcie szczegółowej analizy przeprowadzonej dla reprezentatywnych próbek kości gąbczastej wypreparowanych z odrębnych miejsc kości udowych K03 i K07 (po 10 obszarów) uzyskano dopasowanie z uśrednionym błędem poniżej 1 piksela. Co ważne otrzymywane wartości błędów dopasowania nie odbiegały od tych uzyskiwanych w testach z wykorzystaniem cyfrowego wycięcia z kości obszarów odpowiadających próbkom kości. Biorąc pod uwagę efektywność metody rejestracji dla próbek pobranych z różnych miejsc

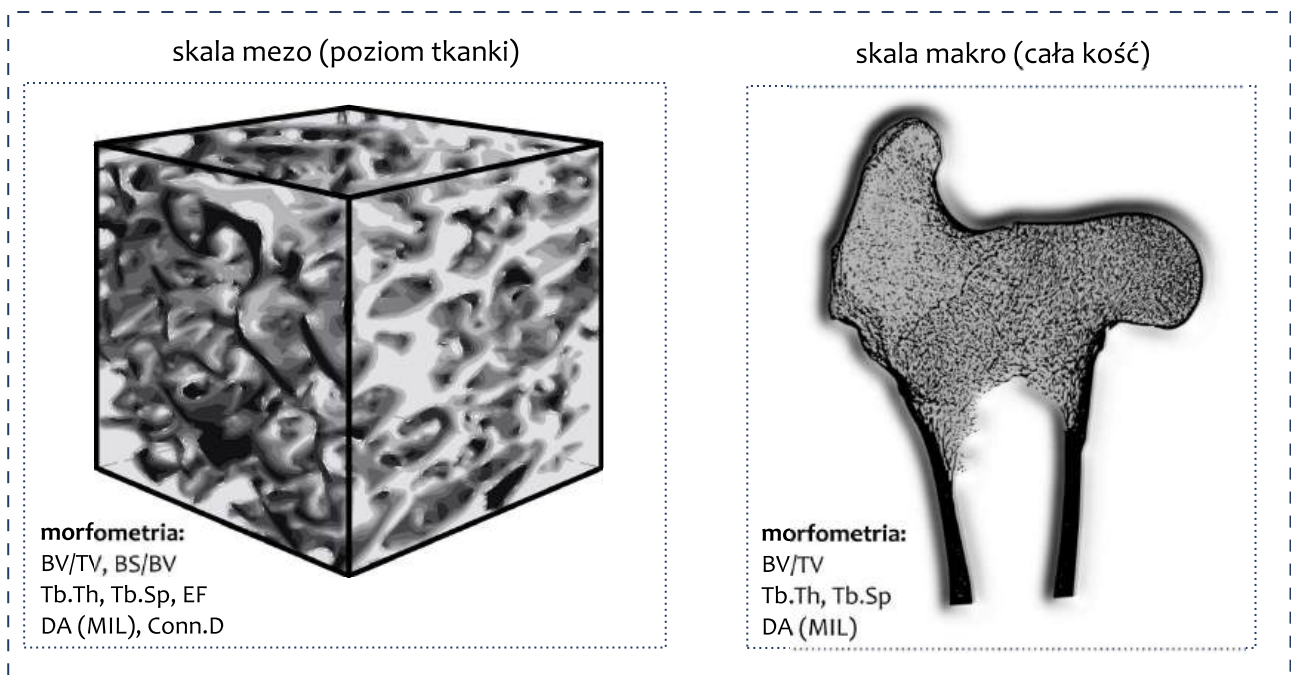


kości udowej, problem niedopasowania z powodu braku odnalezienia odpowiedniej liczby par znaczników lub błędu wskazującego na nieprawidłowe dopasowanie został wyeliminowany.

W ostatnim czasie pokazano, że istnieją inne metody wykrywania punktów charakterystycznych, np. bazujące na operatorze Hessego, które wykazują lepsze właściwości w przypadku dopasowania obrazów z wykorzystaniem lokalnych deskryptorów, niż operator LoG lub jego przybliżenie z użyciem operatora DoG [115]. Dlatego kolejnym krokiem może być przetestowanie wpływu zastosowanego operatora na otrzymywane dopasowanie. Rezultaty badań z tego rozdziału dotyczące zautomatyzowanej rejestracji danych z pomiarów mikrotomograficznych zostały opublikowane w pracy [89]. Otrzymana wysoka dokładność rejestracji umożliwiła analizę na bazie której można było przetestować metody binaryzacji (opis w podrozdziale 5.4.2).



## Przetwarzanie i analiza danych



Rysunek 5.1. Proces przetwarzania i analizy danych: binaryzacja i pomiary morfometryczne kości dla dwóch skal (mezo i makro) oraz zbadanie powiązań statystycznych między uzyskanymi parametrami.

### Najważniejsze zagadnienia rozdziału

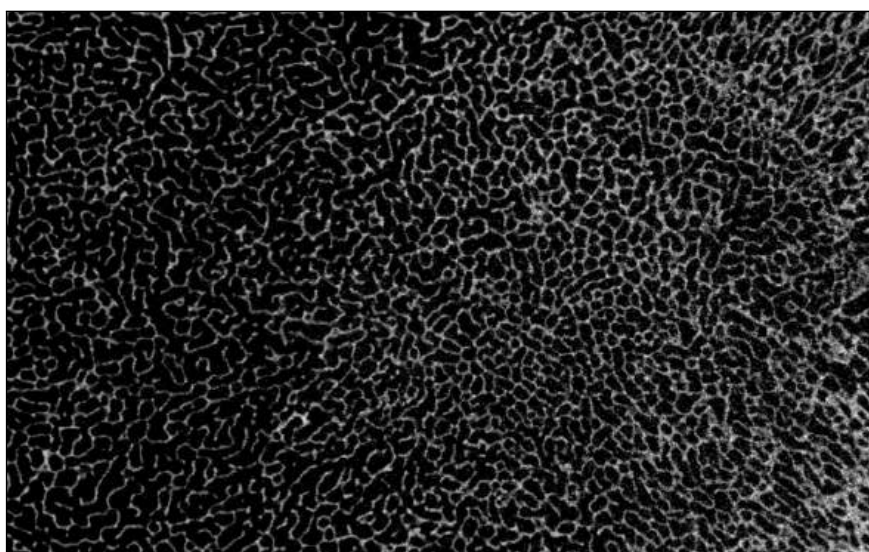
- Binaryzacja próbek z pomiarów w skali mezo z użyciem progowania globalnego.
- Binaryzacja obszarów w niższej rozdzielczości z użyciem progowania lokalnego.
- Wycięcie optymalnej wielkości reprezentatywnych podobszarów próbek kości gąbczastej, zorientowanych zgodnie z głównymi osiami anizotropii.
- Analiza morfometryczna próbek kości gąbczastej w oparciu o wyznaczenie parametrów morfologicznych, topologicznych i teksturowych.
- Analiza statystyczna korelacji pomiędzy parametrami morfometrycznymi.
- Weryfikacja doboru metody i parametrów progowania lokalnego na bazie porównania wyników analizy morfometrycznej z dwóch skal pomiarowych.
- Wizualizacja binaryzacji i analizy morfometrycznej dla ciągłego obszaru kości.

## 5.1. Wstęp

**O**DPOWIEDNIE podejście do modelowania właściwości danego materiału powinno zostać poprzedzone zdobyciem i przetworzeniem informacji o tym obiekcie, w tym danych o sposobie obrazowania. Konieczne jest również określenie celów analizy, w tym specyfikacji wymagań dotyczących dokładności czy szybkości rozwiązania [203]. W przypadku danych z obrazowania 3D podstawowym celem opisu struktury materiału jest najczęściej określenie charakterystycznych elementów jego budowy takich jak kształt czy rozmieszczenie przestrzenne na bazie morfometrii (ang. *morphometry*). Integralność i zróżnicowanie mikrostruktury kości wpływa na jej właściwości mechaniczne, zaś ocena mikrostruktury może być przydatna zarówno w ocenie złamań, jak i zmian patologicznych, w tym wywołanych osteoporozą [3].

Średnią charakterystykę morfometrii beleczek i porów bada się uwzględniając określoną objętość w obrębie analizowanej próbki. W analizie tego typu tkanek odzwierciedla się więc skomplikowaną mikrostrukturę w postaci wartości średnich i odchyłeń. Dlatego też doświadczalne i teoretyczne modele przewidujące właściwości odwołują się do cech mikrostrukturalnych ośrodka uśrednionych w danej objętości i to założenie powinno być silnie akcentowane.

Przez pojęcie „parametry struktury” odnoszące się do kości gąbczastej możemy rozumieć zarówno właściwości mechaniczne, jak i morfometrię beleczek oraz przestrzeni międzybeleczkowej (porów pomiędzy beleczkami). Istnieje wiele metod wykorzystywanych do wyznaczenia parametrów morfometrycznych odnoszących się do morfologii, tekstury czy topologii kości. Pochodzą od tradycyjnych metod opartych na badaniach histologicznych, z czasem ulepszonych przez analizę komputerową, aż do zaawansowanych zastosowań mikrotomografii komputerowej [184]. Wołowe kości udowe wykorzystane w niniejszym opracowaniu odpowiadają zakładanym celom, cechując się dużym zróżnicowaniem w mikrostrukturze, w tym porowatości. Rzeczywiste zróżnicowanie kości gąbczastej z końca bliższego kości udowej (K03) pokazano na rysunku 5.2.



Rysunek 5.2. Zróżnicowanie struktury kości gąbczastej z wołowej kości udowej (K03) ukazujące obszary o wyższej (po lewej) i niższej (po prawej) porowatości i zmieniające się ukierunkowanie beleczek.

Parametry trójwymiarowe były początkowo estymowane na bazie stereologii, czyli matematycznego podejścia pozwalającego na wykorzystanie analizy dwuwymiarowej na pojedynczych przekrojach poprzecznych struktury lub ich serii pochodzących z obrazowania mikroskopowego. W przypadku kości były one wyznaczane najczęściej przy pomocy mikroskopu ze specjalnym okularom lub z wykorzystaniem analizatora obrazu [26]. Przykładowo pomiar obwodu kości mógł posłużyć do wyznaczenia pola powierzchni, a powierzchnia przekroju poprzecznego mogła zostać wykorzystana do estymacji frakcji objętościowej kości.

Głównym źródłem błędów podczas uzyskiwania trójwymiarowych parametrów strukturalnych z dwuwymiarowych pomiarów opartych na przekrojach poprzecznych była pierwotnie konieczność określonych uproszczonych modeli dla badanych struktur. Definicje parametrów początkowo powstawały bazując na uproszczonych podejściach do opisu mikrostruktury kości gąbczastej. W tym miejscu należy przytoczyć dwa podstawowe modele: blaszkowy (ang. *plate-like*) przy założeniu, że opisywana struktura kości gąbczastej składa się jedynie z równoległych płaskich blaszek lub prętowy (ang. *rod-like*) zakładając, że obszar jest wypełniony równoległymi cylindrycznymi prętami [197]. Choć rzeczywista mikrostruktura kości jest odległa od tak wyidealizowanych modeli to w oparciu o klasyczny *model Parfitta* [157] złożony z równoległych blaszek, każdej o powierzchni  $1\text{ mm}^2$  na obszarze sześciangu o wymiarze  $1\text{ mm}$ , zdefiniowane i zunifikowane zostały parametry *histomorfometryczne*:

- grubość beleczek **Tb.Th** (ang. *trabecular thickness*),
- odległość beleczek **Tb.Sp** (ang. *trabecular separation*),
- liczba beleczek **Tb.N** (ang. *trabecular number*).

Wraz z rosnącym zainteresowaniem stereologią i wzrastającymi możliwościami komputerów, zostało opracowanych wiele metod pseudotrójwymiarowych niezależnych od przybliżeń pokroju *modelu Parfitta*. Wreszcie, w momencie uzyskania możliwości pomiaru i rekonstrukcji mikrostruktury na podstawie pomiarów mikrotomograficznych można było wykorzystać trójwymiarowe metody analizy obrazów. Parametry pierwotnie opracowywane na bazie dwuwymiarowych przekrojów, zaczęto wyznaczać w oparciu o metody bazujące na całkowicie trójwymiarowym podejściu. Tym co do badań kości — i do wielu innych dziedzin — wnosi mikrotomografia, jest możliwość aby niedestrukcyjnie i bezpośrednio uzyskać trójwymiarowy obraz skanowanego obiektu. Dzięki ogromnym możliwościom mikrotomografii stosowanym w badaniach mikrostruktury kości, technikę tą zaczęto określać mianem „złotego standardu” [18], a wyrażenie „morfometria” zaczęło wypierać „histomorfometrię”, ponieważ analizy tego rodzaju nie bazują już w praktyce jedynie na badaniach histologicznych. Dodatkowo podstawowe parametry takie jak **Tb.N** zaczęły powoli tracić na znaczeniu, mogąc być wyznaczanym bezpośrednio z dwóch pozostałych **Tb.Th** i **Tb.Sp** na bazie relacji  $\text{Tb.N} = \frac{1}{\text{Tb.Th} + \text{Tb.Sp}}$  [19].

Wśród wszystkich metod przedstawionych w dalszych rozważaniach, które opisują porowatość, wymiary, połączeniowość czy anizotropię, można wskazać pokrewne lub określające podobne właściwości mikrostruktury. Jednakże żadna z tych metod nie jest samowystarczalna

i na bazie żadnej z nich z osobna nie można uzyskać uniwersalnego opisu materiału. Należy jednak dążyć do możliwie całościowego podejścia wybierając kombinacje metod najbardziej miarodajnych. Aby wybrać parametry najlepiej określające dane cechy struktury, istnieje potrzeba poznania metod które zostały zdefiniowane do ich pomiaru, a także określenie korelacji statystycznych aby wykorzystać parametry niezależne. Z racji opracowywania nowych parametrów morfometrycznych, ich zbiorczych klasyfikacji dokonuje się co jakiś czas [9, 110, 27]. Obok całościowych opisów, powstają również opracowania dedykowane konkretnym grupom, tak jak w przypadku obszernego przeglądu metod do oceny anizotropii opartych na analizie struktury kości [128]. Należy podkreślić, że zarówno wyniki pomiarów mikrostruktury jak i wytrzymałości materiałów nie powinny być wyznaczane dla objętości mniejszych od reprezentatywnych. Dla kości gąbczastej przyjęło się, że rozmiary nie powinny być mniejsze od 3–5 mm, gdyż dla mniejszych próbek otrzymuje się wartości silnie uzależnione od lokalnych cech struktury [67].

## 5.2. Przygotowanie do analizy

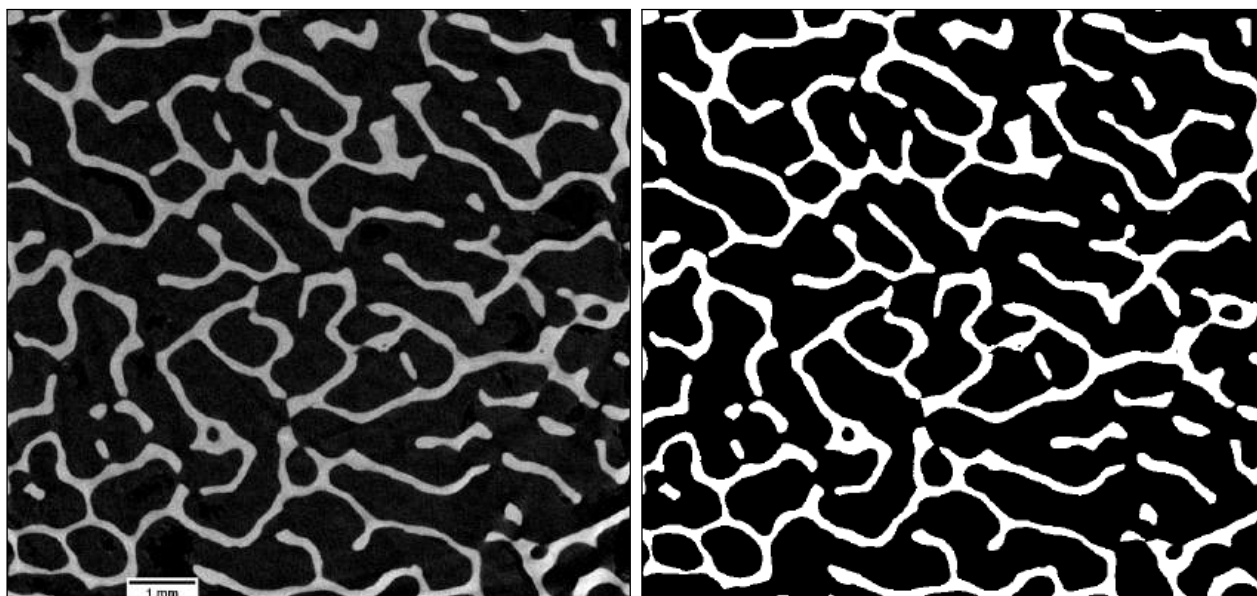
Głównym celem przetwarzania i analizy danych jest efektywne wykorzystanie informacji o morfometrii struktury, w tym frakcji objętościowej i głównych osiach anizotropii, a na bazie tego właściwej orientacji analizowanych obszarów na potrzeby schematów symulacji do wyznaczenia właściwości mechanicznych. W praktyce tylko analiza trójwymiarowa pozwala na rzeczywistą ocenę objętościowego rozkładu cech analizowanej mikrostruktury. Dzięki rozbudowanemu zakresowi takiej analizy można otrzymać precyzyjne informacje o rozmiarach, kształtach i położeniu w badanym obiekcie [203]. Analizę mikrostruktury kości rozpoczyna się w większości przypadków od reprezentacji wokselowej (trójwymiarowych pikseli) po uzyskaniu przekrojów poprzecznych w trakcie rekonstrukcji pomiarów z mirotomografii. Dane trójwymiarowe uzyskane z użyciem  $\mu$ CT są reprezentowane w postaci serii dwuwymiarowych obrazów w skali szarości, gdzie kolor każdego piksela zapisywany jest najczęściej na 8–16 bitach, w zależności od posiadanego detektora i ustawień urządzenia. Liczba możliwych odcieni zależy bezpośrednio od liczby bitów co daje w rezultacie 256–65536 wartości. W praktyce jednak z uwagi na ograniczenia detektora nie jest wykorzystywany cały dostępny zakres wartości. Dla reprezentacji 16-bitowej realny zakres to 10–12 bitów.

Choć gęstość tkanki kostnej może być wyznaczona bezpośrednio na podstawie obrazów w skali szarości, to do analizy innych parametrów opisujących mikrostrukturę standardowo wymagane jest wykorzystanie obrazów binarnych, czyli przekrojów poddanych procesowi binaryzacji (ang. *binarization*), w których tło zostało oddzielone od właściwego obiektu na pierwszym planie — układu beleczek kostnych. Niektóre metody wymagają dodatkowo usunięcia rozłącznych fragmentów właściwego obiektu na pierwszym planie, tak aby możliwa była spójna analiza. Metody wyznaczające parametry mikrostruktury na podstawie obrazów w skali szarości są co prawda definiowane, szczególnie w przypadku analizy anizotropii dla danych z wysokorozdzielczych urządzeń do pomiarów *in vivo* (CBCT, HR-pQCT). Ale uniwersalne i wiarygodne

użycie w praktyce takich metod jest nadal utrudnione [187, 186]. Stąd aby określić właściwości mikrostruktury kości, niezbędna jest efektywna identyfikacja struktury kostnej na obrazie. W przypadku przejścia z oryginalnej reprezentacji w skali szarości do obrazu binarnego, zwykle przyjmuje się wartość 0 dla czarnego i 1 dla białego woksela. Wartości te w zależności od rzeczywistej liczby bitów, przyjmują odpowiednio minimalną i maksymalną wartość w danej reprezentacji.

### 5.2.1. Progowanie globalne

Najprostsza metoda binaryzacji struktury kostnej oparta jest na wyborze wartości globalnej dla progu (ang. *threshold*) i w przypadku struktury 8-bitowej przypisaniu wartości 255 wszystkim pikselom o jasności równej bądź większej od ustalonego progu, a pozostałym wartości 0. W przypadku gdy struktura kości została zobrazowana z wystarczająco wysoką rozdzielczością, na histogramie ilustrującym zliczenia występowania wokseli o określonej intensywności można wyróżnić dwa rozdzielone maksima, odpowiadające mikrostrukturze kości i porom. Takie założenie jest charakterystyczne dla histogramu dwumodalnego, gdzie elementy tła wchodzą w skład jednej składowej, a pierwszego planu w skład drugiej. W tym przypadku wyboru progu globalnego można dokonać na podstawie wartości odpowiadającej minimum histogramu pomiędzy dwoma modami [203]. Na rysunku 5.3 zaprezentowano przetwarzania obrazów z mikrotomografii na przykładzie binaryzacji wysokorozdzielczej struktury beleczkowej kości gąbczastej z użyciem progowania globalnego oraz usunięcia jej rozłącznych fragmentów.



Rysunek 5.3. Ilustracja przetwarzania obrazów z mikrotomografii na przykładzie binaryzacji struktury beleczkowej kości gąbczastej oraz usunięcia jej rozłącznych fragmentów. Interesujący fragment usytuowany w lewym dolnym rogu obszaru (uwidoczniony jeden z przekrojów poprzecznych).

Istnieje wiele technik i efektywnych implementacji metod, które mają na celu dobór odpowiedniej wartości progu w podejściu globalnym (*ImageJ*, wtyczka *Threshold*), w tym te

dzięki którym jest on wybierany automatycznie [165, 149]. Metoda Otsu bazuje na histogramie i wyznacza próg sprawdzając wszystkie możliwe podziały, uzyskując ten który minimalizuje wariancję wewnątrz dwóch klas [149]. Jeśli wariancje intensywności struktury i tła są duże w porównaniu do średniej różnicy, lub obrazy są zakłócone przez występowanie silnego szumu, metoda nie może zafunkcjonować optymalnie. Alternatywnie wyróżnia się skuteczne metody iteracyjne, takie jak metoda Riedlera [165], jednak w przypadku mikrostruktury kości gąbczastej wykorzystuje się je jedynie dla wystarczająco precyzyjnych pomiarów mikrotomograficznych i generalnie większość metod automatycznych pozwala na wyznaczenie poprawnej wartości progu w takich zastosowaniach. Globalne techniki pozwalają na optymalne wyznaczenie progu pod warunkiem, że mody są jednoznacznie odseparowane (z odstępem pomiędzy dwoma maksimumami), a zaszumienie obrazu jest niewielkie. Kiedy analizujemy histogram odpowiadający stosunkowo małemu obszarowi, występuje w nim wiele lokalnych minimów i maksimumów. W takim przypadku przed wyznaczeniem progu wygładza się histogram stosując filtrację obrazu jedną z dostępnych metod (np. filtr medianowy).

Z kolei gdy struktura kostna zostaje zobrazowana tomograficznie w niższej rozdzielczości, szczególnie w pomiarach o wysokim zaszumieniu które charakteryzuje wyniki obrazowania *in vivo*, maksima intensywności w histogramie zaczynają nakładać się na siebie, co utrudnia skuteczne wyznaczenie pojedynczej globalnej wartości progu dla wszystkich wokseli. W tej sytuacji wykorzystuje się częściej metody progowania lokalnego, wyznaczając wartości progu dla określonego otoczenia (najczęściej sferycznego lub sześciennego) każdego kolejnego woksela, w kontraście do jednej globalnej wartości [132, 98]. Na rysunku 5.4 zaprezentowano zestawienie obrazów po procesie rejestracji oraz odpowiadających im histogramów dla danych z wysokiej i niskiej rozdzielczości danego obszaru kości gąbczastej. Obrazowo zestawia się również efekty zastosowania różnych metod progowania globalnego i lokalnego dla określonych danych (*ImageJ*, wtyczki *AutoThreshold*, *AutoLocalThreshold*).

### 5.2.2. Progowanie lokalne

Wykorzystanie metod progowania lokalnego w sposób automatyczny jest tym efektywniejsze, im lepiej dobrane do zastosowania będą parametry danej metody. W praktyce wykorzystuje się wyznaczenie określonych wartości (np. mediana), które są później wykorzystane do lokalnego wyznaczenia progu dla danego woksela w dobranym do danych rozmiarze otoczenia (sferycznego lub sześciennego). Z powodu wysokiej skuteczności w przypadku wstępnych testów na rzeczywistych danych mikrotomograficznych, do dalszego opracowania wybrano rodzinę metod progowania lokalnego wywodzących się od podstawowej metody bazującej na średniej wartości jasności. Na rysunkach 5.4 i 5.5 zestawiono wynik progowania lokalnego struktury kostnej dla danych niskorozdzielczych z wynikiem progowania globalnego danych z wysokiej rozdzielczości.

Metoda Niblacka polega na zróżnicowaniu wartości progu w obrębie obrazu, bazując na lokalnej średniej  $m(x, y, z)$  i lokalnym odchyleniu standardowym  $s(x, y, z)$ , wyznaczanym w nie-



wielkim sąsiedztwie każdego woksela [139]. Próg  $T(x, y, z)$  dla woksela jest wyznaczany jako:

$$T(x, y, z) = m(x, y, z) + k \cdot s(x, y, z) - c, \quad (5.1)$$

gdzie  $k$  jest parametrem definiowanym przez użytkownika (oryginalny autor przyjmuje wartości  $-0,2$  dla ciemnych i  $0,2$  dla jasnych obiektów), a  $c$  stanowi opcjonalne przesunięcie. Metoda ta stanowi więc proste rozszerzenie metody bazującej tylko na lokalnej średniej:

$$T(x, y, z) = m(x, y, z) - c. \quad (5.2)$$

Metoda ta nie sprawdza się dobrze w przypadkach, dla których tło zawiera jasną teksturę, ponieważ wartości w skali szarości dla niechcianych szczegółów przekraczają wartości progu.

W modyfikacji wyżej zdefiniowane metody zaproponowanej w pracy Sauvoli i Pietikäine-na, próg jest wyznaczany ze zmiennego zakresu odchylenia standardowego  $s(x, y, z)$ . Co więcej, lokalna wartość średniej jest przemnożona przez parametr zakresu  $r$  i ustalony parametr  $k$  podobnie jak w metodzie Niblacka. Skutkuje to wzmacnianiem wkładu odchylenia standardowego  $s(x, y, z)$  w postępujący sposób [172], a próg  $T(x, y, z)$  dla woksela jest wyznaczany jako:

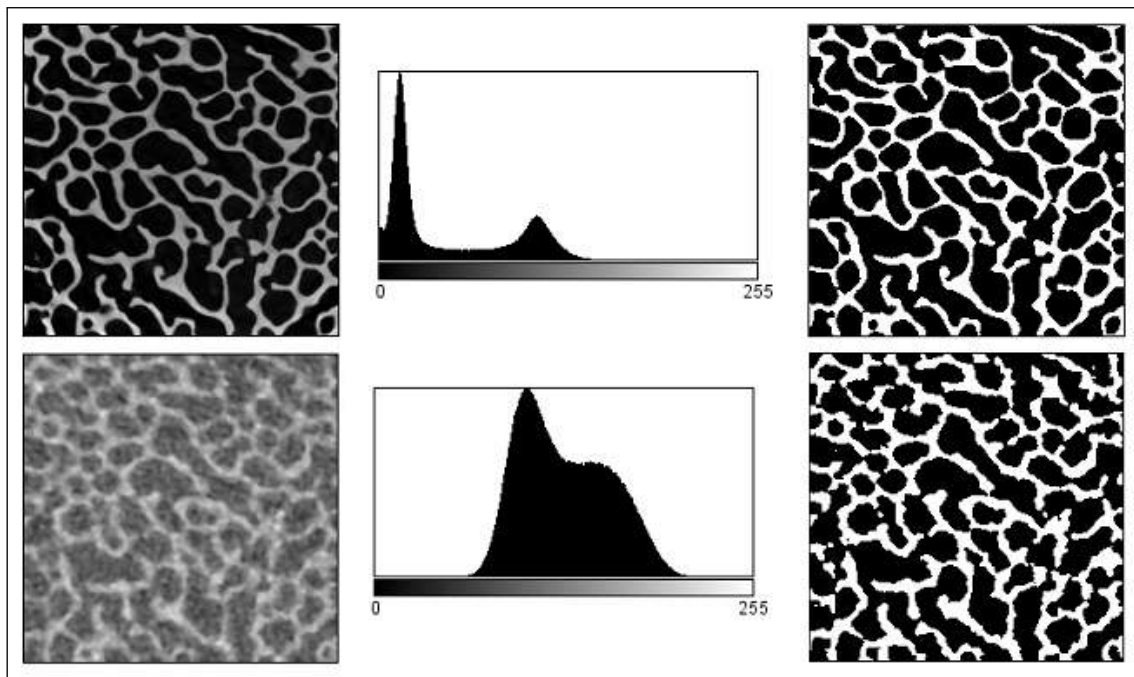
$$T(x, y, z) = m(x, y, z) \left[ 1 + k \left( \frac{s(x, y, z)}{r} - 1 \right) \right], \quad (5.3)$$

gdzie  $r = 128$ , czy też w przypadku po normalizacji  $r = 0,5$  oraz  $k$  przyjmuje się z zakresu  $[0,2 ; 0,5]$ . Tym samym  $m$  i  $s$  adaptują wartość lokalnego progu w zależności od kontrastu w otoczeniu woksela. W przypadku dużego kontrastu  $s(x, y, z) \sim r$ , więc  $T(x, y, z) \sim m(x, y, z)$ . Z kolei w przypadku niskiego kontrastu w lokalnym otoczeniu, wartość progu spada poniżej wartości średniej, dzięki czemu udaje się odseparować ciemne obszary otoczenia. Jednakże, metoda nie sprawdza się w przypadku obszarów jasnych o niskim kontraście (niska porowatość), np. w przypadku kości gąbczastej w kręgach lub porach w kości zbitej.

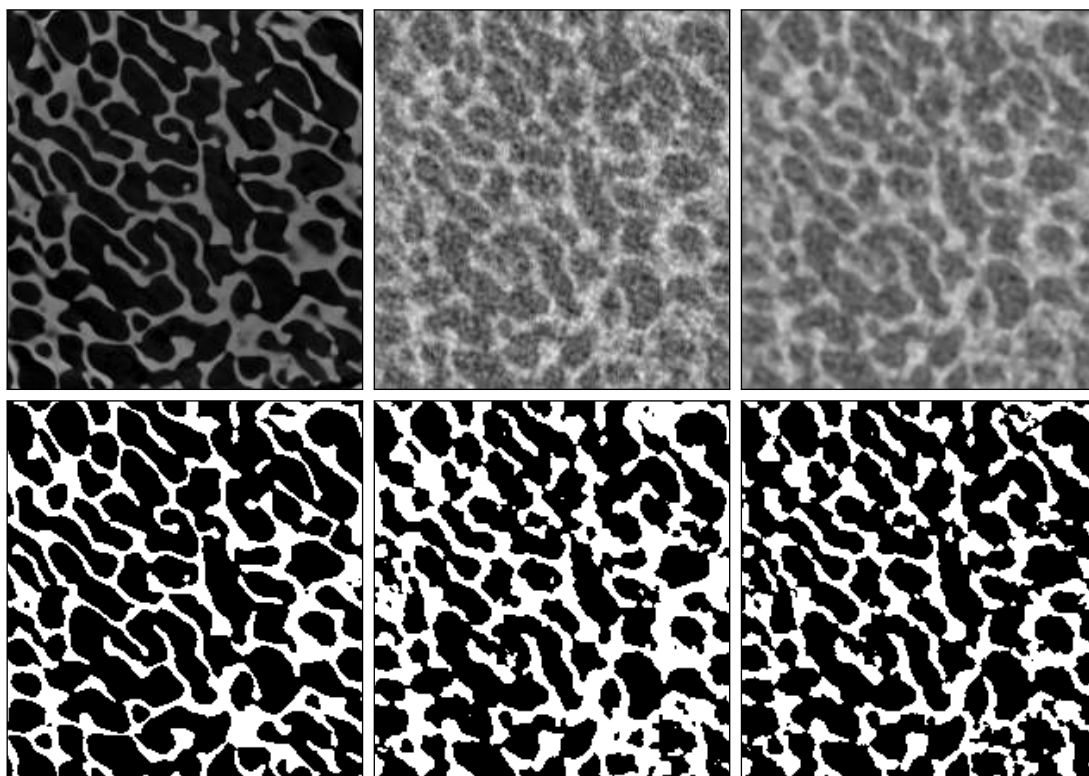
W pracy Phansalkara i współpracowników wprowadzono dodatkowy czynnik do metody z pracy Sauvoli i Pietikäine-na odpowiedzialny za zmniejszenie wartości progu, na podstawie reguły zanikania [159]. W metodzie Phansalkara próg  $T(x, y, z)$  dla każdego woksela jest wyznaczany jako:

$$T(x, y, z) = m(x, y, z) \left[ 1 + p \cdot e^{-q \cdot m(x, y, z)} + k \left( \frac{s(x, y, z)}{r} - 1 \right) \right], \quad (5.4)$$

z rekomendowanymi przez autora wartościami  $k = 0,25$  i  $r = 0,5$  dla przypadku po normalizacji oraz dodatkowymi parametrami  $p$  i  $q$ , które w oryginalnej implementacji przyjmują wartości odpowiednio 2 i 10. W oryginalnej metodzie wykorzystano prostopadłocienne okno dla sąsiedztwa, choć w przypadku jej implementacji wykorzystuje się często okno sferyczne.



Rysunek 5.4. Zestawienie wysokorozdzielczego i niskorozdzielczego obrazu mikrostruktury kości (K03RA2) uzyskane na podstawie rejestracji, przed (na górze) i po binaryzacji (na dole), z odniesieniem do postaci odpowiadających im histogramów (w środku).



Rysunek 5.5. Efekt progowania globalnego i lokalnego dla struktury kostnej (K03RA1). Na górze, od lewej: wysokorozdzielczy obraz w skali szarości, obraz w niższej rozdzielczości, wynik użycia filtra medianowego dla obrazu niskorozdzielczego. Na dole, od lewej: binaryzacja wysokorozdzielczego obrazu z progowaniem globalnym, binaryzacja niskorozdzielczego obrazu po użyciu filtra medianowego z użyciem dobrego automatycznie progów globalnego oraz progowania lokalnego metodą Niblacka.

### 5.2.3. Usunięcie rozłącznych fragmentów

W przypadku analizy morfometrycznej kości gąbczastej wiele metod opiera się na założeniu o jednej strukturze głównej, co oznacza, że wszystkie woksele struktury nierozłącznie do niej należą. Dla rzeczywistych próbek po cyfrowym docięciu skanu mikrotomograficznego i przeprowadzeniu binaryzacji pojawiają się rozłączne fragmenty. Dzieje się tak zarówno w przypadku danych z wysokiej, jak i niskiej rozdzielczości. Rozłączne fragmenty mogą być generowane również jako efekt działania danej metody binaryzacji, zwłaszcza w przypadku danych z niskiej. Można je usunąć wykorzystując podejście znajdujące wszystkie nierozłączne zbiory wokseli i wskazując największy z nich, tym samym wyseparowując z obrazu największy obszar ciągły [145]. Metoda jest często używana również w sekwencji pomiędzy przekształceniami morfologicznymi: *erozją* i *dylatacją*. Przygotowanie (oczyszczenie) struktury jest szczególnie istotne w kontekście analizy topologii, w tym połączeniowości struktury, ale ma również znaczenie w przypadku określenia poprawnych warunków brzegowych w symulacji właściwości mechanicznych struktury.

## 5.3. Analiza morfometryczna

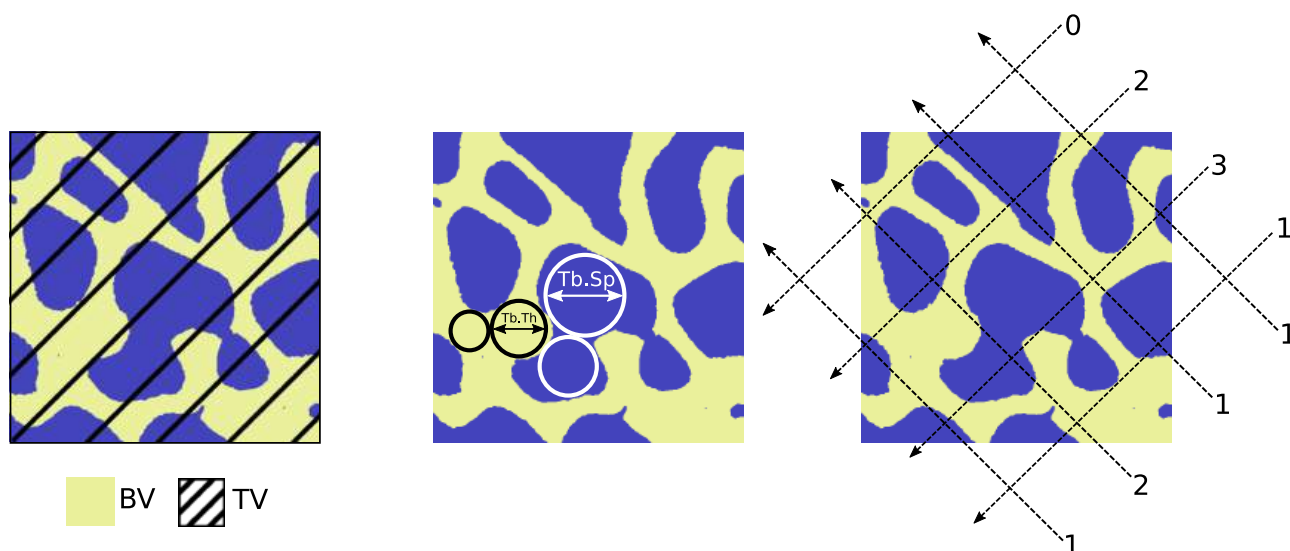
Uzyskanie obrazów 3D na podstawie pomiarów tomograficznych w dwóch różnych rozdzielczościach dla tego samego obszaru, odpowiadających skali mezo i makro, może pozwolić na zestawienie wyników analizy morfometrycznej. Możliwe jest to zarówno dla analizy na podstawie danych w skali szarości jak i po binaryzacji. W niniejszym opracowaniu zdecydowano się wykorzystać podejście z binaryzacją oraz założenie, że wartości parametrów morfometrycznych wyznaczone dla danych z wyższej rozdzielczości można potraktować jako referencyjne. Podejście to pozwala na zestawienie i wybór odpowiedniej metody progowania lokalnego danych z niższej rozdzielczości. W omawianym ujęciu wyniki analizy morfometrycznej wykonanej dla danych mikrotomograficznych są więc wykorzystywane zarówno na potrzeby ewaluacji metod binaryzacji, jak i w dalszych rozważaniach do wykonania zaplanowanego cyklu symulacji i modelowania.

W przypadku analizy danych z takich pomiarów, morfometrię kości określa się z użyciem zestawu czy też grupy parametrów, najlepiej niezależnych, które oprócz standardowego opisu morfologii będą określały również inne cechy struktury, takie jak połączeniowość czy anizotropię. Warto raz jeszcze podkreślić, że wskazywane metody nie są uniwersalne i żadna z nich nie jest samowystarczająca do zapewnienia unikalnego parametru w pełni opisującego wszystkie właściwości mikrostruktury, stąd potrzeba wyboru kilku najbardziej istotnych. Pod uwagę bierze się te cechy, które mają praktyczne znaczenie, przy równoczesnym pominięciu nieistotnych szczegółów. Dotychczasowe opracowania wskazują że istnieje potrzeba jednoczesnego wykorzystania wyników kilku różnych metod aby scharakteryzować układ beleczek kostnych, ponieważ żadna z metod nie opisuje dokładnie tych samych elementów mikrostruktury. Na przestrzeni lat ugruntowały się określone zestawy parametrów, które wykazuje się jako najbardziej użyteczne w pomiarach i opisie struktur [40]. W tabeli 5.1 sklasyfikowano najważniejsze parametry morfometryczne i wartości pomocnicze.

Tabela 5.1. Klasyfikacja parametrów wykorzystywanych w trakcie analizy morfometrycznej.

Symbol	Rozwinięcie (ang.)	Znaczenie
BS	<i>bone surface</i>	zrekonstruowana powierzchnia kości [ $\text{mm}^2$ ]
BS/BV	<i>specific bone surface</i>	powierzchnia na objętość kości [ $\text{mm}^2/\text{mm}^3$ ]
BS/TV	<i>bone surface density</i>	powierzchnia na objętość całego obszaru [ $\text{mm}^2/\text{mm}^3$ ]
BV	<i>bone volume</i>	obszar zajmowany przez kość
BV/TV	<i>bone volume fraction</i>	udział objętościowy kości [%]
Conn.D	<i>connectivity density</i>	gęstość połączeń [ $1/\text{mm}^3$ ]
DA	<i>degree of anisotropy</i>	stopień anizotropii [0, 1]
EF	<i>ellipsoid factor</i>	współczynnik typu struktury [-1, 1]
SMI	<i>structure model index</i>	współczynnik typu struktury $(-\infty, 4]$
Tb.N	<i>trabecular number</i>	liczba beleczek [ $1/\text{mm}$ ]
Tb.Sp	<i>trabecular separation</i>	średnia odległość beleczek [mm]
Tb.Th	<i>trabecular thickness</i>	średnia grubość beleczek [mm]
TV	<i>total volume</i>	objętość całego obszaru zainteresowania

Wybrane metody analizy morfometrycznej istotne zarówno dla danych w skali mezo, jak i makro zostały zilustrowane na rysunku 5.6.



Rysunek 5.6. Dwuwymiarowa ilustracja graficzna pomiarów wybranych parametrów morfometrycznych. W niniejszym opracowaniu wykorzystano trójwymiarowe uogólnienia metod służących do wyznaczenia przedstawianych parametrów. Frakcja objętościowa (BV/TV) jest wyznaczana jako stosunek liczby wokseli sklasyfikowanych jako beleczki kostne przez liczbę wszystkich wokseli w objętości (po lewej). Rozmiary beleczek i porów są określane na podstawie średniej grubości beleczek (Tb.Th) i odległości pomiędzy beleczkami (Tb.Sp) na podstawie lokalnych pomiarów średnic (w środku). Stopień anizotropii (DA) wyznaczany dla struktury na podstawie uśrednionej we wszystkich kierunkach długości przecięć beleczek z porami (po prawej) - zanotowano liczbę przecięć dla każdego wektora.

W niniejszym opracowaniu wskazano i scharakteryzowano najczęściej wykorzystywane parametry morfometryczne w każdej z trzech grup: morfologicznych, topologicznych i teksturowych, adaptując taki podział z pracy [20] oraz definicje poszczególnych parametrów z prac [40, 169]. Posłużono się przy tym opisową systematyką nadając odpowiednie nazwy paragrafom odnoszącym się do danej podgrupy parametrów:

- **morfologiczne:** frakcja objętościowa, rozmiary bełeczek i porów, powierzchnia
- **topologiczne:** gęstość połączeń, kształt geometrii
- **teksturowe:** stopień anizotropii

W 2010 roku, program *ImageJ* (opisany w podrozdziale 4.2) został wzbogacony o możliwość wnikliwej analizy struktur kostnych, w tym mikrostruktury kości gąbczastej (*ImageJ*, wtyczka *BoneJ*<sup>1</sup>) na podstawie prac Michaela Doube'a i współpracowników [40]. Zaadaptowali oni parametry zdefiniowane na przestrzeni lat przez społeczność skupioną wokół badań kości, czerpiąc z metod bazowych i ustandaryzowanej nomenklatury. Głównym celem było użycie metod niezależnych od wyidealizowanych modeli tam gdzie to możliwe, tym samym zapewnienie powtarzalności i porównywalności wyników pomiędzy różnymi zespołami badawczymi. Dla kości gąbczastej zaimplementowano wyłącznie trójwymiarowe metody, nie wykorzystując w algorytmach obliczeniowych modeli uproszczonych. W niektórych przypadkach umożliwiono dokonanie wyboru pomiędzy wykorzystaniem reprezentacji *wokselowej* lub opartej o rekonstrukcję w postaci siatki wielokątów. Dzięki przeglądarce obiektów trójwymiarowych (*ImageJ*, wtyczka *3D Viewer*), dane można zwizualizować, również po rekonstrukcji powierzchniowej z przekrojów poprzecznych. W przypadku niniejszego opracowania zautomatyzowano proces obliczeń uruchamiając przygotowane makra dla wielu zestawów danych. W celu analizy mikrostruktury skorzystano z możliwości wywołania programu *ImageJ* z linii poleceń w trybie cichym bez zbędnego narzutu czasowego spowodowanego ręczną obsługą procedur. Dzięki temu uzyskano możliwość korzystania z jednolitego środowiska dla wszystkich parametrów niezależnie od lokalizacji aparatury pomiarowej. W ramach opisu analizy morfometrycznej poniżej przedstawiono najważniejsze założenia metod wyznaczających główne parametry mikrostruktury kości gąbczastej, zaś pełna ich charakterystyka znajduje się na głównej stronie projektu<sup>2</sup>.

### 5.3.1. Frakcja objętościowa

Udział objętościowy kości, inaczej frakcja objętościowa ( $\mathbf{BV}/\mathbf{TV}$ ), jest parametrem morfologicznym zdefiniowanym jako stosunek objętości zmineralizowanej tkanki kostnej  $\mathbf{BV}$  (ang. *bone volume*) do objętości całkowitej  $\mathbf{TV}$  (ang. *total volume*) i może posłużyć do wyznaczenia porowatości, czyli stosunku objętości zajmowanej przez pory do objętości całkowitej. Parametry objętości tkanki kostnej i objętości całkowitej są też wykorzystywane do skalowania innych parametrów, np. zrekonstruowanej powierzchni kości. W przypadku reprezentacji wokselowej danych obrazowych, frakcję objętościową wyznacza się najczęściej poprzez zliczenie wszystkich wokseli odpowiadających tkance kostnej, rzadziej poprzez rekonstrukcję powierzchniową i wyznaczenie objętości w jej wnętrzu [75], co w przypadku dostatecznie wysokich rozdzielczości pomiaru jest wystarczające.

1. Strona główna projektu *BoneJ* <http://bonej.org/>

2. Opis metod projektu *BoneJ*: <http://bonej.org/#trabeculae>

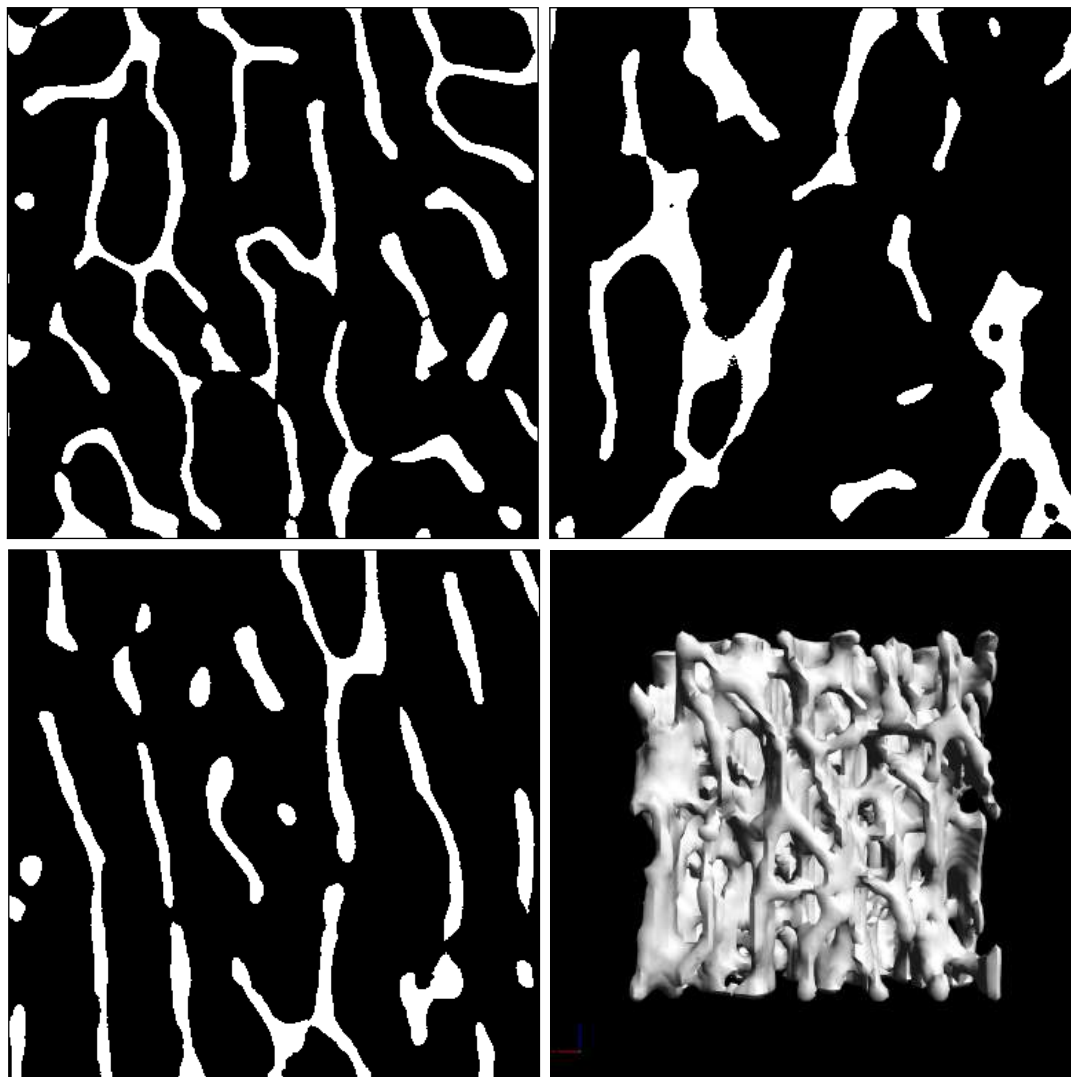
### 5.3.2. Rozmiary beleczek i porów

Efektywna metoda wyznaczenia średnich rozmiarów beleczek i odległości pomiędzy nimi (porów) jest oparta na implementacji metody lokalnego pomiaru grubości [41] autorstwa Boba Dougherty'ego. Definiuje ona rozmiary struktury w danym punkcie jako średnicę największej zawierającej się w strukturze sfery, która obejmuje punkt, analogicznie do podejścia wykorzystującego średnicę okręgu z rysunku 5.6 dla przypadku dwuwymiarowego. Wyznaczane są: wartość średnia, odchylenie standardowe i wartość maksymalna dla grubości beleczek **Tb.Th** (ang. *trabecular thickness*) i odległości pomiędzy nimi **Tb.Sp** (ang. *trabecular separation*) wprost z reprezentacji wokselowej [76]. Czas obliczeń jest silnie zależny od rozmiaru mierzonej struktury, dlatego dla wysokich rozdzielczości pomiarowych może być uzasadnione przeskalowanie danych obrazowych.

### 5.3.3. Powierzchnia

W przypadku kości gąbczastej wyznaczaną wielkość zrekonstruowanej powierzchni interpretuje się jako parametr **BS** (ang. *bone surface*), w praktyce wyznaczany jako suma pól powierzchni wszystkich wielokątów przybliżających analizowaną powierzchnię wyrażana w odpowiedniej jednostce fizycznej. Również niektóre z metod analizy morfometrycznej wykorzystują proces rekonstrukcji trójwymiarowej z pierwotnej reprezentacji wokselowej, gdzie wynikowa powierzchnia jest generowana z użyciem prostych wielokątów. Metodę rekonstrukcji powierzchni z powodzeniem wykorzystuje się w przypadku wizualizacji danych medycznych na podstawie przekrojów poprzecznych. Na rysunku 5.7 przedstawioną zrekonstruowaną powierzchnię mikrostruktury kości gąbczastej dla próbki (K07RD2) wraz z odpowiadającymi jej przekrojami poprzecznymi w trzech prostopadłych kierunkach. Wyróżnia się również pochodne parametry uśrednionej w objętości powierzchni (**BS/BV**, **BS/TV**).

W przypadku najczęściej stosowanego do celu rekonstrukcji powierzchniowej *algorytmu maszerujących sześciątów* (ang. *marching cubes*) dla zadanego przestrzennego pola skalarnego tworzona jest siatka trójkątów przybliżająca powierzchnię [117]. W podstawowej wersji algorytmu przestrzeń dzielona jest na regularną siatkę sześciątów, zaś od gęstości podziału zależy dokładność zrekonstruowanego obrazu oraz czas potrzebny na wykonanie obliczeń. W pojedynczym kroku algorytmu rozpatrywany jest jeden wirtualny sześciąt. Dla każdego wierzchołka wyznaczana jest wartość pola skalarnego i porównywana z wartością graniczną. Sześciąt nie formuje żadnego wielokąta w przypadku, gdy wszystkie wartości są mniejsze od wartości granicznej. W innej sytuacji na krawędziach przecinających powierzchnię wyznacza się wierzchołki wielokąta. Przez wzgląd na to, że wierzchołki i krawędzie są współdzielone przez sąsiednie sześciąty, część obliczeń nie musi być powtarzana [176]. W analogii do podejścia dla objętości, metoda stosowana dla płaszczyzn nosi nazwę *algorytmu maszerujących kwadratów* (ang. *marching squares*).



Rysunek 5.7. Przekroje poprzeczne próbki kości gąbczastej (K07RD2) w 3 prostopadłych kierunkach oraz zrekonstruowana powierzchnia mikrostruktury kości. *Kliknij aby uaktywnić wersję interaktywną.*

#### 5.3.4. Gęstość połączeń

W przypadku analizy topologicznej struktur kostnych analizuje się najczęściej połączenia beleczek kostnych, a także strukturę po szkieletyzacji, w tym punkty węzłowe. Pomiar połączeniowości (utożsamianej z liczbą beleczek kostnych) oraz gęstości połączeń **Conn.D** (utożsamianej z liczbą beleczek w objętości) wykonuje się w oparciu o charakterystykę Eulera  $\chi$ , oraz pomocnicze metody usunięcia rozłącznych fragmentów struktury, a także przekształceń morfologicznych erozji i dylatacji. W metodzie wykorzystuje się również histogram z całego zbioru danych (zamiast pojedynczych przekrojów) do automatycznego ustawienia progu oraz opcjonalnie dokonuje próby wyboru progu, który minimalizuje połączeniowość.

Liczba połączonych struktur w sieci może być określona poprzez wyznaczenie charakterystyki Eulera  $\chi$  zdefiniowanej poprzez zależność 5.5. Struktura gąbczasta jest jedną z takich sieci, a jej gęstość połączeń (**Conn.D**) można wyznaczyć, dzieląc oszacowanie połączeniowości przez objętość próbki. Metoda zdefiniowana została w pracy [145] i wykorzystuje się ją dla powierzchni

(rozmaitości topologicznych). Metoda mierzy to, co można nazwać stopniem spójności dla poszczególnych fragmentów struktury. Wyraża się to w liczbie połączeń w strukturze, które mogą być zerwane zanim łączność pomiędzy dwoma fragmentami zostanie utracona. Implementację oparto na założeniach zawartych w algorytmie wykorzystującym sąsiedztwo wokseli [191]. Charakterystyka Eulera może być wyznaczona na bazie wokselowych wierzchołków  $\alpha_0$ , krawędzi  $\alpha_1$ , ścianek  $\alpha_2$  i objętości  $\alpha_3$  poprzez zależność [144]:

$$\chi = \alpha_0 - \alpha_1 + \alpha_2 - \alpha_3. \quad (5.5)$$

W metodzie przyjmuje się założenie o występowaniu struktury, w której wszystkie fragmenty są ze sobą połączone, stąd konieczne jest usunięcie jej rozłącznych fragmentów, wyseparowując z niej największy obszar ciągły [145]. W metodzie wykorzystuje się również sekwencję przekształceń morfologicznych: erozji (ang. *erode*), do usunięcia wszystkich wokseli obrazu, które mają choćby jednego sąsiada należącego do tła oraz dylatacji (ang. *dilate*) do dodania do obiektu wszystkich wokseli tła, które stykają się przynajmniej z jednym wokselem obiektu [189, 203].

### 5.3.5. Kształt geometrii

Klasyczny współczynnik typu struktury **SMI** (ang. *structure model index*) został zdefiniowany do opisu wypukłości i wklęsłości mikrostruktury kości gąbczastej. W obliczeniach wykorzystuje się metody pomocnicze służące do szkieletyzacji struktury. Metoda stała się popularnym sposobem określenia w strukturze kości gąbczastej ilościowego wkładu uproszczonych modeli blaszkowego (ang. *plate-like*) i prętowego (ang. *rod-like*) w kształt geometrii. Parametr ten ma historycznie duże znaczenie w przypadku badań nad osteoporotyczną degradacją kości gąbczastej, którą charakteryzuje przejście ze struktury blaszkowej do prętowej [77]. W metodzie wykorzystuje się zmianę zrekonstruowanej powierzchni **BS** przy minimalnym zwiększeniu objętości (dla reprezentacji po rekonstrukcji), lub też rozszerzenie modelu wokselowego, poprzez dodanie jednego wokselu we wszystkich wymiarach do zbinaryzowanych powierzchni obiektu. Współczynnik ten przyjmuje następujące wartości: 0 dla struktur zbliżonych do blaszkowych, 3 dla prętowych oraz 4 dla sferycznych. Metoda przyjmuje trudne w interpretacji wartości ujemne w przypadku wklęsłych struktur, generując pojawienie się niejasności w analizie wyników. Ostatnie badania dowiodły, że metoda ta nie sprawdza się zwykle dla geometrii rzeczywistych kości, ponieważ ilość wklęsłych fragmentów odpowiadająca aż do 70% powierzchni kości oznacza że otrzymywana wartość dla danej struktury kości nie pozwala w praktyce na interpretację spektrum geometrii od blaszkowej do prętowej [170]. Dobrze znane wady tej szeroko stosowanej dotychczas metody, coraz częściej skutkują wykluczeniem z listy parametrów wykorzystywanych w analizie struktur, zwłaszcza w nowszych opracowaniach [169].

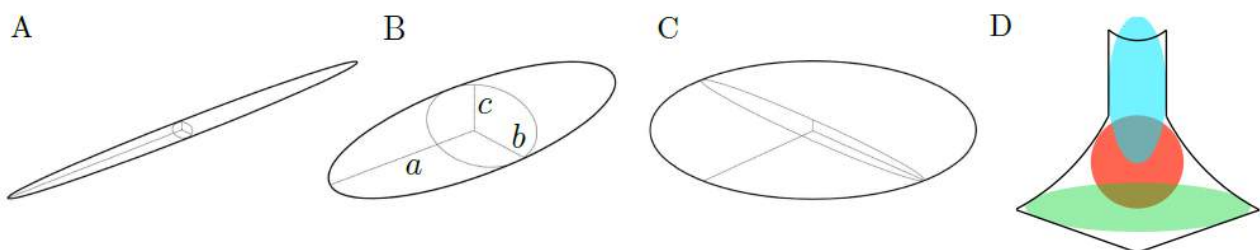
Dlatego też zaczynają pojawiać się efektywne implementacje metod mających zastąpić tą stosowaną w wielu przypadkach metodę, podobne w założeniach do wcześniejszych rozważań [193]. W przypadku niniejszego opracowania wykorzystano pomiar długości osi spłaszczonej



czonych i wydłużonych elipsoid w celu określenia, jak bardzo spłaszczony lub wydłużony jest fragment mikrostruktury w danym punkcie. Mocno wydłużone elipsoidy, odpowiadające prętom (ang. *rod-like*), posiadają jedną dłuższą oś ( $a$ ) i dwie krótsze osie ( $b$ ,  $c$ ) takie, że zachodzi  $a \gg b > c$ , podczas gdy mocno spłaszczone elipsoidy, odpowiadające blaszkom (ang. *plate-like*), posiadają dwie dłuższe osie ( $a$ ,  $b$ ) i jedną krótszą oś ( $c$ ) taką, że spełnione jest  $a > b \gg c$ . Dlatego stosunek  $b/a$  jest bliski 0 dla wydłużonych i bliski 1 dla spłaszczonych elipsoid, zaś stosunek  $c/a$  jest zazwyczaj zbliżony do 0, z wyjątkiem elipsoid sferycznych (ang. *sphere-like*), gdzie  $a \sim b \sim c$ , a co za tym idzie  $b/a$  i  $c/a$  są bliskie 1. W implementacji metody wykorzystuje się szkieletyzację do umiejscowienia punktów załączkowych (ang. *seed points*) w wokselałach znajdujących się w geometrycznym środku beleczek. Szkielet struktury powstaje za pomocą algorytmu przeredzenia osi centralnej danej struktury [108]. Dla wszystkich wokselał losowane są wektory, do momentu, aż dla każdego uda się przekroczyć granicę pomiędzy beleczką a przestrzenią. Dla każdego z punktów załączkowych budowana jest macierz kowariancji z wektorów pomnożonych przez ich długości. Trzy długości osi, wyznaczone poprzez wartości własne macierzy kowariancji, są uśredniane dla wszystkich tych punktów. Otrzymane sumy  $\sum a$ ,  $\sum b$  i  $\sum c$  wykorzystuje się do uzyskania informacji o charakterze struktury.

W najnowszych podejściach, mniej dokładna aproksymacja nieregularnych kształtów zastępowana jest wykorzystaniem metody analogicznej do pomiaru lokalnej grubości struktury w celu wyznaczenia rozmiarów beleczek i porów. Na bazie tych obserwacji definiuje się nowe parametry, pozbawione wad pomiaru SMI dla kości, z których najbardziej obiecujący wydaje się współczynnik typu struktury **EF** (ang. *ellipsoid factor*) [39]. Założenia metody zostały zilustrowane na rysunku 5.8. W przypadku niniejszego opracowania zdecydowano się wykorzystać metodę pozwalającą na wyznaczenie efektywnej wartości parametru **EF\*** (oznaczenie odróżniające od oryginalnej definicji parametru) w znormalizowanym zakresie: od wartości -1 dla struktury blaszkowej, do 1 dla prętowej, w oparciu o powyżej zdefiniowane oznaczenia półosi:

$$\mathbf{EF}^* = \frac{c}{b} - \frac{b}{a}. \quad (5.6)$$



Rysunek 5.8. Ilustracja założeń metody wyznaczającej wartość współczynnika typu struktury EF. Elipsoidy odpowiadające prętowi (A, B) oraz blaszce (C), a także wyidealizowany fragment struktury kostnej po lokalnej analizie zmiany kształtu belecarki z prętowej, przez sferyczną do blaszkowej (D).

### 5.3.6. Stopień anizotropii

Rozważmy obszar reprezentatywny o skomplikowanej strukturze wewnętrznej, zawierający fazę stałą i pozostałą przestrzeń. W kości gąbczastej będzie to odpowiednio struktura połączonych ze sobą beleczek kostnych i porowa przestrzeń międzybeleczkowa. Jeśli mikrostruktura byłaby izotropowa, wektory przecinające ją pod dowolnym kątem dałyby w rezultacie podobną odległość przecięć biorąc pod uwagę przejście ze struktury beleczkowej do porów. Jednak beleczki kostne zmieniają swoją orientację w zależności od obciążeń mechanicznych, wskutek czego struktura kości gąbczastej wykazuje symetrię anizotropową, zbliżoną do ortotropowej. Uzyskuje się więc dla niej różne wartości zliczeń przecięć w funkcji orientacji. Sytuację scharakteryzowano w 2D dla przykładowej struktury na rysunku 5.6 dla przecięć przy przejściach z fazy stałej do przestrzeni porowej. Anizotropia określa kierunkowość własności struktury i wraz z frakcją objętościową jest najważniejszym wyznacznikiem właściwości mechanicznych materiałów porowatych [146] (relacje pomiędzy kierunkowością struktury a właściwościami mechanicznymi opisano szerzej w podrozdziale 2.3.2). Stopień anizotropii **DA** (ang. *degree of anisotropy*) jest znormalizowaną miarą tego, w jaki sposób zorientowane są elementy struktury w danej objętości i należy do grupy parametrów teksturowych. Historycznie do pomiarów kierunkowości wykorzystywano badania histologiczne, z użyciem specjalnych matryc i analizy dwuwymiarowej [26]. Aktualnie do pomiaru stopnia anizotropii w 3D wykorzystuje się najczęściej metodę MIL (ang. *mean intercept length*), tj. uśrednioną we wszystkich kierunkach odległość przecięć struktury, opisaną w roku 1984 przez Harrigana i Manna [68]. Metoda ta może posłużyć do otrzymania dokładnych wyników w przypadku analizy reprezentatywnej objętości, zawierającej odpowiednio dużą liczbę obiektów (np. beleczek kostnych), ale nie nadaje się do pomiaru analizy pojedynczych lub mało licznych obiektów. Średnią odległość pomiędzy zmianami fazy materiału, przy użyciu układu równej długości ułożonych obok siebie wektorów, wyraża wzór:

$$\text{MIL}(\Phi) = \frac{L}{I(\Phi)}, \quad (5.7)$$

gdzie  $L$  jest całkowitą długością wszystkich wektorów z układu, a  $I$  liczbą przecięć struktury (w przypadku kości przy przejściu granicy z fazy stałej do porów) dla danego kąta orientacji  $\Phi$ , przy czym  $0^\circ \leq \Phi \leq 180^\circ$ . Wynik MIL dla określonej orientacji jest uśredniany na bazie wartości dla wszystkich wektorów, co w rezultacie daje dla całej objętości chmurę wektorów MIL. Jednak wymaga to określenia wielkości i kształtu analizowanego obszaru i najczęściej realizuje się pomiary dla tzw. sfery centralnej (ang. *sphere-in-the-middle*), w których wkład każdego woksela jest wykorzystywany w jednym kierunku [146]. Kiedy analizowany obszar nie jest sferyczny (nie został zmierzony w tej konfiguracji tylko dla obszaru prostopadłościennego), wielkość sfery dobiera się tak aby zawierała w sobie całkowicie analizowany obszar.

Obok tego sposobu pomiaru stopnia anizotropii w oparciu o metodę MIL, istnieją alternatywne wersje, w tym podejście iteracyjne z użyciem wielu mniejszych sfer umieszczonych w losowych pozycjach [40]. Dla danego kąta i wektora odpowiadającego sferom, średnia odległość

między przecięciami określa się na podstawie długości wektorów podzielonych przez zliczenia przecięć. Budowana jest chmura punktów odpowiadająca wykresowi biegunowemu (ang. *polar plot*), w której dany punkt reprezentuje wektor pomnożony przez średnią odległość pomiędzy przecięciami dla danego kąta. Liczbowa interpretacja chmury wektorów MIL przecinających się w jednym punkcie wymaga użycia uniwersalnego obiektu matematycznego, stąd wyznacza się statystycznie dopasowaną elipsoidę, która najdokładniej opisuje rozkład orientacji wektorów. W dalszych iteracjach losowane są punkty z takimi samymi wektorami, a współczynnik jest aktualizowany do momentu ustabilizowania obliczeń (dla danego proggu) lub osiągnięcia zadanej liczby iteracji. Dzięki temu, każdy woksel ma szansę być wykorzystany w dowolnym kierunku, a otrzymany wynik jest bardziej odporny na zaburzenia wynikające z kształtu struktury.

Dopasowana statystycznie elipsoida opisuje rozkład orientacji MIL przez powiązanie z wartościami i wektorami własnymi tensora struktury  $\mathbf{H}$  drugiego rzędu. Tensor opisujący elipsoidę jest ortogonalny, ponieważ opisuje osie elipsoidy, które są wzajemnie ortogonalne. Rezultatem analizy tensora struktury jest wynik analizy zagadnienia własnego (dekompozycja na wartości i wektory własne). Składają się na niego macierz wektorów własnych, które są reprezentowane w kolumnach, oraz macierz z 3 wartościami własnymi na diagonalu, z indeksami odpowiadającymi wektorom własnym. Wartości własne  $h_1 \leq h_2 \leq h_3$  odpowiadają długościom półosi elipsoidy, a wektory własne  $\mathbf{h}_1, \mathbf{h}_2, \mathbf{h}_3$  określają orientację osi głównych elipsoidy. Tensor  $\mathbf{H}$  jest powiązany relacją z tensorem struktury  $\mathbf{M}$  (wzajemne relacje tensorów oraz wektorów i wartości własnych omówiono szerzej w podrozdziale 2.3.2). Na rysunkach 5.9 oraz 5.10 zilustrowano wyniki analizy MIL dla obszarów kości gąbczastej (K07RB2, K07LF1) na bazie rozkładu wektorów MIL i elipsoidy wyznaczonej z najlepszego do nich dopasowania, wyskalowane kolorystycznie do wartości własnych  $m_i$  tensora struktury  $\mathbf{M}$ . Kierunkowi określającemu oś anizotropii o największej wartości odpowiada **największa** wartość własna tensora struktury  $\mathbf{M}$  ( $m_1 = h_1^{-\frac{1}{2}}$ ) oraz najdłuższa półoś elipsoidy. Wartość współczynnika anizotropii DA wyznaczana jest jako:

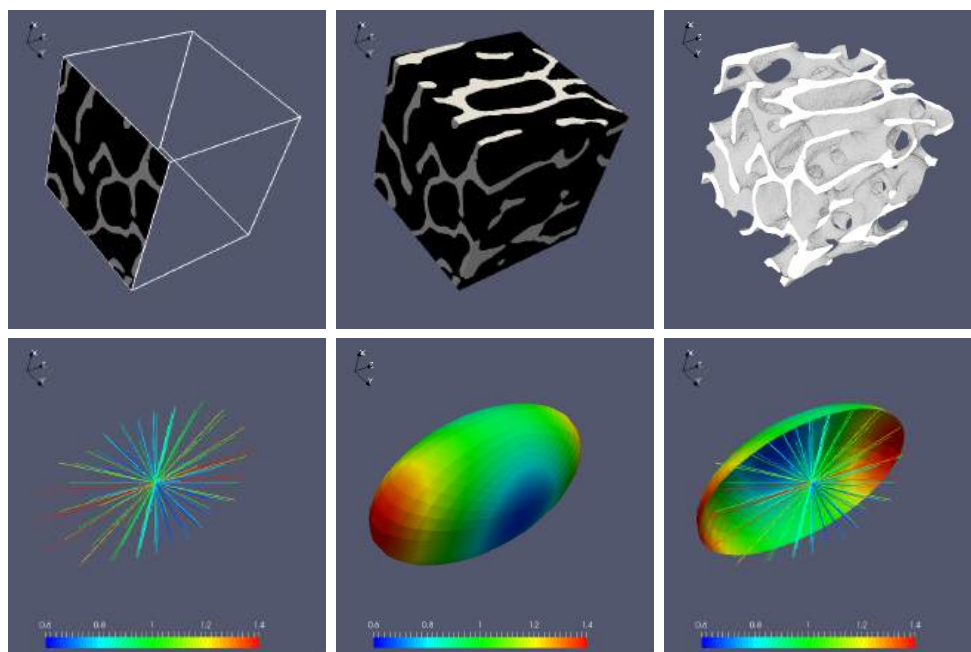
$$DA = 1 - \frac{h_1}{h_3}, \quad (5.8)$$

gdzie  $h_1$  jest **najmniejszą** wartością własną tensora  $\mathbf{H}$  odpowiadającą kierunkowi określającemu oś największej anizotropii zgodnemu z orientacją wektora własnego  $\mathbf{h}_1$ , a  $h_3$  największą wartością własną. W rezultacie parametr przyjmuje znormalizowane wartości: 0 dla struktury całkowicie izotropowej oraz 1 dla przypadku anizotropowego. Rzadziej stosuje się alternatywną definicję współczynnika anizotropii  $\mathbf{tDA}$  jako stosunek  $h_1$  do  $h_3$ , otrzymując w rezultacie: 1 dla struktury izotropowej i wartość zmierzającą do nieskończoności dla struktury anizotropowej. Na wyniki analizy metodą MIL mogą się składać również wartości wskazujące na jakość dopasowania do wyznaczonej elipsoidy oraz powiązany błąd (współczynniki korelacji).

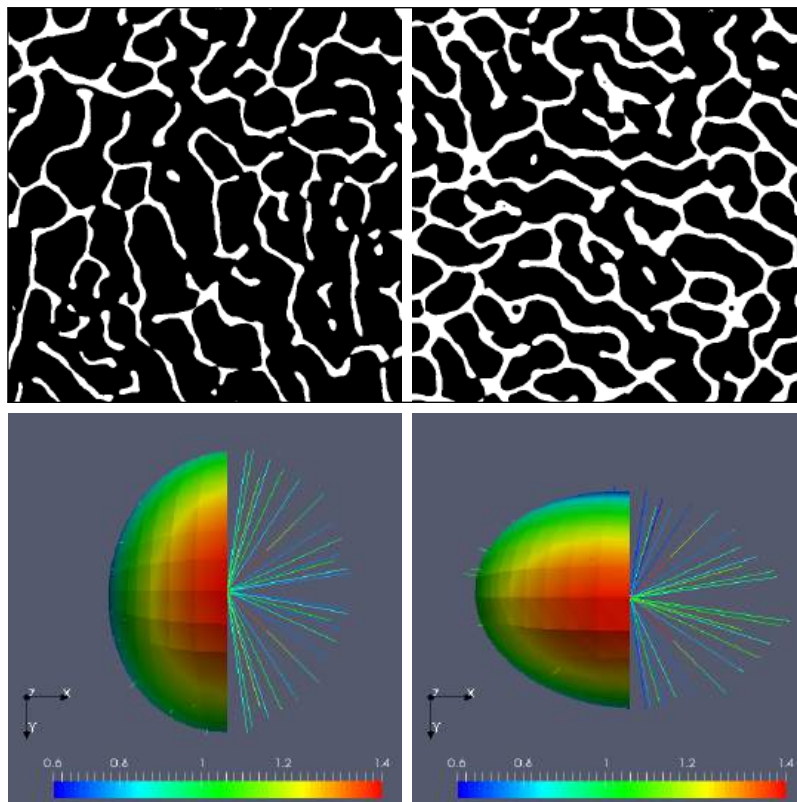
Potrzeba zdefiniowania podejść dedykowanych obrazom źródłowym w skali szarości, doprowadziła do opracowania efektywnych metod analizy anizotropii dla tej reprezentacji, w tym rozwinięcia metody GST (ang. *gradient structure tensor*) zaproponowanego przez Tabora i Ro-

kitę w 2007 roku [188], które następnie okazało się być zbieżne z wynikami metody MIL [185]. Tego typu podejścia są szczególnie istotne w przypadku analizy danych w niskiej rozdzielczości zarejestrowanych z użyciem klinicznych urządzeń do obrazowania tomograficznego [187]. Opracowano wyspecjalizowane modyfikacje metody MIL dla określonych przypadków, jak np. wersję z pracy doktorskiej Badii z 2008 roku (ang. *projected mean intercept length*, PMIL) [8], oraz uogólnioną metodę MIL zaproponowaną przez Moreno w 2012 roku (ang. *generalized mean intercept length*, GMIL) dla różnych reprezentacji danych wejściowych (w skali szarości i po binaryzacji) na bazie dedykowanych określonym zagadnieniom jąder przekształceń [127].

Należy dodać, że choć rozkład anizotropii może być również aproksymowany poprzez wykorzystanie tensorów struktury wyższych rzędów [95], mikrostruktura większości materiałów może być analizowana z wystarczająco wysoką precyzją z użyciem tensorów drugiego rzędu [107]. Wyjątkiem są struktury o bardzo wysokiej i niskiej porowatości, w przypadku których użycie dowolnej z najbardziej uniwersalnych metod (MIL, GMIL, GST) nie przynosi zadowalających rezultatów [129]. Inne metody takie jak SVD (ang. *star volume distribution*), SLD (ang. *star length distribution*), LFD (ang. *line fraction deviation*), czy VO (ang. *volume orientation tensor*), również doczekały się implementacji przez różnych badaczy, a także zbiorczych analiz i zestawień razem z wcześniej wymienionymi metodami [143, 128], nie są jednak wykorzystywane tak szeroko jak metoda MIL. Stosuje się również alternatywne metody pomiaru kierunkowości oparte o analizę porów, w tym obrazowanie tensora dyfuzji (ang. *diffusion tensor imaging*, DTI), ale w przypadku takich podejść problematyczne jest przejście z anizotropii otrzymanej dla porów wypełnionych szpikiem, do wartości użytecznych dla kości gąbczastej [25].



Rysunek 5.9. Objętość reprezentatywna kości gąbczastej (K07RB2) z uwidocznionym przekrojem poprzecznym oraz pełną strukturą w reprezentacji wokselsej i po rekonstrukcji powierzchniowej (na górze). Wyniki pomiaru stopnia anizotropii wyskalowane kolorystycznie do wartości własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  w postaci chmury wektorów MIL, elipsoidy oraz ich nałożenia (na dole).



Rysunek 5.10. Ilustracja przekrojów poprzecznych w płaszczyźnie  $xy$  analizowanych objętości reprezentatywnych (K07RB2, K07LF1) z 2 różnych regionów kości gąbczastej (na górze) i odpowiadających im wektorów MIL nałożonych na elipsoide wyznaczoną z najlepszego dopasowania (na dole). Wyskalowane kolorystycznie do wartości własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  wyniki pomiaru stopnia anizotropii w postaci wektorów MIL i elipsoid odpowiadają kierunkowości beleczek obu analizowanych regionów.

Na przestrzeni lat metoda MIL stała się w przypadku analizy struktury kości gąbczastej złotym standardem, dzięki dużej liczbie dowodów uzasadniających jej adekwatności do przewidywania właściwości mechanicznych [146, 217, 31]. Jednak metoda GMIL zaczyna być określana jako nowy standard z potencjałem na zastąpienie metody MIL w przyszłości [186], o ile dojdzie do rozpropagowania jej założeń i oryginalnej implementacji, a także szerszych zestawień.

W ogólności analiza stopnia anizotropii z użyciem metody MIL dla rekonstrukcji tomograficznych wyprzebarwionych próbek z ludzkich lub zwierzęcych kości nie wymaga zorientowania w osiach głównych anizotropii. Jeśli jednak obszary po analizie morfometrycznej mają być wykorzystane do symulacji właściwości mechanicznych, należy zweryfikować i w razie potrzeby zmodyfikować zorientowanie obszaru. Wymaga to korekty na podstawie obrotu zgodnego z wynikami analizy anizotropii (np. metodą MIL) i wycięcia obszaru o objętości reprezentatywnej. W przypadku cyfrowego wycięcia obszarów z kości zobrazowanej w pomiarze w skali makro, w przeciwieństwie do wyciętych fizycznie i zobrazowanych tomograficznie próbek kości, odpowiednia orientacja może być precyzyjnie uwzględniona przed wycięciem, ale wciąż pozostaje problem rozmiarów obszaru reprezentatywnego. W takich przypadkach konwencjonalnie stosuje się automatyzację procesu wycięcia, przy założeniu stałej objętości reprezentatywnej odpowiadającej sześciennemu obszarowi o boku 5 mm [155, 156].

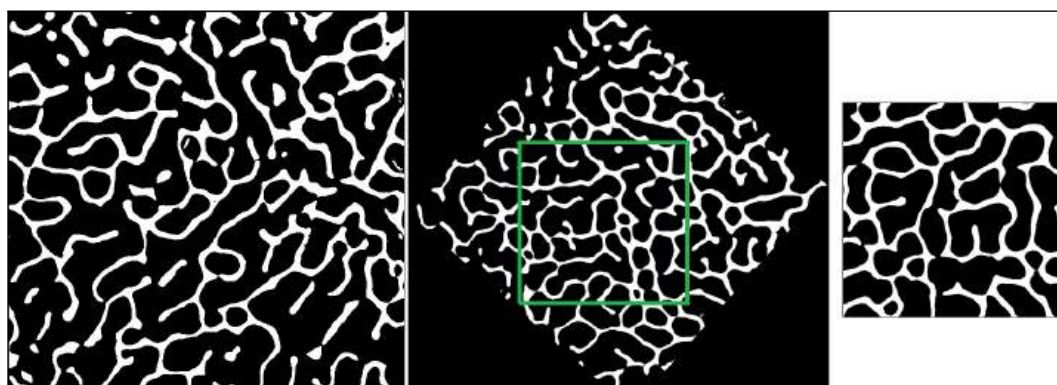
Macierz wektorów własnych tensora struktury  $\mathbf{H}$  jest efektywnie macierzą transformacji uwzględniającą orientację tekstury względem układu współrzędnych źródłowego obrazu. Macierz odwrotna do macierzy transformacji jest wykorzystywana do obrotu obrazu do układu współrzędnych uwzględniającego właściwą orientację. Podejście jest odwrotne, ponieważ każdy piksel w obrazie o właściwej orientacji wypełniany jest wartością z piksela ze źródłowego obrazu z mapowaniem z użyciem macierzy odwrotnej do macierzy transformacji. Z kolei wycięcie określonego obszaru z obrazu tomograficznego w arbitralnie przyjętej orientacji różnej od osi wiąże się z zastosowaniem interpolacji. Z tego powodu wyniki analizy morfometrycznej, zwłaszcza morfologii dla obszaru po wycięciu mogą się różnić od wyników przed wycięciem.

Dlatego w niniejszym opracowaniu zdefiniowano i zastosowano modyfikacje opisywanego schematu wykorzystania wyników analizy anizotropii dla obszarów odpowiadających wyprze-parowanemu próbkom. Przyjęto metodykę w której obrót zgodny z analizą MIL powinien być minimalny, a obszar wycinany po uwzględnieniu obrotu powinien mieć reprezentatywne rozmiary, ale bez określenia z góry ich stałej wartości, która byłaby na granicy reprezentatywności. Modyfikacje te miały na celu zapewnienie otrzymania odpowiedniej objętości prostopadłościanu wpisanego w analizowany obraz 3D o wycięciu zgodnym z orientacją jego osi. Oba zagadnienia, tj. obrotu obszarów oraz rozmiarów obszaru reprezentatywnego wymagały zastosowania odpowiedniego podejścia, dbając o zachowanie możliwości automatyzacji procesu. Na rysunku 5.11 przedstawiono schemat uwzględniający obrót i wycięcie określonego podobszaru.

W przypadku wektorów  $\mathbf{x}$  i  $\mathbf{y}$  o takiej samej liczbie składowych, możliwe jest otrzymanie wektora  $\mathbf{y}$  poprzez przemnożenie wektora  $\mathbf{x}$  przez odpowiednią macierz transformacji. Istnieje jednak kilka możliwych ścieżek transformacji, które w efekcie dają ten sam wynik, ponieważ tak określona macierz nie jest unikalna. Dlatego dokonano modyfikacji metody wyznaczającej macierz transformacji definiującej obrót badanej struktury zgodnie z wynikami pomiaru anizotropii. Wzbogacono ją o możliwość wyznaczenia macierzy transformacji odpowiadającej minimalnemu obrotowi przetwarzanej struktury na podstawie macierzy pierwotnej  $\mathbf{M}$  o wymiarach  $3 \times 3$ . Tak określona minimalna macierz obrotu jest wyznaczana na podstawie 24 symetrycznych wersji macierzy  $\mathbf{M}$ . Dla każdej z nich określana jest reprezentacja oś-kąt, ponieważ każda rotacja w przestrzeni trójwymiarowej zdefiniowana jest przez jej oś oraz kąt. W praktyce istnieje kilka metod na przejście z reprezentacji macierzowej do reprezentacji oś-kąt. Jedną z najczęściej wykorzystywanych bazuje na wyznaczeniu wartości i wektorów własnych macierzy  $\mathbf{M}$ . W tej interpretacji macierz warunkująca minimalny obrót to macierz dla której kąt obrotu jest najmniejszy. Do wyznaczenia kąta obrotu wykorzystuje się równanie wiążące oś obrotu i wektor  $\mathbf{u}$  który ją opisuje. W opisywanym podejściu kąt obrotu obliczony zostaje na podstawie śladu macierzy  $\mathbf{M}$ , wyznaczanego jako sumy elementów na jej głównej przekątnej.

Podstawowym wynikiem analizy stopnia anizotropii jest uzyskanie informacji o głównych osiach anizotropii badanego obszaru. Wyniki te wykorzystuje się w przypadku obrotu tak, aby jego orientacja była zgodna z głównym kierunkiem anizotropii struktury. O ile pierwotny obraz próbki przedstawia strukturę gąbczastą, która w całości wypełnia jego obszar, obrót wymusza

powiększenie obrazu roboczego, a część przestrzeni wypełnia tło poza strukturą. Przyjęta metoda procesu analizy i przetwarzania próbek kości gąbczastej zakłada operowanie na obrazie w całości zajętym przez badaną strukturę. W związku z tym należało przygotować rozwiązanie, które w obróconej zgodnie z kierunkiem anizotropii strukturze pozwoli wyznaczyć maksymalną objętość, której boki są równoległe do odpowiednich osi obszaru roboczego obrazu. Rozwiązanie zostało zaimplementowane na podstawie założeń algorytmu do znajdowania największego prostokąta w wielokącie, biorąc pod uwagę jego wysoką skuteczność i wydajność. Choć istnieją dedykowane szybkie algorytmy ze złożonością rzędu  $O(n \log_n)$  do określonego podejścia, zdecydowano się opracować autorskie rozszerzenie iteracyjnego algorytmu. Umożliwiło to na uzyskanie uogólnionego podejścia do problemu analizy obszarów, w których kąty wew. nie muszą być mniejsze bądź równe  $180^\circ$ , tak aby uwzględnić mogące w nich występować wklęsłe fragmenty oraz w razie potrzeby przyjąć dowolną orientację względem oryginalnego obszaru, niekoniecznie wzdłuż osi.

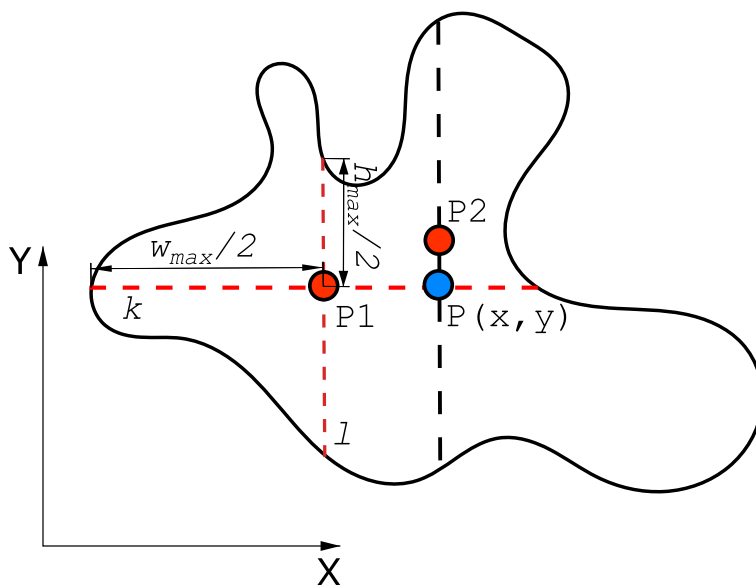


Rysunek 5.11. Schemat przetwarzania przykładowego obrazu 3D w trakcie analizy stopnia anizotropii z ilustracją wybranych przekrojów poprzecznych. Obraz poddawany analizie (po lewej), po uwzględnieniu obrotu z zaznaczonym obszarem reprezentatywnym (w środku), oraz po wycięciu (po prawej).

W oryginalnej dwuwymiarowej wersji algorytm został opracowany przez zespół rozwijający bibliotekę *D3plus*, która jest rozszerzeniem popularnej biblioteki *D3.js* w technologii JavaScript przeznaczonej do wizualizacji danych przy pomocy technologii SVG, HTML i CSS [126]. Przytaczane podejście przewidziane do analizy obrazów 2D zostało przeprojektowane na potrzeby niniejszego opracowania do pracy na obrazach 3D. Wykorzystano dwa podejścia: potraktowanie problemu jako sumy problemów dwuwymiarowych oraz rozwiązanie bezpośrednio problemu trójwymiarowego. W docelowej w pełni trójwymiarowej wersji, wygenerowanych i przetworzonych wielowątkowo zostaje 100 punktów przestrzennych, znajdujących się wewnątrz obszaru kości po jego obróceniu zgodnie z orientacją na bazie wyniku metody MIL. Na podstawie danego punktu P wyznaczane są 3 o potencjalnie korzystniejszym położeniu - poprowadzone zostają 3 proste  $k, l, m$  przechodzące przez dany punkt i równoległe kolejno do osi X, Y, Z. Środki odcinków leżących na tych prostych i definiowanych przez punkty przecięcia z obszarem, to współrzędne nowych punktów P1, P2, P3. Dla każdego z punktów szukany jest największy wpi-

sany prostopadłościan o środku w aktualnie przetwarzanym punkcie. Badane są różne stosunki długości boków dłuższego  $w$  do krótszych boków  $h$  i  $d$ , a wynikowym rozwiązaniem staje się to o największej objętości. Stosunki poszczególnych boków, jakie zostają kolejno sprawdzone przez program to  $\{0,85; 0,90; \dots; 1,15\}$ . Zostały one wybrane tak, aby wynikowy prostopadłościan był możliwie zbliżony do sześcianu, a zatem nie było dużych odstępstw w proporcjach pomiędzy rozmiarami. Metoda wyznaczania została zilustrowana dla uproszczonego dwuwymiarowego przypadku wyznaczenia maksymalnego prostokąta w obszarze 2D na rysunku 5.12.

Zaimplementowane rozwiązanie bazuje na wyznaczeniu teoretycznie maksymalnych długości odcinków  $w_{max}$ ,  $h_{max}$  i  $d_{max}$ , równoległych do poszczególnych osi X,Y,Z, jakie można poprowadzić z aktualnie badanego punktu tak, aby znajdowały się wewnątrz przetwarzanej objętości. W praktyce połowę poszczególnych długości  $w_{max}$ ,  $h_{max}$  i  $d_{max}$  wyznacza się jako krótsze z odcinków pomiędzy końcem obszaru, a określonym punktem dla danego kierunku. Jeżeli okaże się, że teoretyczny maksymalny prostopadłościan będzie mniejszy niż dotychczas najlepsze rozwiązanie, obliczenia nie są kontynuowane. W dalszym etapie sprawdzając kolejno różne kombinacje stosunków długości poszczególnych wymiarów bryły ze wskazanego zakresu, wyznaczana jest maksymalna objętość spełniająca zadane warunki. Zarówno wysokość jak i głębokość poszukiwanego prostopadłościanu wyznaczone są na podstawie zmiennego parametru szerokości. Ostateczne wartości określone są przez wyszukiwanie binarne, a docelowym rozwiązaniem staje się to, dla którego wyznaczona objętość jest największa.



Rysunek 5.12. Ilustracja metody pozwalającej na wyznaczenie obszaru o maksymalnej powierzchni (lub objętości), którego boki są równoległe do osi obrazu. Na podstawie punktu P wyznaczane są kolejne 2 o potencjalnie korzystniejszym położeniu - poprowadzone zostają 2 proste  $k$  i  $l$  przechodzące przez punkt i równoległe do osi X,Y. Współrzędne nowych punktów P1 i P2 to środki odcinków leżących na tych prostych i definiowanych przez punkty przecięcia z obszarem. Dla każdego z punktów szukany jest największy wpisany prostopadłościan o środku w aktualnie przetwarzanym punkcie w oparciu o wyznaczenie teoretycznie maksymalnych długości odcinków  $w_{max}$  i  $h_{max}$  na bazie długości krótszych z odcinków pomiędzy końcem obszaru, a określonym punktem dla danego kierunku.



## 5.4. Wyniki

W przypadku niniejszego opracowania wykorzystano rekonstrukcje cyfrowe prostopadłościennych próbek kości zbliżonych kształtem do sześcianu o boku 10 mm. Dzięki takiemu doborowi objętości reprezentatywnych pierwotnych obszarów, po docięciu próbek w najbardziej niekorzystnych przypadkach otrzymano rozmiary obszarów o bokach powyżej 5 mm, zachowując ich reprezentatywność. Obrazy z rekonstrukcjami próbek kości gąbczastej nie zawierały obszarów kości zbitej, nie istniała więc potrzeba segmentacji obu rodzajów kości na potrzeby dalszej analizy. Przetwarzanie danych przeprowadzono z użyciem makr automatyzujących proces (*ImageJ*) na bazie mocy stacji roboczej z układem Intel i7 2700K 64GB (8 wątków) i Nvidii GTX Titan Black (2880 jednostek graficznych). Uwzględniając wszystkie opisane aspekty, przetwarzanie i analiza obrazów 3D były wykonane na podstawie następujących kroków:

- Zestawienie obszarów z obu rozdzielczości po rejestracji (opisanej w podrozdziale 4.4.2);
- Progowanie globalne i lokalne w zależności od rozdzielczości w celu binaryzacji:
  - Binaryzacja obrazów kości gąbczastej z pomiarów wysokorozdzielczych z użyciem progowania globalnego,
  - Weryfikacja doboru metody i parametrów progowania lokalnego na bazie zestawienia wyników analizy morfometrycznej wybranych parametrów z dwóch skal pomiarowych,
  - Binaryzacja obszarów w niższej rozdzielczości z użyciem progowania lokalnego;
- Analiza anizotropii, z uwzględnieniem obrotu i docięcia próbek:
  - Wybór jednorodnych obszarów i obrót zgodnie z głównymi osiami anizotropii,
  - Wycięcie optymalnej wielkości reprezentatywnych podobszarów próbek po obrocie,
  - Usunięcie rozłącznych fragmentów zbinaryzowanych podobszarów;
- Analiza morfometryczna dla parametrów z 3 grup (morfologicznych, topologicznych i teksturowych);
- Selekcja parametrów morfometrycznych na bazie analizy statystycznej korelacji i wybór wielkości niezależnych;
- Wyznaczenie uśrednionych statystyk dla wybranych parametrów morfometrycznych dla ciągłego obszaru kości w skali makro.

### 5.4.1. Parametry morfometryczne

W przypadku wielu opracowań dotyczących związku struktury z właściwościami, nacisk położony był na znalezieniu kombinacji parametrów morfometrycznych, które najlepiej przewidują właściwości mechaniczne kości, takie jak sztywność czy wytrzymałość [54]. Podczas gdy zasadnie jest rozważać w tym kontekście, że grubość, odległość i liczba beleczek kostnych powinny wpływać na jakość mikrostruktury, uwzględnienie tych parametrów zwykle nie pozwala na poprawę przewidywania liniowych właściwości mechanicznych kości w przypadku zestawienia z gęstością kości, bądź w ujęciu znormalizowanym bezpośrednio z frakcją objętościową [122]. Można to wyjaśnić przez fakt, iż większość parametrów wyznaczanych na podstawie danych z  $\mu$ CT koreluje



Wartości korelacji z pomiarami eksperymentalnymi i symulacjami właściwości kości zawarto w podrozdziale 6.4.1. Pełne wyniki tabelaryczne analizy morfometrycznej dla wszystkich parametrów oraz korelacji w wersji rozszerzonej o wyniki pomiarów eksperymentalnych i symulacji parametrów mechanicznych zawarto w dodatku B.

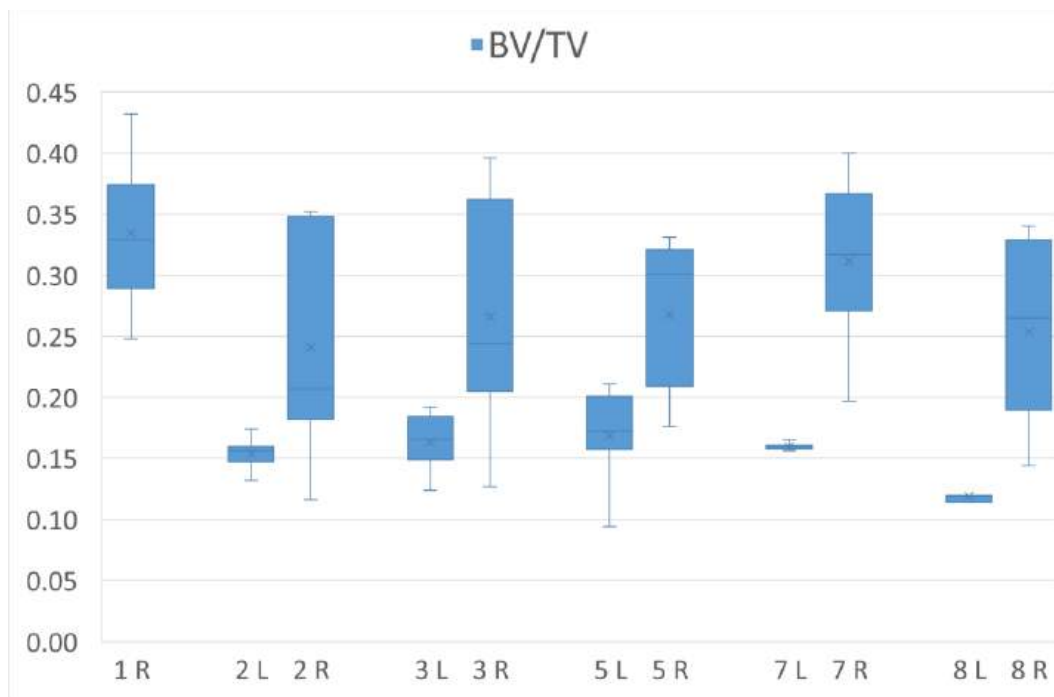
Analizując daną strukturę tworzy się często określony model systematyzujący wiedzę o badanym materiale oraz relacjach między jego cechami, a wykazywanymi właściwościami [203]. Jako że parametr odzwierciedlający frakcję objętościową jest najważniejszą wielkością w przewidywaniu właściwości mechanicznych na podstawie opisu struktury, w tym w szczególności morfometrii [122], zbadanie jego korelacji z innymi parametrami było główną motywacją do wykonania takiej analizy dla uzyskanych danych. Wyznaczone i zamieszczone w tabeli 5.2 wartości korelacji ( $r$ ) dotyczyły jednak kombinacji wszystkich wskazanych wstępnie parametrów. Zbadano również punkty referencyjne w literaturze (duże odstępstwa powinny być w tym przypadku podstawą do weryfikacji), na podstawie których wyciągnięto następujące wnioski:

- frakcja objętościowa (BV/TV), kluczowy w badaniu relacji struktury z właściwościami, jest silnie skorelowana z powierzchnią BS ( $r = 0,85$ ), w tym powierzchnią na objętość całego obszaru BS/TV ( $r = 0,87$ ), także klasycznym współczynnikiem typu struktury SMI ( $r = -0,89$ ), słabiej skorelowana z powierzchnią na objętość kości BS/BV ( $r = -0,64$ ), oraz z rozmiarami beleczek Tb.Th ( $r = 0,69$ ) i porów Tb.Sp ( $r = -0,70$ ), jak również całkowicie niezależna od gęstości połączeń Conn.D ( $r = 0,05$ ), nowego współczynnika typu struktury EF\* ( $r = 0,04$ ) i stopnia anizotropii DA ( $r = -0,40$ ),
- SMI obok wykazanej silnej korelacji z BV/TV, jest zależny również od BS/BV ( $r = 0,82$ ) oraz Tb.Th ( $r = -0,78$ ), dlatego parametr ten nie powinien być uwzględniony w dalszej analizie, pozostając w zgodzie z tendencją do wykluczenia tego parametru z badań w doniesieniach literaturowych z ostatnich lat [170, 169],
- EF\*, w przeciwieństwie do SMI, wykazuje brak silnych korelacji z pozostałymi parametrami, podobnie jak w przypadku Conn.D oraz DA, dając podstawę do uwzględnienia wszystkich tych parametrów w dalszej analizie,
- BS/TV obok silnej korelacji z BV/TV, jest zależny od Tb.Sp ( $r = -0,84$ ), z kolei BS/BV nie wykazuje tych korelacji, można więc uznać wskazanie do wykorzystania go w analizie jako parametru reprezentującego powierzchnię, w przeciwieństwie do BS/TV oraz BS,
- Tb.Th, pomimo silnej korelacji z BS/BV ( $r = -0,93$ ), w analizowanym zbiorze danych nie okazał się być silnie liniowo zależny od znormalizowanej gęstości BV/TV, w odróżnieniu od niektórych doniesień literaturowych [27], stąd też przesłanka do uwzględnienia go w dalszej analizie wraz z parametrem Tb.Sp.

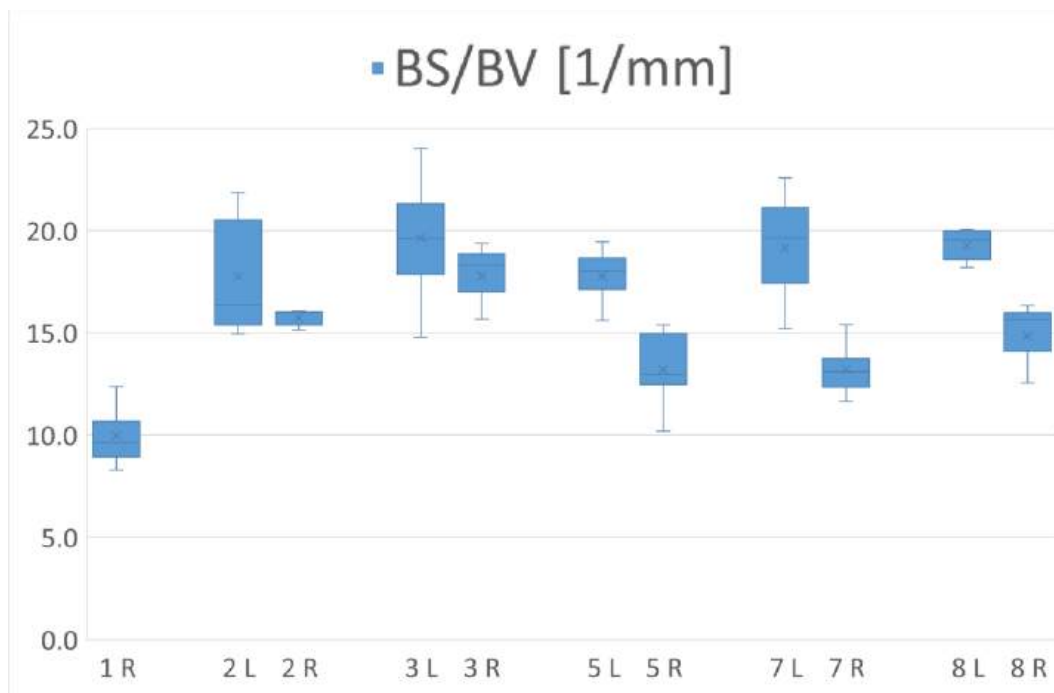
Na bazie zaprezentowanych rozważań w dalszej analizie uwzględniono 7 parametrów z 3 grup:

- morfologiczne: BV/TV (kluczowy parametr morfometryczny), BS/BV, Tb.Th, Tb.Sp,
- topologiczne: Conn.D, EF\* (alternatywna metoda wyznaczania w stosunku do oryginalnej),
- teksturowe: DA (bez zestawienia wartości własnych  $m_i$  z racji lokalnej zmiany ich wartości),

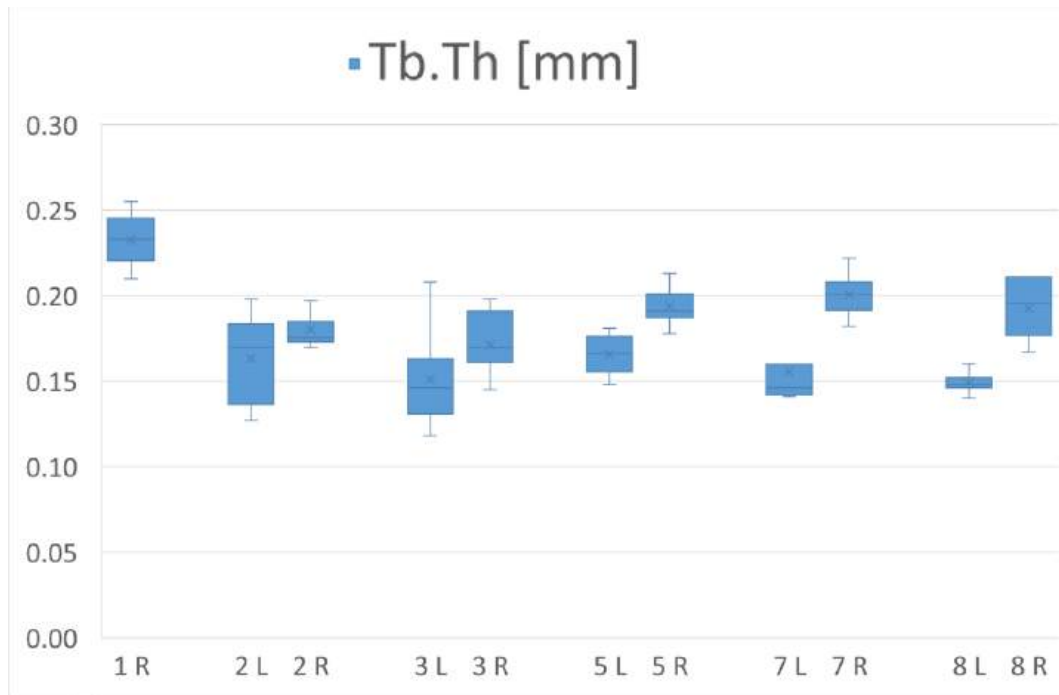
wykluczając z analizy następujące parametry: BS, BS/TV oraz SMI. Na rysunkach 5.13, 5.14, 5.15, 5.16, 5.17, 5.18, 5.19 umieszczono zestawienie uśrednionych wyników analizy morfometrycznej dla wyznaczonych parametrów w oparciu o dane obrazowe danych próbek kości. Zbiorcze zestawienie tabelaryczne wyników dla wszystkich próbek kości zawarto w dodatku B.



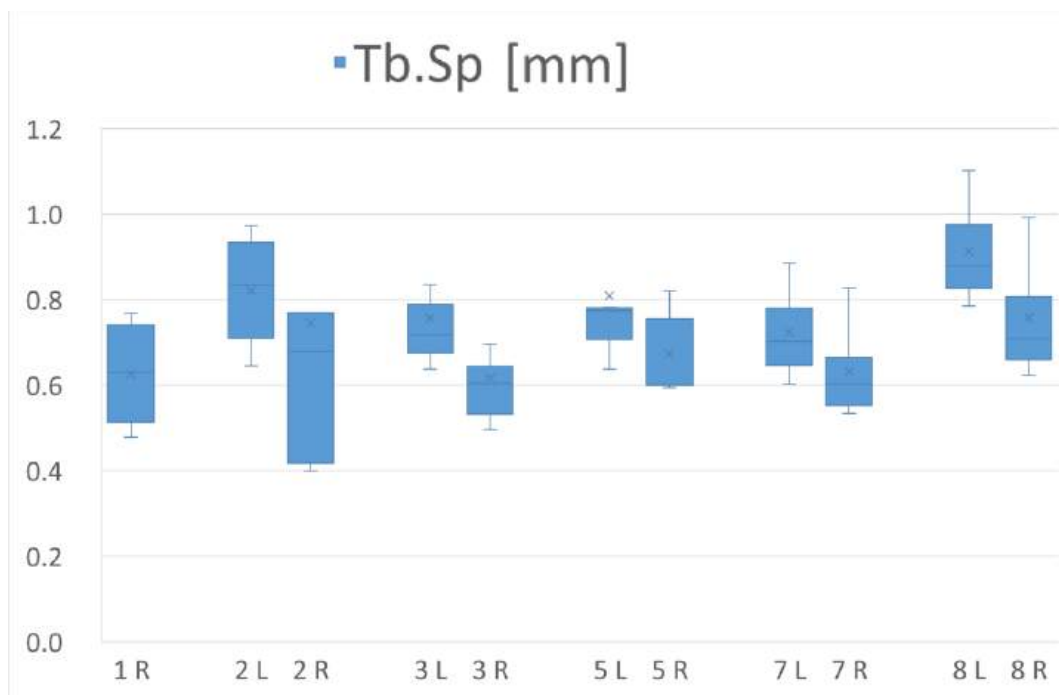
Rysunek 5.13. Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej frakcji objętościowej (BV/TV).



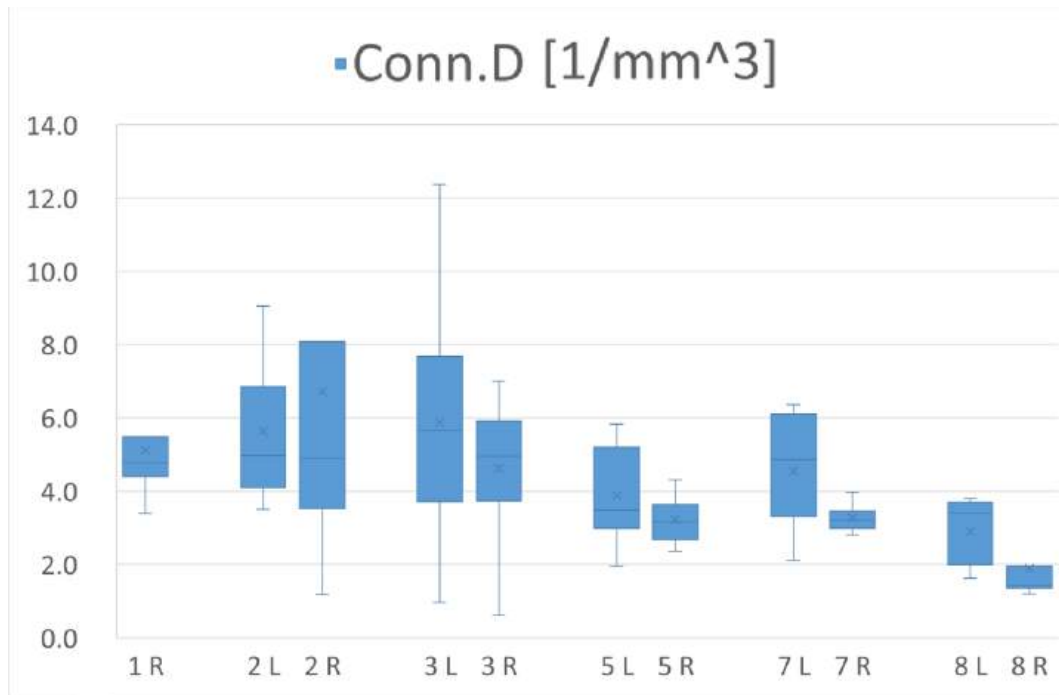
Rysunek 5.14. Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej powierzchni na objętość kości (BS/BV).



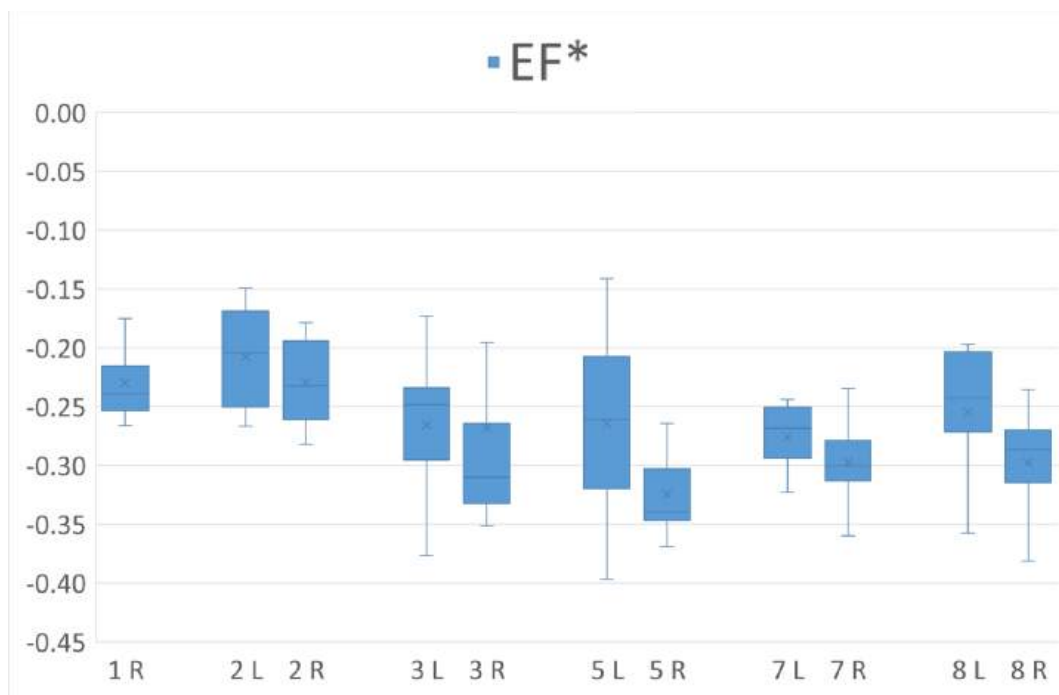
Rysunek 5.15. Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej grubości beleczek (Tb.Th).



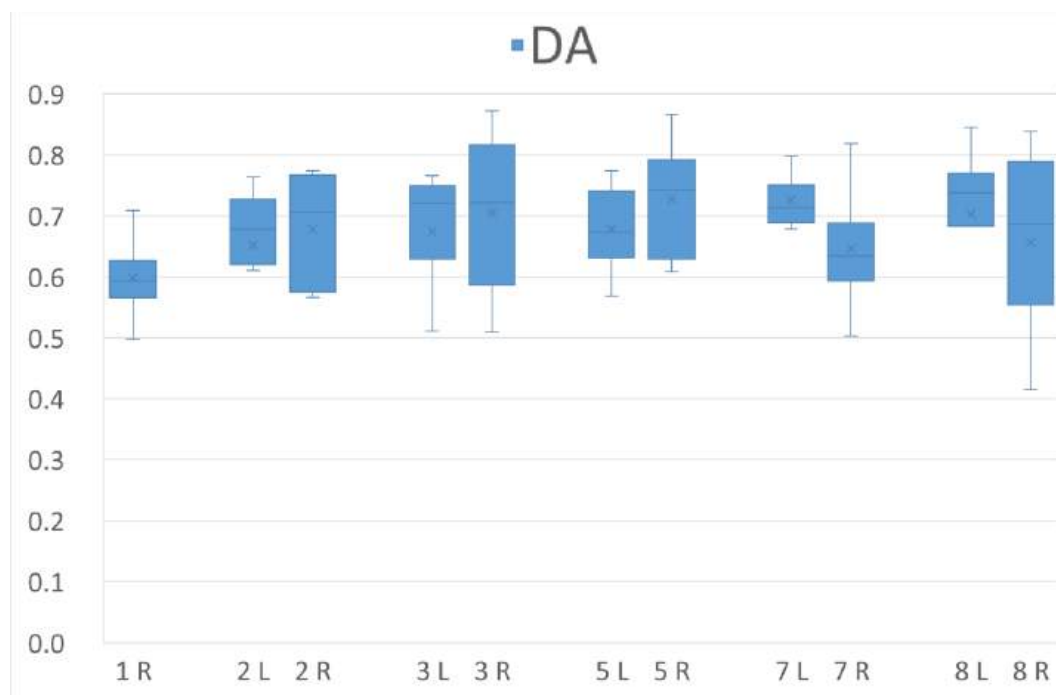
Rysunek 5.16. Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej odległości beleczek (Tb.Sp).



Rysunek 5.17. Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej gęstości połączeń (Conn.D).



Rysunek 5.18. Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej współczynnika typu struktury (EF\*).



Rysunek 5.19. Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej stopnia anizotropii (DA).

Spodziewając się zróżnicowanych wyników w analizie uwzględniono podział wyników dla wołowych kości udowych (anatomiczny koniec bliższy kości) pobranych z 6 krów w różnym wieku (1, 2, 3, 5, 7, 8 lat) na 2 zgrupowane obszary - część „prawą” (R) obejmującą szyjkę i głowę kości oraz pozostałą „lewą” (L) (zgodnie z pomiarami). Szczegóły dotyczące pomiarów mikrotomograficznych struktur kości zawarto w rozdziale 3. Z powodów anatomicznych, w tym głównie ilości chrząstki nasadowej, dla kości osobnika jednorocznego otrzymano zbyt małą statystykę dla grupy L (pojedyncza jednorodna wycięta próbka z tego obszaru), dlatego nie uwzględniono tego wyniku na uśrednionych wykresach.

Z generalnego porównania wyników analizy morfometrycznej, na podstawie wartości średnich można wnioskować o mniejszej frakcji objętościowej (niższe wartości  $BV/TV$ ), większej powierzchni na objętość kości (wyższe wartości  $BS/BV$ ), cieńszych beleczkach kostnych (niższe wartości  $Tb.Th$ ) oraz większych odległościach pomiędzy beleczkami (wyższe wartości  $Tb.Sp$ ), jak również większej gęstości połączeń (wyższe wartości  $Conn.D$ ), a także mniejszej blaszkowości (wyższe wartości  $EF^*$ ), zestawiając próbki pobrane z lewej i prawej strony końca bliższego kości udowej. Wzbogacając tę wiedzę o informacje o parametrach dla konkretnych próbek i ich teksturze, można bezpośrednio wskazywać jakim typom obciążeń poddane były układy beleczek. Na rysunku 5.7 pokazującym obraz próbki pobranej z prawej strony kości udowej (przekroje oraz rekonstrukcję 3D), beleczki są mocno wydłużone, wyraźnie wykazując jeden charakterystyczny kierunek, więc można założyć, że obszar był poddawany sile rozciągającej. Zgadza się to z weryfikacją umiejscowienia próbki uzyskaną na podstawie automatycznej rejestracji (opis w podrozdziale 4.4.2) oraz funkcją tej części wołowej kości udowej.

Szczegółowa analiza uśrednionych wyników morfometrii, oraz wartości odchyłeń pozwala na wyciągnięcie następujących wniosków dla poszczególnych parametrów:

- BV/TV: wyłączając skrajny przypadek krzywa rosnąca i spadająca dla BV/TV z wiekiem (wzrost i stabilizacja podczas dorastania, spadek masy kostnej wskutek starzenia), podobnie jak w przypadku pomiarów gęstości z podrozdziału 3.4.2, duża rozpiętość dla prawej strony i mała zwłaszcza dla starszych kości, generalna duża rozpiętość;
- BS/BV: tendencja do większej różnicy powierzchni na objętość kości w miarę starzenia osobnika;
- Tb.Th: oprócz stosunkowo wysokiej wartości grubości beleczek dla najmłodszego osobnika, zakresy wartości kształtują się na podobnych poziomach wraz ze starzeniem się, z zachowaniem różnicy pomiędzy wartościami dla strony lewej i prawej;
- Tb.Sp: w przeciwieństwie do grubości beleczek, odległości pomiędzy nimi przyjmują wartości z relatywnie większych zakresów, osiągając największe wartości dla najstarszego osobnika, kiedy procesy przebudowy struktury kości zwiększają swoją aktywność;
- Conn.D: bardzo duża rozpiętość wartości dla osobnika w wieku 3 lat (od najniższych do zdecydowanie najwyższych ze wszystkich próbek i kości) jest osobliwa, choć zauważalna jest tendencja do tego że ta rozpiętość dla starszych osobników jest coraz mniejsza wraz z ich starzeniem;
- EF\*: krzywa spadająca i rosnąca z wiekiem z uzyskanymi wartościami ujemnymi, zatem struktury blaszkowe, zgodne z charakterystyką mikrostruktury kości udowej z literatury [214], co można ocenić również wizualnie na przykładzie określonych obrazów struktur jak na rysunku 5.7;
- DA: struktury anizotropowe (przy wartościach powyżej 0,5), choć rozpiętość dla prawej części kości stosunkowo duża (większa heterogeniczność obszarów, zgodne z charakterystyką frakcji objętościowej), oraz tendencja do większej różnicy pomiędzy wartościami stopnia anizotropii dla lewej i prawej strony w miarę starzenia osobnika, a także odwrócenie relacji (najpierw mniejsze po lewej, później po prawej).

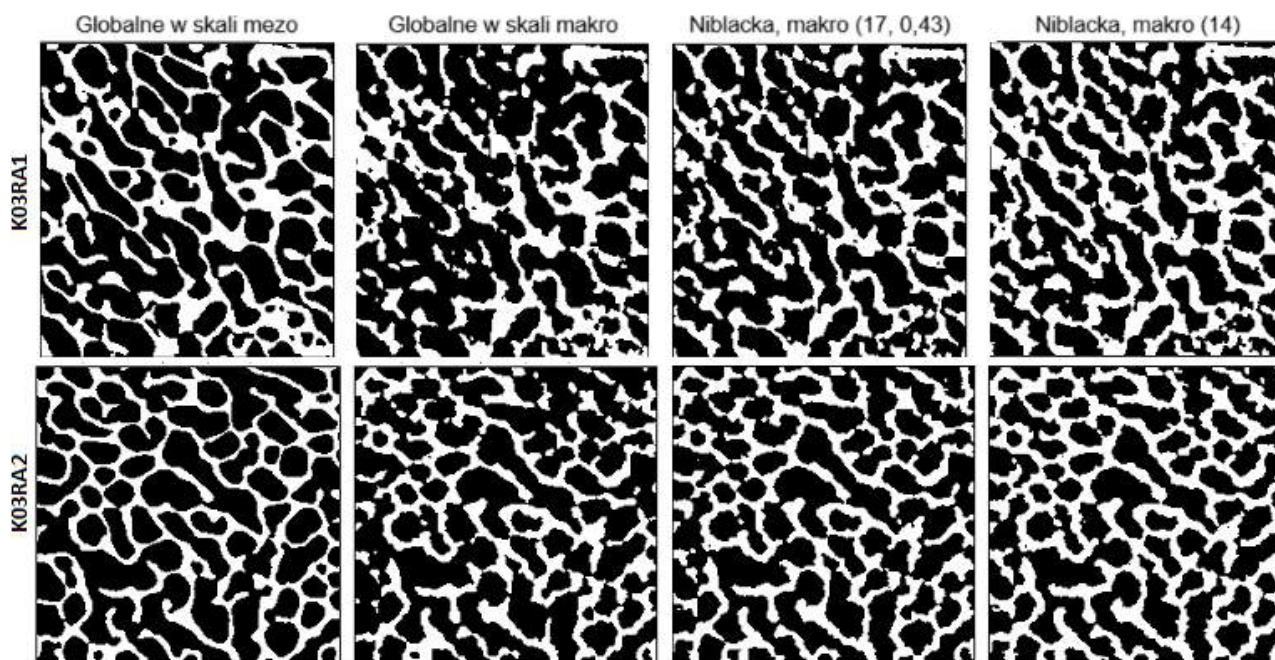
Wołowe kości udowe okazały się być odpowiednimi do celów zakładanych w badaniu, ponieważ cechują się dużym zróżnicowaniem w mikrostrukturze, zwłaszcza w przypadku frakcji objętościowej. W porównaniu do poprzednich badań, w których identyfikowano BV/TV jako parametr silnie powiązany z wytrzymałością kości, niniejsze opracowanie pozwoliło na analizę szerszego zakresu wartości parametru dla kości gąbczastej z przedziału  $[0,09 - 0,43]$ .

#### 5.4.2. Weryfikacja progowania

Na podstawie wyników analizy morfometrycznej wybranych parametrów dokonano wyboru (optymalizacji) parametrów progowania lokalnego, w tym w szczególności metody Niblacka (z uwzględnieniem konieczności usunięcia punktów rozłączonych fragmentów, będących wynikiem progowania). Dobór wartości parametrów w przypadku progowania lokalnego był zre-



alizowany na podstawie przeszukania przestrzeni parametrów i oceny wyników na podstawie zbieżności wartości analizy morfometrycznej w skali mezo i makro. Na bazie wstępnych założeń dotyczących wielkości analizowanych obszarów, przyjęto wartość promienia lokalnego otoczenia z zakresu 14–17 pikseli. Przykładowy wynik takiej analizy dla dwóch różnych obszarów kości gąbczastej został zilustrowany na rysunku 5.20. Ostatecznie do dalszych obliczeń została dobrana wartość parametru  $k = 0,43$  oraz promień lokalnego otoczenia równy 17 pikseli, a wartość parametru  $c = 0$  pozostawiona tak jak w oryginalnej implementacji algorytmu Niblacka 5.1. Przykładowe wyniki analizy morfometrycznej dla wybranych parametrów w skali mezo i makro dla jednego z badanych obszarów kości gąbczastej (K03RA1) i przyjętych wartości zostały zamieszczone w tabeli 5.3. Wybór określonych parametrów morfometrycznych (BV/TV, DA,  $m_i$ ) został podyktowany ich znaczeniem w dalszej części modelowania właściwości, w tym głównie założeń modelu Zysseta–Curniera. Poszerzona analiza potwierdziła obserwacje dotyczące zasadności zastosowania różnych parametrów dla konkretnej metody progowania lokalnego, aby zminimalizować różnice dla danych z różnych skal pomiarowych, pomiędzy wartościami referencyjnymi z wyższej ( $6,5\ \mu\text{m}$ ) i weryfikowanymi z niższej rozdzielczości ( $45,6\ \mu\text{m}$ ). Różnice te wynikały z charakterystyki progowania dla danych w niższej rozdzielczości i stanowiły motywację do efektywnego wykorzystania metod progowania lokalnego. Tego typu różnic w wartościach nie zaobserwowano przy zastosowaniu progowania globalnego i lokalnego dla danych pochodzących ze skali mezo, uzyskanych pierwotnie w wyższej rozdzielczości.



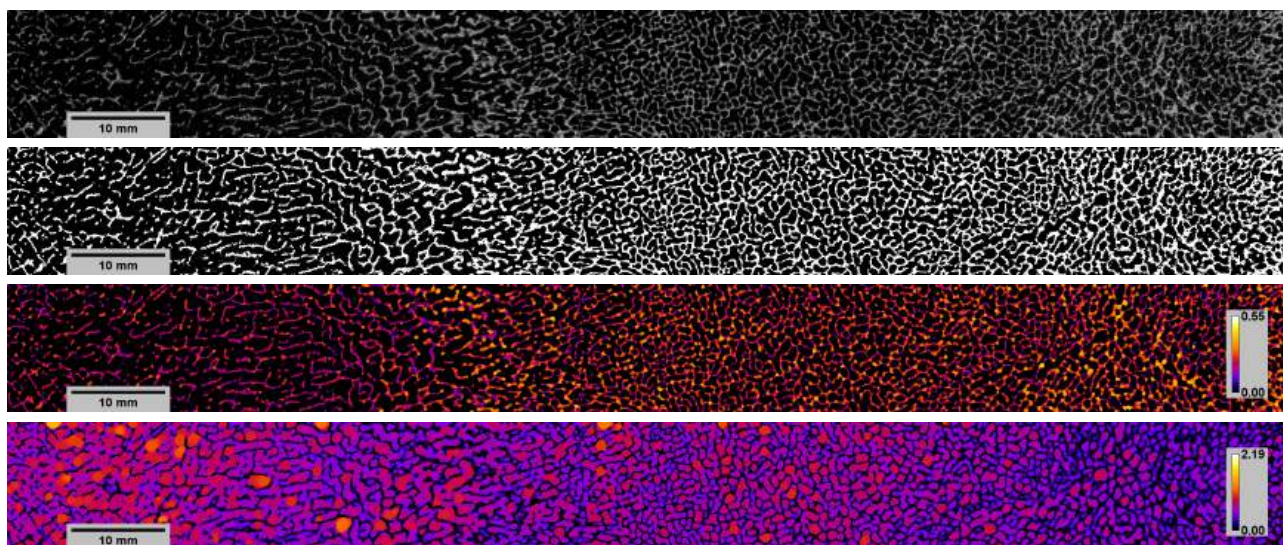
Rysunek 5.20. Zestawienie obejmujące wyniki progowania globalnego i lokalnego dla 2 różnych objętości reprezentatywnych kości gąbczastej (K03RA1, K03RA2) wypreparowanych z danej kości makroskopowej (K03). Od lewej: wynik progowania globalnego dla danych w wyższej rozdzielczości w skali mezo ( $6,5\ \mu\text{m}$ ), oraz danych z niższej rozdzielczości w skali makro ( $45,6\ \mu\text{m}$ ), a następnie progowania lokalnego Niblacka z użyciem 2 różnych zestawów parametrów (promień otoczenia, parametr  $k$ ).

Tabela 5.3. Wyniki analizy morfometrycznej dla wybranych parametrów w skali mezo (6,5  $\mu\text{m}$ ) i makro (45,6  $\mu\text{m}$ ) dla jednego z obszarów kości gąbczastej (K03RA1). Wyznaczone i zestawione zostały wartości frakcji objętościowej (BV/TV), stopnia anizotropii (DA) i wartości własne  $m_i$  tensora struktury  $\mathbf{M}$ . Wzięto pod uwagę wartości wyznaczone jako referencję z użyciem progowania globalnego dla obszaru w oryginalnej skali mezo (1), rozdzielczości 7-krotnie zmniejszonej (\*), w celu otrzymania rozdzielczości tożsamej ze skalą makro, z uwzględnieniem różnej kolejności binaryzacji i reskalowania (2–3), a także zastosowaniem dwóch metod progowania lokalnego, metody Niblacka z dopasowanymi parametrami (4) i oryginalnej metody Phansalkara (5). Zestawienie uzupełniono wynikami dla danych zobrazowanych w skali makro po zastosowaniu filtru medianowego, w tym z użyciem progowania globalnego (6), metody Niblacka (7), oraz metody Phansalkara (8).

	Skala	Woksel	Metoda	Kolejność	BV/TV	DA	$m_3$	$m_2$	$m_1$
1	mezo	6,5 $\mu\text{m}$	Globalna	Binaryzacja	0,335	0,520	0,665	0,948	1,387
2		45,5 $\mu\text{m}$ *			0,335	0,560	0,621	0,956	1,423
3				Reskalowanie	0,336	0,560	0,645	0,935	1,419
4			Niblacka	Binaryzacja	0,331	0,560	0,632	0,947	1,421
5			Phansalkara		0,364	0,550	0,645	0,935	1,419
6	makro	45,6 $\mu\text{m}$	Globalna		0,437	0,470	0,706	0,988	1,306
7			Niblacka		0,343	0,460	0,706	0,988	1,306
8			Phansalkara		0,446	0,470	0,708	0,978	1,315

Analizując dane z tabeli 5.3 warto przede wszystkim podkreślić, że podejścia z progowaniem globalnym oraz lokalnym z użyciem metody Phansalkara istotnie zawyżały wartości frakcji objętościowej dla danych z niższej rozdzielczości, czego nie wykazano dla progowania lokalnego z użyciem metody Niblacka. Pomiarów morfometrycznych wykonano również dla pozostałych wyodrębnionych w dwóch skalach obszarów, a także analizując większe ciągłe obszary kości gąbczastej, przechodząc ze skali mezo na skalę makro. Na podstawie wybranych parametrów wyznaczonych dla ciągłych obszarów danych pomiarowych w niższej rozdzielczości utworzono mapy ukazujących stopień ich homogeniczności. Przebiegi dla danych w skali szarości z  $\mu\text{CT}$  oraz wyniki binaryzacji z naniesionymi mapami parametrów morfologicznych (BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp) dla ciągłego obszaru z kości makroskopowej (K03) zaprezentowano na rysunku 5.21.

Na mapach zilustrowano naniesione wyniki analizy morfometrycznej tych parametrów, których charakterystyki były interesujące w ujęciu lokalnym w kontekście homogeniczności obszarów (Tb.Th, Tb.Sp). Na zaprezentowanych mapach można zaobserwować charakterystyczne płynne przejścia właściwości i struktury kości (np. od lewej do prawej strony), widoczne zarówno dla struktur bezpośrednio po binaryzacji (graficzna reprezentacja frakcji objętościowej), jak również na mapach ukazujących zróżnicowanie rozmiarów beleczek i porów dla podobszarów. Założenia tego typu analizy uwzględniającej lokalne charakterystyki zostały uprzednio zilustrowane na rysunku 5.6. Badanie tego rodzaju było jedną z podstaw do określenia homogeniczności poszczególnych podobszarów w celu interpretacji wyników analizy morfometrycznej przed i po cyfrowym wycięciu uwzględniającym kierunek głównych osi anizotropii.



Rysunek 5.21. Mapy ciągłych obszarów kości w skali makro (K03), ukazujących stopień homogeniczności. Płynne przejścia mikrostruktury (np. od lewej do prawej strony) widoczne szczególnie w przypadku wartości frakcji objętościowej, oraz porowatości dla poszczególnych obszarów kości.

## 5.5. Dyskusja

Definicja i selekcja morfologicznych, topologicznych i teksturowych parametrów oraz określenie korelacji dla otrzymanych wyników analizy w skali mezo (poziom mikrostruktury), pozwoliły na otrzymanie zestawu 7 reprezentatywnych parametrów z wymienionych trzech kategorii (BV/TV, BS/BV, Tb.Th, Tb.Sp, Conn.D, EF\*, DA). W porównaniu do poprzednich opracowań, w których także zakładano silną zależność frakcji objętościowej od właściwości mechanicznych kości, opisywane podejście bazujące na wykorzystaniu kości zwierzęcych danego rodzaju z różnych okresów życia osobnika pozwala na wykorzystanie szerszego zakresu zmienności danego parametru. Wobec dużego zróżnicowania mikrostruktury, w tym szczególnie w zakresie frakcji objętościowej, wołowe kości udowe okazały się być odpowiednie do zakładanych celów opracowania, podobnie jak w pracy [42], w której zaprezentowano wyniki zbieżne z otrzymanymi w niniejszym opracowaniu. Jednak w przypadku tego typu badań jak w przytoczonej pracy, choć wykonywanych w ostatnim czasie, stosuje się wciąż nieoptymalny wybór parametrów morfometrycznych, bez uwzględnienia analiz z najnowszych doniesień literaturowych w tej tematyce. Zestawiając wyniki zaprezentowane w opisywanym rozdziale z ostatnimi doniesieniami wykorzystującymi selekcję parametrów morfometrycznych dla danych na bazie obrazowania tomograficznego kości gąbczastej, w tym w szczególności pracy [169], należy podkreślić zasadność wykluczenia z dalszej analizy szeregu parametrów. Parametr SMI, jako dotychczas złoty standard dla określania kształtu geometrii, wykorzystywany jest w wielu opracowaniach, w tym we wspomnianej pracy [42] dla wołowych kości udowych. Podejście to zweryfikowano w niniejszym opracowaniu na podstawie określenia korelacji parametru SMI z innymi, w tym BV/TV jako kluczowego w kontekście przewidywania właściwości na podstawie zbadania struktury. Taki

wyбір wzmacnia linia argumentów z dedykowanych opracowań w literaturze wraz ze wskazaniem alternatywnych podejść do określania kształtu geometrii, w tym metody pozwalającej na wyznaczenie parametru EF [39, 170]. Również parametr Tb.N jako zależny od parametrów Tb.Th i Tb.Sp, określających w sposób klasyczny beleczki kostne i ich wzajemne odległości, w przypadku analizy z wykorzystaniem ich definicji w oparciu o bezpośrednie metody trójwymiarowe powinien być wykluczony z opracowań, mogąc być wprost wyznaczonym na podstawie wartości wymienionej dwójki parametrów. Także wykluczenie wymiaru fraktalnego, na podstawie argumentacji o trudności w interpretacji z racji niskiej zmienności wartości w przypadku kości, potwierdzone jest w wyborze dokonany w pracy [169].

W ramach opracowania na podstawie analizy korelacji statystycznych wyselekcjonowano ostatecznie zestaw kluczowych parametrów morfometrycznych, których wartości miały posłużyć do dalszej analizy, w tym również te w oparciu o które definiuje się model Zysseta–Curniera. Nie zdefiniowano i nie dodawano jednak żadnego nowego parametru morfometrycznego, korzystając z definicji wielkości dotychczas opisanych w literaturze. Aczkolwiek każda nowa zmienna dodana do modelu globalnego, w tym w szczególności do modelu Zysseta–Curniera przewidującego właściwości mechaniczne na podstawie zależności od frakcji objętościowej (BV/TV) i anizotropii ( $m_i$ ), może zostać potencjalnie zanalizowana pod tym kątem. Dodatkowy wkład zapewniony przez każdą taką zmienną do globalnego modelu może być zbadany z użyciem analizy wariancji (ANOVA) i zdefiniowany jako procentowe zróżnicowanie wyjaśnione przez nowo wprowadzaną zmienną. W przypadku części specjalistycznych opracowań opartych na szczegółowej analizie morfometrycznej dla kości gąbczastej stosuje się tego typu podejście [54]. W przypadku opracowań bazujących na selekcji parametrów wykorzystuje się również dedykowane metody: analizę głównych składowych (ang. *principal components analysis*, PCA) oraz czynnik inflacji wariancji (*variance inflation factor*, VIF), nazywany też testem współliniowości. Ich implementację można odnaleźć w repozytorium oprogramowania R do analizy statystycznej (dedykowane pakiety *princomp*, *vif*). Gdy na podstawie analizy statystycznej uzyskuje się wysokie korelacje pomiędzy zmiennymi, można przeprowadzić ich selekcję na podstawie wyznaczenia czynnika inflacji wariancji (VIF), aby wskazać zmienne niezależne oraz uniknąć wieloliniowości i nadmiernego dopasowania danego modelu. W praktyce zmienne z wysoką wartością VIF, oprócz parametru frakcji objętościowej (BV/TV), który jest najlepszym wyznacznikiem właściwości mechanicznych, są sukcesywnie usuwane z układu wieloregresji liniowej, który oryginalnie zawierał wszystkie parametry morfometryczne, a wartość VIF jest ponownie wyznaczana dla pozostałych po każdej eliminacji. Ostatecznie parametry dla których wartość VIF pozostaje mniejsza od 4, są określane jako niezależne i wprowadzane do nowej wieloregresji liniowej globalnego modelu [122]. Współczynnik VIF określa występowanie wieloliniowości, obniżając wiarygodność szacunków, stąd aby zrównoważyć ten problem, w praktyce przy regresji stosuje się analizę głównych składowych (PCA), po to by zredukować liczbę składowych. Na podstawie zaawansowanych podejść tworzy się również mapy uwzględniające wartości współczynnika zmienności (ang. *coefficient of variation*, CV) dla określonych parametrów, z zestawieniem dla

tożsamych obszarów kości z różnych osobników, w tym w szczególności dla danych uzyskanych na podstawie obrazowania kości udowych i kręgow [71], tak aby uwzględnić w szczegółowej analizie lokalne zależności.

W przypadku opisywanego opracowania, obok analizy mikrostruktury na podstawie danych z wysokiej rozdzielczości (skala mezo), w oparciu o podejście lokalne do progowania i kalibrację parametryzacji, wartości wybranych parametrów (BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp, DA) wyznaczono również dla danych pomiarowych z niższej rozdzielczości (skala makro). Dzięki temu możliwa była generacja map zmienności parametrów dla ciągłych obszarów, ukazując ich stopień heterogeniczności w określonych miejscach, co stanowiło punkt wyjścia w rozważaniach w przypadku selekcji obszarów przy analizie właściwości mechanicznych (podrozdział 6.4.2). Płynne przejścia właściwości mikrostruktury, są widoczne dla podobszarów zarówno w przypadku wartości frakcji objętościowej, jak i rozmiarów (grubość beleczek i odległość międzybeleczkowa). Poszerzona analiza tego rodzaju nie była celem opracowania, ale w przyszłości na bazie zgromadzonych danych można wykonać szczegółową analizę zmian, w której obok frakcji objętościowej i rozmiarów podda się szczegółowej analizie np. płynną zmianę anizotropii [180].

W prezentowanej metodologii uwzględniono etap cyfrowego usunięcia rozłącznych fragmentów struktur kostnych, zarówno przez wzgląd na wycięcie fizyczne próbek, jak również docięcie cyfrowe - dla obu z nich występuje wysokie prawdopodobieństwo wystąpienia owych fragmentów. W analizie zdecydowano się zachować beleczki kostne połączone z resztą struktury, ale nie posiadające dalszego połączenia (ang. *trabecular termini*). W literaturze można natrafić na hipotezy rekomendujące nie branie również ich pod uwagę, np. w kontekście analizy anizotropii, w tym w szczególności wyznaczania tensora struktury, ponieważ ich wkład do określania właściwości mechanicznych jest mocno ograniczony [127].

W dyskusji w podrozdziale 3.5 o wyborze geometrii próbek kości wskazane zostały określone rozmiary i zbliżony do sześcianu o boku 10 mm prostopadłościenny kształt próbek kości, tak aby uwzględnić wymagania eksperymentalne i symulacyjne. Dzięki temu wyborowi możliwa była również analiza morfometryczna obrazów z obszarami kości w pierwotnych wymiarach oraz po ich obrocie i docięciu uwzględniającym zorientowanie zgodne z głównymi osiami anizotropii, tak aby obszary pomimo docięcia nadal zachowały rozmiary reprezentatywne. Konwencjonalnie stosuje się w tym celu automatyzację procesu wycięcia, przy założeniu stałej objętości reprezentatywnej odpowiadającej reprezentatywnemu sześciennemu obszarowi, zwykle o boku 5 mm [155, 156]. W niniejszym opracowaniu w tym celu wykorzystano autorskie podejście łączące wyznaczenie macierzy transformacji odpowiadającej minimalnemu obrotowi przetwarzanej struktury, a co za tym idzie eliminację problemu niejednoznacznego rezultatu metody MIL (*ImageJ*, wtyczka *BoneJ*), wraz z maksymalizacją wielkości wycinanego obszaru oraz zmianą metody interpolacji. Modyfikacje doboru obrotu oraz rozmiarów docelowego obszaru umożliwiły otrzymanie reprezentatywnej objętości prostopadłościannu wpisanego w analizowany obraz 3D, o wycięciu zgodnym z orientacją jego osi, zachowując możliwość automatyzacji procesu. Miało to duże znaczenie, wobec konieczności zautomatyzowanej korekty orientacji dla wielu wyciętych

obszarów z kością gąbczastą, niezbędnej aby móc je wykorzystać w dalszej analizie. W szczególności było to istotne dla symulacji MES testów obciążeniowych w skali mezo na podstawie automatycznej generacji siatek obliczeniowych i warunków brzegowych (podrozdział 6.2.2).

Możliwość uzyskania obrazów 3D z pomiarów tomograficznych dla tych samych obszarów w dwóch różnych rozdzielczościach, odpowiadających skali mezo i makro, pozwoliła na potraktowanie wartości kluczowych parametrów morfometrycznych wyznaczonych dla danych z wyższej rozdzielczości jako referencyjnych przy doborze parametrów progowania z niższej. Wzięto pod uwagę to, że analiza morfometryczna zbinaryzowanych obrazów z danymi pomiarowymi po zmniejszeniu ich rozdzielczości jest podatna na błędy, których wpływ daje się oszacować i rośnie wraz ze wzrostem współczynnika skalującego, dlatego do oceny wyboru użytej metody progowania wykorzystano obrazy w najwyższej rozdzielczości. Należy zaznaczyć, że choć dobór wartości parametrów w przypadku określonej rodziny metod progowania lokalnego był wyznaczony na podstawie prostego przeszukania dostępnej przestrzeni to nie jest to docelowe rozwiązanie. Na bazie wstępnych wniosków rozpoczęto prace z wykorzystaniem metod optymalizacyjnych w celu formalnego uzasadnienia ich zakresu i doboru w końcowym podejściu dla wszystkich opisywanych metod progowania lokalnego wywodzących się od podstawowej metody bazującej na średniej wartości jasności. Jednak wykorzystanie oceny wyników na podstawie zbieżności wartości analizy morfometrycznej w skali mezo i makro pozwoliło na otrzymanie satysfakcjonujących wyników dalszych etapów opracowanej metodologii. Warto zaznaczyć też, że w przypadku kalibracji progowania lokalnego zdecydowano się na wybór kluczowych parametrów morfometrycznych biorąc pod uwagę określone dalsze etapy analizy. W szczególności symulacje MES oraz wykorzystanie modelu Zysseta–Curniera przewidującego właściwości mechaniczne na podstawie określonych parametrów ( $BV/TV$ ,  $m_i$ ) opisane w rozdziale 6, wymagały precyzji przetwarzania obrazów, tak aby osiągnąć satysfakcjonującą wiarygodność wyników modelowania wieloskalowego opisanego w rozdziale 7.

Uzyskane w trakcie opisywanych badań źródłowe obrazy z obszarami kości gąbczastej mogą posłużyć do analizy zasadności uwzględnienia w modelu globalnym przewidywania właściwości mechanicznych nowo-wprowadzanych parametrów, czy też wpływu wyboru metody i parametrów progowania na inne parametry morfometryczne w trakcie rozszerzonych opracowań. Z kolei uzyskana autorska metodologia przetwarzania danych uwzględniająca proces binaryzacji na podstawie progowania, tak globalnego jak i lokalnego, może zostać równoległe zmodyfikowana do poszerzenia stanu wiedzy na temat wykorzystania metod analizy morfometrycznej niewymagających binaryzacji dla uzyskanych obrazów (dane w skali szarości). Aktualnie badania nad metodami anizotropii skupiają się wokół opracowania skutecznej metody dla struktur kostnych bezpośrednio w skali szarości, co pozwala przewidywać, że złoty standard w postaci analizy metodą MIL będzie zastąpiony standardem w tym nowym podejściu w najbliższej przyszłości [127, 187]. W kontekście wyznaczania kierunkowości połączeń międzybeleckowych, metoda GMIL zaczyna być określana jako nowy standard o takim profilu, z potencjałem na zastąpienie metody MIL w przyszłości [186], o ile dojdzie do rozpropagowania jej założeń i oryginalnej

implementacji, a także szerszych zestawień i porównań z dotychczas wykorzystywanymi metodami określania anizotropii. Oryginalna implementacja metody została w ostatnim czasie udostępniona publicznie<sup>3</sup>. Warto dodać, że dostęp do niej można było do niedawna uzyskać jedynie na podstawie bezpośredniej korespondencji z autorem, wraz z komentarzami dotyczącymi stosowania tensorów  $\mathbf{M}$  wyższych rzędów (np. 4-tego) w kontekście udokładnienia przewidywań właściwości mechanicznych na podstawie analizy morfometrycznej dla danych w niższych rozdzielczościach niż osiągalne dzięki mikrotomografii [129].

Ocena struktur z  $\mu$ CT zestawiana jest często z obrazami na bazie tomografii *in vivo* w wysokorozdzielczych technikach CBCT i HR-pQCT. W przypadku tego typu badań, przy niższych niż w przypadku  $\mu$ CT rozdzielczościach, wykonanie binaryzacji na podstawie progowania globalnego nie jest efektywnym podejściem. Wykorzystuje się jednak z powodzeniem metody progowania lokalnego dla szerokiego zakresu zmienności mikrostruktury dla kości udowych, promieniowych i kręgow [132, 98, 97]. Wyzwaniem na przyszłość będzie badanie jakości kości z obrazowania *in vivo* przy zróżnicowanych rozdzielczościach, z tą samą bądź wyższą dokładnością jak w przypadku konwencjonalnych eksperymentalnych metod inwazyjnych. Tego typu podejście będzie kluczowe do szerokiego wprowadzenia do praktyki klinicznej, w kontekście chorób kości, oceny tak znaczącego wyznacznika wytrzymałości kości jak mikrostruktura [26].

Dlatego planuje się udostępnienie publicznie uzyskanych danych obrazowych w formie otwartego repozytorium, wraz z dołączeniem szczegółowych wyników analizy morfometrycznej i korelacji statystycznych, a także oskrytowaniem wykorzystanym do uzyskania wyników analizy, tak aby można ją było sprawdzić na większej statystyce w przyszłości i wykorzystać do opracowań rozszerzających obszar zastosowań. Należy również zaznaczyć, że opracowana i opisana metodologia z wykorzystaniem darmowego oprogramowania (*ImageJ*, wtyczka *BoneJ*), uwzględniając zaimplementowane modyfikacje analizy wyników anizotropii, pozwala nie tylko na automatyzację pełnej analizy morfometrycznej (oceny ilościowej mikrostruktury), ale również tworzenie w taki sposób dokumentacji, w tym dedykowanego raportu z wyznaczonymi wartościami. Tego typu możliwości dostępne są zwykle jedynie w oprogramowaniu komercyjnym, w tym np. w pakietach *medtool* (począwszy od wersji 4.0) i *CT-Analyser* [19]. Rezultaty użycia opracowanej i scharakteryzowanej w powyższym rozdziale metodologii w części dotyczącej analizy morfometrycznej zostały zaadaptowane do zbadania określonych struktur kości i opublikowane w pracach [90, 99]. Metody progowania lokalnego struktur kostnych po adaptacji pod struktury kości i zębów zostały zastosowane w opracowaniach zamieszczonych w pracach [89, 62, 104].

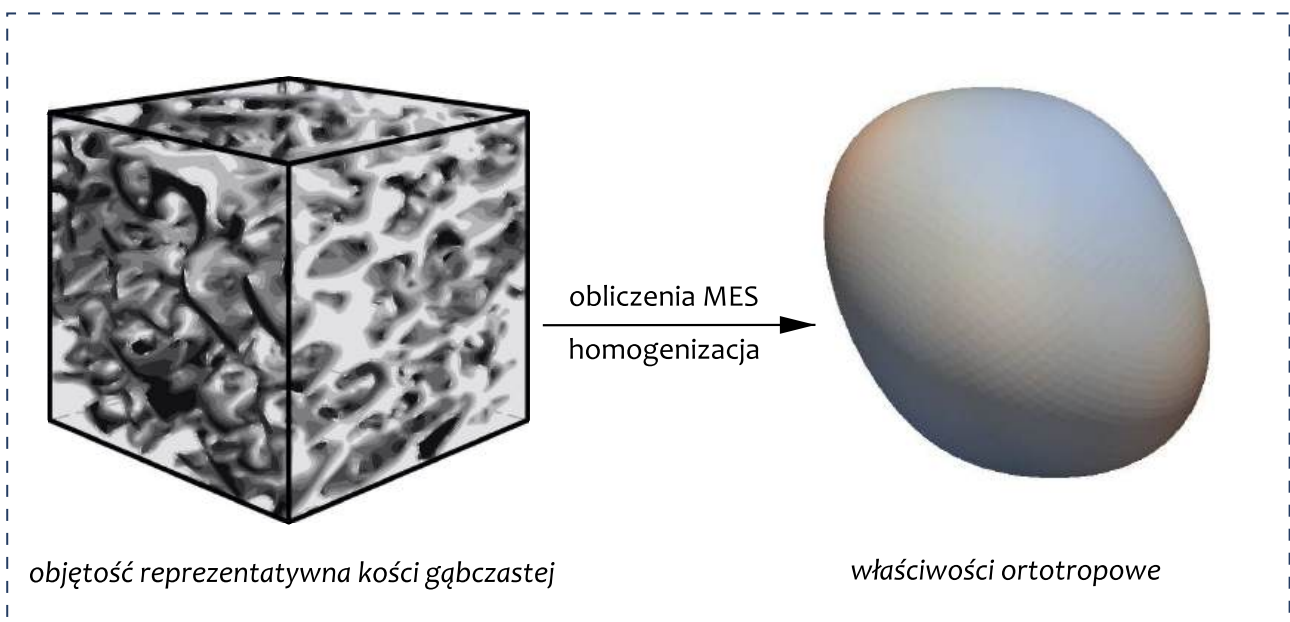
Struktury otrzymane po binaryzacji danych mikrotomograficznych w skali mezo i makro z użyciem progowania globalnego i lokalnego oraz wyniki analizy morfometrycznej umożliwiły kontynuację analizy w dalszej części pracy. Pozwoliło to bezpośrednio na przeprowadzenie symulacji wyznaczenia właściwości mechanicznych dla struktur w skali mezo oraz otrzymanie parametrów modelu Zysseta–Curniera (opis w rozdziale 6), a także zastosowanie tak uzyskanych wyników do analizy układu w skali makro (opis w rozdziale 7).

3. Repozytorium projektu GMIL: <https://github.com/rodrigomorenokth/GMIL>





## Modelowanie w skali mezo



Rysunek 6.1. Proces modelowania w skali mezo: dyskretyzacja próbek kości gąbczastej, wyznaczenie ortotropowych właściwości materiałowych i optymalizacja parametrów modelu uśredniającego.

### Najważniejsze zagadnienia rozdziału

- Przygotowanie modeli obliczeniowych na bazie reprezentacji wokselowej dla próbek przed i po docięciu zgodnym z głównymi osiami anizotropii.
- Opracowanie modeli obliczeniowych dla podobszarów cyfrowo wyciętych z kości udowej i zorientowanych zgodnie z głównymi osiami anizotropii.
- Wyznaczenie stałych materiałowych i tensora sztywności na podstawie sześciu testów obliczeniowych z symulacji MES ściskania i ścinania w zakresie liniowym.
- Weryfikacja wyników na podstawie optymalizacji do głównych osi anizotropii.
- Weryfikacja parametrów symulacji po zestawieniu wartości uzyskanych z obliczeń dla poprawnie zorientowanych próbek z wynikami eksperymentalnymi.
- Optymalizacja parametrów modelu Zysseta–Curniera z wykorzystaniem wartości stałych materiałowych, frakcji objętościowej oraz anizotropii.
- Zestawienie stałych materiałowych z symulacji MES i modelu Zysseta–Curniera.

## 6.1. Wstęp

**B**ADANIA prezentowane w literaturze przedmiotu w zakresie objętości reprezentatywnych kości gąbczastej pokazują, że sztywność materiału wyznaczana z użyciem testów obliczeniowych może zaniżać rzeczywiste wartości o około 20–40 % [93]. To z kolei może prowadzić do proporcjonalnego zaniżania wartości modułu Younga tkanki kostnej w zakresie liniowym. Właściwości wynikające z globalnej (pozornej) odpowiedzi materiału, a nie jego mikrostruktury i mogące się różnić od rzeczywistych są określane jako pozorne właściwości sprężyste (ang. *apparent elastic properties*). Tego typu wyniki można uzyskiwać w symulacjach komputerowych w zakresie liniowym i stanowią one wystarczające przybliżenie rzeczywistych wartości zmierzające do właściwości efektywnych dla wielu zastosowań. Z racji swojej użyteczności wykorzystanie w rozważaniach i zestawieniach właściwości pozornych stało się standardem i jest powszechne w przypadku badań struktur kości na przestrzeni ostatnich dwudziestu lat [217, 152, 63, 65, 156, 106, 37, 181]. Jest obecne także w przypadku nowszych względem symulacji alternatyw takich jak konwolucyjne sieci neuronowe [177], a także pomiarów eksperymentalnych, nie wyłączając najnowszych badań [11].

Opisane w podrozdziale 2.3.3 symulacje MES, które będą główną metodą obliczeniową w poniższych rozważaniach, są szeroko stosowane w różnych dziedzinach nauki. Uniwersalność tej metody, pozwalająca opisywać zachowanie tak prostych, jak i złożonych niejednorodnych oraz anizotropowych materiałów o nieregularnych kształtach, umożliwia badanie właściwości mechanicznych struktur biologicznych takich jak kość. Analiza MES ma szereg znaczących korzyści w porównaniu do pomiarów eksperymentalnych: nie ma artefaktów wynikających z przygotowania próbek do badań, nie występują artefakty brzegowe powiązane ze zniszczeniami, nie ma ograniczeń w liczbie uzyskiwanych parametrów, a wyniki są wysoko reprodukowalne.

W celu komputerowego wyznaczenia właściwości kości gąbczastej coraz częściej wykorzystuje się mikroskalowe obliczenia na bazie mikroelementów skończonych (ang. *micro-level finite elements*, micro-FE,  $\mu$ FE) [153, 65, 192, 177, 181, 6]. Jedną z zalet generacji siatek obliczeniowych  $\mu$ FE z obrazowych danych tomograficznych jest wykorzystanie bezpośredniej konwersji wokseli na heksagonalne elementy skończone [133], ponieważ podejście to ma wydajne zalety, tzn. szybkość, wydajność i możliwość pełnej automatyzacji. Z kolei homogenizowane elementy skończone (ang. *homogenized finite elements*, hFE) bazujące na uśrednieniu danych pochodzących z obrazowania, stosuje się w różnych zastosowaniach klinicznych, takich jak przewidywanie wytrzymałości kości [218]. W przeciwieństwie do analizy  $\mu$ FE opartej najczęściej na obrazach w wysokiej rozdzielczości, analiza hFE — obecna opcja wykorzystania klinicznych obrazów tomograficznych — opiera się na uśrednionych właściwościach materiałowych beleczkowych elementów kości. Niemniej jednak siatki obliczeniowe specyficzne dla ludzi bądź osobników zwierzęcych, aby mogły być łatwo wygenerowane i wykorzystane do spersonalizowanych symulacji, wymagają dedykowanych podejść [218].

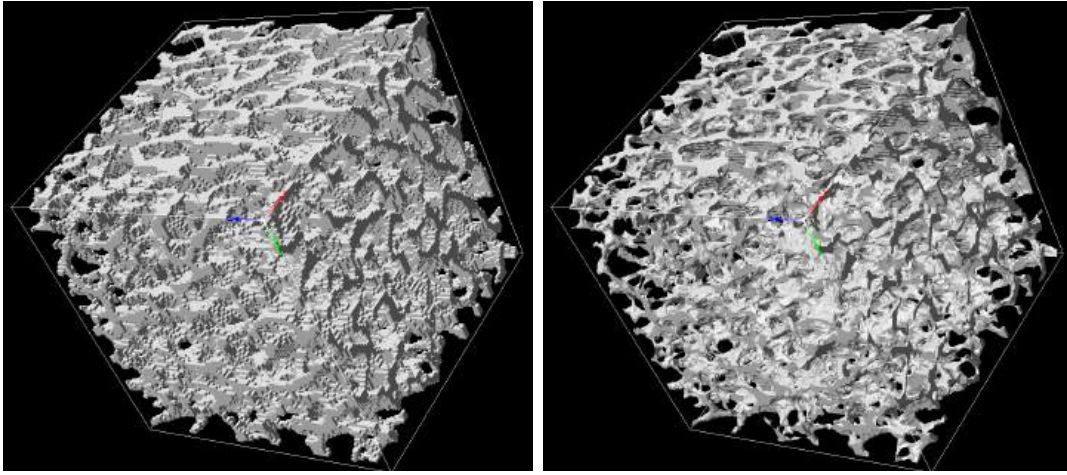
Właściwości sprężyste reprezentatywnych elementów objętościowych kości gąbczastej można

obliczyć na podstawie analiz  $\mu$ FE, stosując procedurę homogenizacji [80]. Technika ta wymaga najczęściej danych  $\mu$ CT i wystarczających zasobów obliczeniowych, ale pozwala na zastosowanie wielu scenariuszy obciążenia próbki bez narażania się na wpływ artefaktów wynikających z uszkodzeń eksperymentalnych. Symulacje na bazie analiz  $\mu$ FE obejmują mikrostrukturalną geometrię kości i osiągają dobrą zgodność z wynikami pomiarów eksperymentalnych [182]. W przypadku analiz  $\mu$ FE zarówno przyjęte warunki brzegowe, jak i wielkość analizowanych obszarów, mają wpływ na mierzone wartości stałych materiałowych dla kości. Również istotne znaczenie ma złożoność obliczeniowa symulacji — analiza  $\mu$ FE ludzkiego kręgu (niska porowatość) może wymagać nawet 130 milionów elementów w przypadku woksela rzędu  $30\ \mu\text{m}$  [4].

Choć w rzeczywistości siły działające na strukturę kości są zróżnicowane i złożone, w badaniach eksperymentalnych i symulacjach stosuje się jednoosiowe wektory siły bądź odkształcenia przyłożone do próbki materiału w wyróżnionych kierunkach [29]. W ogólności symulacje komputerowe MES służące do wyznaczania własności materiału mogą przyjmować formę dowolnego testu numerycznego. Jednak wiarygodne wyznaczenie z ich użyciem podstawowych właściwości materiałowych, takich jak składowe tensora sztywności  $\mathbf{C}^s$  i tensora podatności sprężystej  $\mathbf{S}^s$  jest uwarunkowane sposobem zdefiniowania symulowanego obciążenia. Stosuje się obliczenia odwzorowujące badania eksperymentalne, jak i bazujące na warunkach brzegowych, które choć nie są możliwe do zrealizowania doświadczalnie, pozwalają na otrzymanie porównywalnych wyników. W niniejszym opracowaniu zastosowano to drugie podejście, które będąc bardziej zrozumiałym koncepcyjnie, jest również efektywne obliczeniowo.

Tak jak w przypadku wyników pomiarów morfometrii mikrostruktury kości gąbczastej oraz wytrzymałości z testów eksperymentalnych, również właściwości z symulacji nie powinno się wyznaczać dla objętości mniejszych od reprezentatywnych aby były wiarygodne. Stąd także w przypadku obliczeń przyjmuje się, że rozmiary nie powinny być mniejsze od 3–5 mm, gdyż dla mniejszych objętości otrzymuje się wartości silnie zależne od lokalnych cech materiału [67], co wykazano również obliczeniowo w przypadku użycia  $\mu$ FE dla cyfrowo wyciętych podobszarów próbek kości gąbczastej o wzrastającej wielkości [37]. W przypadku obliczeń MES na bazie  $\mu$ CT najczęściej stosuje się dwie alternatywne metody do generacji siatek obliczeniowych. Na rysunku 6.2 zestawiono trójwymiarowe siatki MES wygenerowane dla objętości reprezentatywnej kości gąbczastej z  $\mu$ CT w dwóch podejściach: pochodzącą z bezpośredniej konwersji z wokseli oraz opartą na dodatkowej rekonstrukcji powierzchniowej.

Właściwości mechaniczne kości gąbczastej w skali mezo są podstawowymi parametrami, które odzwierciedlają strukturę oraz funkcje kości i mogą być wyznaczone poprzez symulacje obciążenia próbek w objętościach reprezentatywnych. Kość gąbczasta jest modelowana w takich testach obliczeniowych najczęściej jako liniowo–sprężysty ortotropowy materiał z złożeniem izotropowych właściwości tkanki kostnej  $(E_0, \nu_0)$ , bowiem jej mechaniczne zachowanie dla typowych obciążeń wykazuje zbliżone własności [3].



Rysunek 6.2. Zestawienie 2 typów siatek obliczeniowych 3D dla objętości reprezentatywnej kości gąbczastej z  $\mu$ CT, wygenerowanych na potrzeby symulacji MES: heksagonalnej opartej na reprezentacji wokselowej (po lewej) oraz tetragonalnej opartej na rekonstrukcji powierzchniowej (po prawej).

W ogólności aby wyznaczyć stałe materiałowe opisujące zachowanie materiału całkowicie anizotropowego, należy wykonać 36 lub 21 testów obliczeniowych (w przypadku skorzystania z warunku dotyczącego symetrii współczynników) [102, 103, 166, 211]. Z kolei dla materiału w symetrii ortotropowej, testy obliczeniowe powinny być tak zaplanowane, aby wyznaczyć stałe materiałowe potrzebne do skompletowania macierzy na bazie 9 niezależnych stałych materiałowych: 3 modułów Younga ( $E_i$ ), 3 współczynników Poissona ( $\nu_{ij}$ ) i 3 modułów ścinania ( $G_{ij}$ ) (zgodnie z założeniami z podrozdziału 2.2.4). W praktyce należy wykonać 6 testów obliczeniowych: ściskanie lub rozciąganie w 3 prostopadłych kierunkach oraz ścinanie dla 3 kierunków.

Do ilościowej charakterystyki ortotropii w porowatym ośrodku, takim jak kość, alternatywnie do wykonania symulacji MES, można wykorzystać powiązanie z tensorem struktury [32]. Wektory własne tensora struktury wskazują główne kierunki anizotropii mikrostruktury, przy czym wartości własne tensora struktury mogą być powiązane z ortotropowymi właściwościami sprężystymi przy użyciu równań sprężystości w niezależnych sformułowaniach Cowina i Zysseta–Curniera [32, 216]. Do tej pory wykazano, że wartości własne  $m_i$  tensora struktury  $\mathbf{M}$  i frakcja objętościowa ( $BV/TV$ ) wyjaśniają około 94–97% wariacji w ortotropowych składowych tensora sztywności kości gąbczastej przy użyciu równań sprężystości z wprowadzonego w podrozdziale 2.3.2 modelu Zysseta–Curniera [65, 122]. W innym badaniu na próbkach kości gąbczastej pobranych z sześciu różnych miejsc szkieletu ludzkiego wykazano, że równania sprężystości w ujęciu sformułowań Cowina były w stanie wyjaśnić 94,5% wariacji w ortotropowych składowych tensora sztywności [88]. Warto zaznaczyć, że badania te bazowały na wysokorozdzielczych danych tomograficznych do wyznaczenia tensora struktury z metody MIL, stąd mogą stanowić uzasadnienie wykorzystania jej w praktyce, ale wnioski nie mogą być bezpośrednio zaadaptowane do wykorzystania w przypadku danych klinicznych w niższej rozdzielczości [138].

Metody homogenizacji oparte na morfometrii, takie jak model Zysseta–Curniera, wymagają doboru wielkości stałych materiałowych, które mogą bazować na uśrednionych danych

pomiarowych. W tym aspekcie wykazują analogię do źródła wartości parametrów wejściowych tkanki kostnej w symulacjach MES w zakresie liniowym dla kości gąbczastej w skali mezo. Ponieważ tego typu metody są o wiele mniej wymagające obliczeniowo i czasowo niż symulacje MES dla określonych obszarów reprezentatywnych, mogą stanowić realną alternatywę dla wielu zastosowań. Dodatkowo otrzymywana na bazie modelu postać tensora sztywności  $\mathbf{C}^m$  i tensora podatności sprężystej  $\mathbf{S}^m$  nie zależy od warunków brzegowych, które są niezbędne do określenia w symulacjach MES. Argumenty te stanowią zwykle podstawową motywację do szukania modeli w relacji morfometria-właściwości mechaniczne i użycia ich w praktyce. Zgodnie z postacią zależności modelu Zysseta–Curniera 2.22, przyjmują one postać:

$$E_i^m = E_0 \rho^k (m_i^2)^l, \quad \nu_{ij}^m = \nu_0 \left( \frac{m_j}{m_i} \right)^l, \quad G_{ij}^m = G_0 \rho^k (m_i m_j)^l, \quad (6.1)$$

przy założeniu  $E_1^m \geq E_2^m \geq E_3^m$ . Przyjmuje się, że własności beleczek odpowiadające najlepszemu dopasowaniu interpretuje się jako stałe materiałowe będące parametrami modelu  $E_0$ ,  $\nu_0$ ,  $G_0$  [86]. Występujące w równaniach 6.1 wielkości  $E_i^m$ ,  $\nu_{ij}^m$ ,  $G_{ij}^m$ , są poszukiwanymi niezależnymi lokalnymi stałymi materiałowymi, pozwalającymi skompletować postaci macierzowe tensorów  $\mathbf{C}^m$  i  $\mathbf{S}^m$  w symetrii ortotropowej. Występująca w równaniach znormalizowana gęstość kości  $\rho$  jest standardowo wyznaczana na bazie morfometrii jako frakcja objętościowa BV/TV, z kolei wartości własne tensora struktury  $\mathbf{M}$  ( $m_1$ ,  $m_2$ ,  $m_3$ ) mogą być wyznaczone z użyciem metody MIL w pomiarze anizotropii. W praktyce wartości własne  $m_i$  normalizuje się, tak aby spełniały relację:  $m_1 + m_2 + m_3 = 3$ , przy założeniu  $m_1 \geq m_2 \geq m_3$  [64]. Można to osiągnąć poprzez uśrednienie ich z użyciem  $\bar{m} = \frac{tr(\mathbf{M})}{3}$ , gdzie  $tr(\mathbf{M})$  jest śladem postaci macierzowej tensora  $\mathbf{M}$ .

Tak jak homogenizacja z użyciem modeli bazujących na morfometrii może stanowić alternatywę do obliczeniowych testów obciążeniowych w przypadku danych tomograficznych, tak do kalibracji modelu, czyli wyznaczenia jego 5 niezależnych parametrów ( $E_0^m, \nu_0^m, G_0^m, k, l$ ) używa się wyników 6 testów obciążeniowych z symulacji MES (najczęściej uzyskanych na bazie danych wejściowych w postaci uśrednionych wartości eksperymentalnych) oraz analizy morfometrycznej danych tomograficznych. Uzyskane w taki sposób zestawy 13 wartości ( $E_1^s, E_2^s, E_3^s, G_{12}^s, G_{23}^s, G_{31}^s, \nu_{12}^s, \nu_{23}^s, \nu_{31}^s, \rho, m_1, m_2, m_3$ ), wykorzystuje się jako dane wejściowe do problemu optymalizacji za pomocą regresji wielokrotnej [138].

## 6.2. Przygotowanie do obliczeń

Na potrzeby zastosowania schematów obliczeniowych do wyznaczenia właściwości mechanicznych oraz kalibracji parametrów modelu Zysseta-Curniera skorzystano z metodologii oraz wyników przetwarzania i analizy danych  $\mu$ CT (r. 3, 4 i 5). Głównym założeniem opracowanej metodologii była pełna automatyzacja całego procesu, w tym zarówno dla próbek z pomiarów w wyższej rozdzielczości w skali mezo, jak również wycięcia cyfrowego podobszarów z kości udowej zobrazowanej w niższej rozdzielczości w skali makro. Aby przeprowadzić testy ściskania

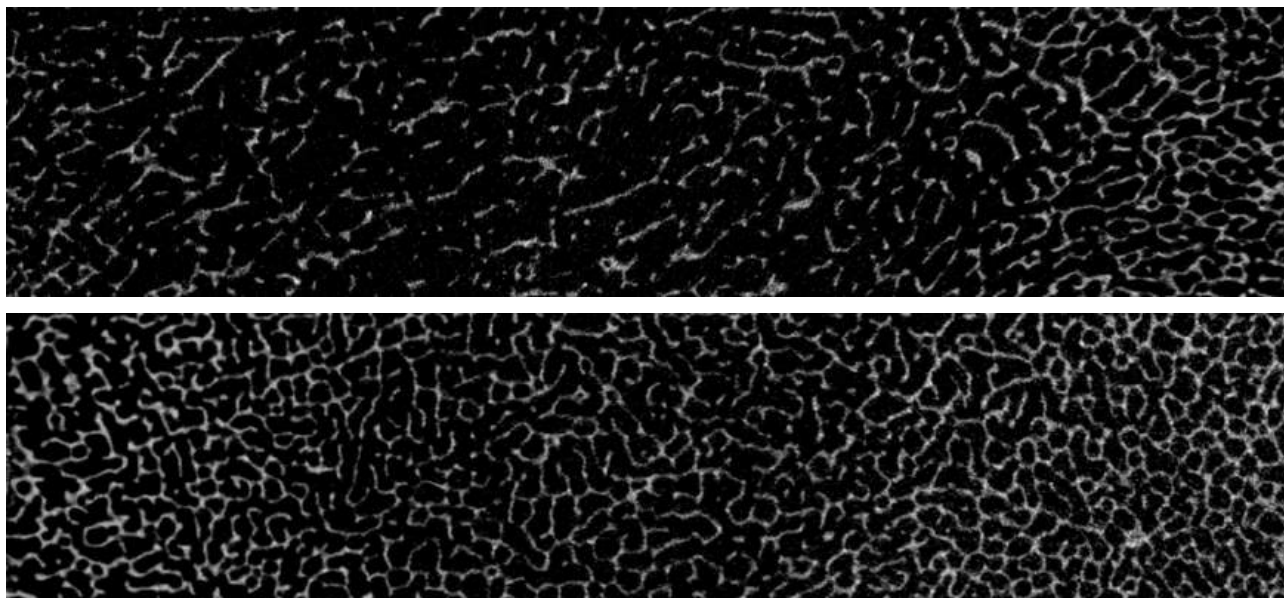
i ścinania dla tych obszarów z użyciem symulacji MES, należało przygotować modele obliczeniowe dla wygenerowanych siatek  $\mu$ FE. Zaplanowane symulacje wymagały przygotowania danych na bazie reprezentacji wokselowej dla próbek z pomiarów w skali mezo przed i po docięciu zgodnym z głównymi osiami anizotropii, uzyskując właściwą orientację analizowanych obszarów. Podejście to mogło być również zastosowane bezpośrednio do podobszarów wyciętych cyfrowo z kości udowej z pomiarów w skali makro i zorientowanych zgodnie z głównymi osiami. Odpowiednie zorientowanie struktur zbliżonych do symetrii ortotropowej przed symulacjami MES było podyktowane wymaganiami warunków brzegowych planowanych do zastosowania.

### 6.2.1. Cyfrowe wycięcie obszarów

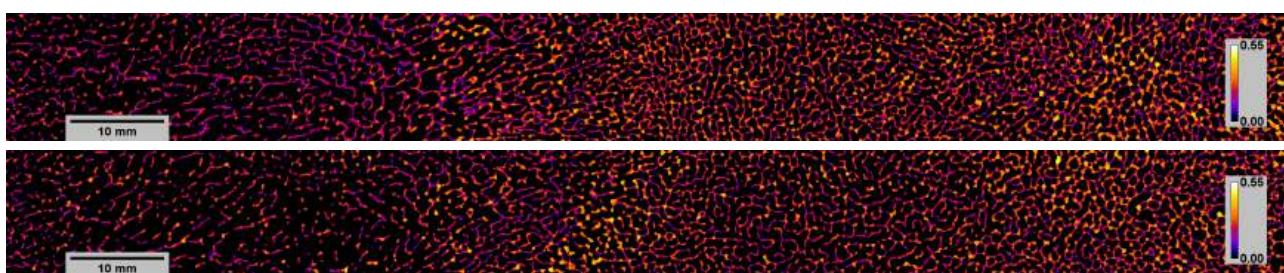
W celu przygotowania danych wejściowych do symulacji zaadaptowano podejście do analizy anizotropii metodą MIL (podrozdział 5.3.6) dla obszarów odpowiadających wypreparowanym próbkom oraz cyfrowych podobszarów kości. Wykorzystano metodykę, w której obszar wycinany po uwzględnieniu obrotu na bazie analizy MIL pozostawał reprezentatywny rozmiarowo, a jego orientacja była zgodna z głównymi osiami anizotropii. Na rysunku 5.11 (r. 5) zilustrowano przetwarzanie obrazu 3D uwzględniające jego obrót i wycięcie określonego podobszaru.

W przypadku wypreparowanych próbek zdecydowano się na użycie danych 3-krotnie zre-skalowanych względem oryginalnej rozdzielczości pomiarowej (woksel  $6,5\ \mu\text{m}$ ), uzyskując niższą efektywną rozdzielczość (woksel  $19,5\ \mu\text{m}$ ). Dzięki wykonanej analizie czułości (ang. *sensitivity analysis*) dla różnych rozmiarów struktur oraz analizie histogramów (podrozdział 4.2.3) potwierdzono zasadność użycia w dalszych obliczeniach struktur na bazie danych w zre-skalowanej rozdzielczości, która nie wpływała na wyniki obliczeń, w tym na binaryzację z użyciem progowania globalnego (podrozdział 5.2.1). Badania z innych opracowań z użyciem objętości reprezentatywnych kości gąbczastej na bazie  $\mu$ CT i  $\mu$ FE potwierdzają wybór rozmiaru wokselu na poziomie  $18\text{--}20\ \mu\text{m}$  jako wiarygodny i optymalny pod kątem obliczeniowym [155, 122].

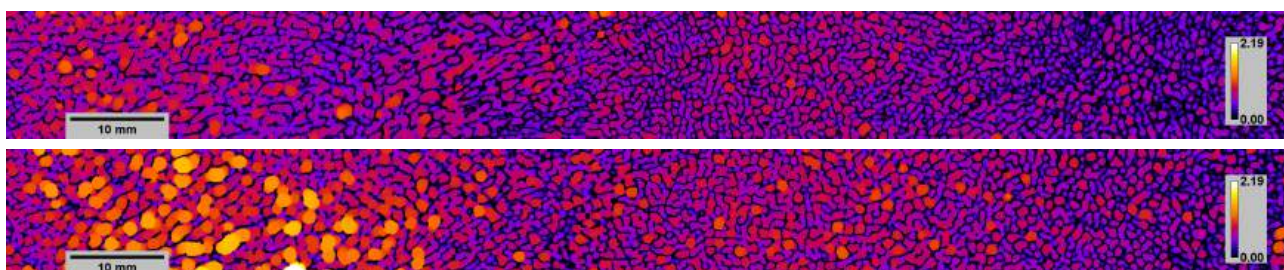
Na potrzeby kalibracji parametrów modelu Zysseta–Curniera zdecydowano się dodatkowo na cyfrowe wycięcie podobszarów kości udowej z pomiarów w niższej rozdzielczości (woksel  $45,6\ \mu\text{m}$ ) po uprzedniej binaryzacji na podstawie kalibracji progowania lokalnego (podrozdział 5.2.2). Uwzględnienie dodatkowych obszarów ze zróżnicowanych części badanej kości, poza próbkami wyciętymi i zmierzonymi w  $\mu$ CT, było istotne, ponieważ pozwalało na uzyskanie lepiej dopasowanych parametrów modelu, które będą nadawały się do zastosowania przy homogenizacji dowolnych części kości, w tym także tych z których próbki nie zostały wycięte. Biorąc pod uwagę wybraną metodę cyfrowego wycięcia podobszarów na bazie metody przesuwnego okna (ang. *sliding window*), rozmiary objętości które planowano uzyskać odgrywały istotne znaczenie. Co ważne, to czy obszary z pomiarów w niższej rozdzielczości będą użyteczne po przetworzeniu z użyciem progowania lokalnego wymagało weryfikacji w zestawieniu z obszarami z pomiarów w wyższej rozdzielczości. W obu przypadkach obszary wyczyszczono z rozłącznych fragmentów po obrocie, binaryzacji i docięciu. Ilustracja niejednorodności w obrębie rozmiarów beleczek dla ciągłego obszaru mikrostruktury kości gąbczastej zamieszczono na rysunku 6.3.



Rysunek 6.3. Ilustracja niejednorodności w obrębie rozmiarów beleczek dla ciągłego obszaru mikrostruktury kości gąbczastej (z wołowej kości udowej K03). Pierwszy (na górze) oraz ostatni (na dole) przekrój poprzeczny części badanego obszaru struktury.



Rysunek 6.4. Ilustracja niejednorodności w obrębie rozmiarów beleczek dla ciągłego obszaru mikrostruktury kości gąbczastej (z wołowej kości udowej K03) na bazie map barwnych z wynikami analizy morfometrycznej parametru Tb.Th odpowiadającego morfologii beleczek. Pierwszy (na górze) oraz ostatni (na dole) przekrój poprzeczny badanego obszaru struktury.



Rysunek 6.5. Ilustracja niejednorodności w obrębie rozmiarów porów dla ciągłego obszaru mikrostruktury kości gąbczastej (z wołowej kości udowej K03) na bazie map barwnych z wynikami analizy morfometrycznej parametru Tb.Sp odpowiadającego odległościom międzybeleczkowym. Pierwszy (na górze) oraz ostatni (na dole) przekrój poprzeczny badanego obszaru struktury.

Niejednorodności mikrostruktury w obrębie kości makroskopowej można też ukazać za pomocą uśrednionych wyników liczbowych parametrów morfologicznych dla poszczególnych podobszarów albo zbiorczo w postaci map barwnych, na których wyniki można interpretować w formie wizualnej. Przykładowe ilustracje z wynikami takiej analizy (analogiczne do wcześniejszego zestawienia z rysunku 5.21 w rozdziale 5) zostały przedstawione na rysunkach 6.4 oraz 6.5. Na mapach ukazano naniesione wyniki analizy morfometrycznej tych parametrów, których charakterystyki były interesujące w ujęciu lokalnym w kontekście homogeniczności obszarów (Tb.Th, Tb.Sp). Zdecydowano się na wybór większego jednolitego obszaru zawierającego się w badanej objętości kości makroskopowej, tak żeby móc wykorzystać zmieniające się ukierunkowanie i zróżnicowanie beleczek w mikrostrukturze i wyciąć odpowiedniej wielkości podobszary (uwzględniając ich obrót do głównych osi anizotropii). Na zaprezentowanym zestawieniu widoczne są charakterystyczne płynne przejścia mikrostruktury odzwierciedlające różnice w rozmiarów beleczek i porów dla podobszarów. Badanie tego rodzaju obok ograniczeń dla rozmiarów próbki, były podstawą do określenia homogeniczności poszczególnych podobszarów w celu interpretacji wyników analizy morfometrycznej przed i po cyfrowym wycięciu uwzględniającym kierunek głównych osi anizotropii, przed przejściem do etapu symulacji MES.

### 6.2.2. Metody i pakiety obliczeniowe

W przypadku analizy MES, istnieje szereg dedykowanych aplikacji i pakietów do wykorzystania. Generacja wiarygodnej siatki obliczeniowej stanowiącej podstawę symulacji MES, składającej się z węzłów i elementów skończonych, wiąże się technicznymi wyzwaniem, ale w rezultacie pozwala efektywnie odzwierciedlić geometrię badanej struktury. Z przygotowaniem modeli obliczeniowych wiąże się ogólne pojęcie związane z przygotowaniem danych wejściowych z użyciem przetwarzania wstępnego (ang. *preprocessing*). Powstało wiele wyspecjalizowanych środowisk komercyjnych dedykowanych do tego typu procedur, w tym: *HyperMesh*, *Patran*, *Gambit*, *MEDINA* i *ANSA*. Właściwe symulacje przeprowadza się najczęściej na klastrach obliczeniowych, używając dostępnych rozbudowanych komercyjnych inżynierskich pakietów obliczeniowych ogólnego zastosowania, takich jak: *Abaqus*, *ANSYS*, *RADIOSS* i *ADINA*. Alternatywnie korzysta się z bezpłatnych otwarto-źródłowych (ang. *open source*) odpowiedników o mniej szerokich możliwościach jak: *CalculiX*, *FreeFEM* i *FEAP*, przeznaczonych głównie do użycia na stacjach roboczych w celach badawczych i edukacyjnych. Inną gałęzią wykorzystywanego oprogramowania są bezpłatne i otwarto-źródłowe pakiety takie jak: *VOX-FE*, *ParFEAP* i *parFE*, najczęściej posiadające rodowód akademicki, bazujące na silnej równoległości obliczeń i operujące głównie na danych wejściowych bezpośrednio z wokseli. Podejścia pozwalające na rozwiązywanie liniowych układów równań dla siatek opartych na woksela mają jednak ogromną liczbę stopni swobody (ang. *degrees of freedom*, DOF) i są wymagające obliczeniowo.

W przypadku niniejszego opracowania jako punkt startowy do obliczeń  $\mu$ FE z elementami utworzonymi na bazie wokseli została wybrana implementacja bezpłatnego pakietu obliczenio-



wego *ParOSol* (rozwiniecie ang. *PARallel Octree SOLver*) w zakresie analizy liniowej<sup>1</sup>. Pakiet oparto na otwarto-źródłowym kodzie wysokiej wydajności do analizy  $\mu$ FE w języku C++ na podstawie biblioteki do algebry liniowej *Eigen*, bazując na bezwskaźnikowej strukturze opartej na drzewie ósemkowym i umożliwiając redukcję nadmiarowych stopni swobody. W pierwotnej wersji pakiet pozwala na rozwiązywanie problemów liniowej sprężystości na bazie konwersji wokseli do liniowych izotropowych ośmio-węzłowych heksaedralnych elementów skończonych [51]. Dzięki takiemu rozwiązaniu charakteryzuje się niskim zapotrzebowaniem na pamięć operacyjną w porównaniu do innych pakietów (16-krotnie mniejszym względem standardowego pakietu *parFE* wskutek braku 8 wskaźników dla każdego elementu) [50]. Pozwala na analizę modeli na poziomie miliardowych DOF na klastrach obliczeniowych, ale można go również wykorzystać na lokalnych stacjach roboczych bądź personalnych komputerach dla mniej wymagających problemów obliczeniowych. Pakiet ten jest efektywnie w pełni zrównoleglony na bazie standardu MPI (ang. *message passing interface*) oraz wieloplatformowy (w tym do użycia na systemach operacyjnych Windows i Linux). Może stanowić podstawę dla różnorodnych badań, zapewniając dużą elastyczność wdrażania i wysoką wydajność równoległego wykonywania, sprawdzając się nie tylko w obszarze fragmentów kości gąbczastej [106, 37], ale i makroskopowych kości w najnowszych opracowaniach [55].

W pakiecie *ParOSol* układ liniowych równań jest rozwiązywany z użyciem iteracyjnej metody gradientu sprzężonego (ang. *conjugate gradient method*), znajdującej zastosowanie przy rozwiązywaniu niektórych układów równań liniowych dla symetrycznych i dodatnio określonych macierzy. Zastosowano w praktyce podejście z wykorzystaniem metody wielosiatkowej (ang. *multigrid*) z początkowym etapem wygładzania (ang. *pre-smoothing*) oraz ściskaniem macierzy (ang. *preconditioning*), czyli przekształceniem ich tak, aby przyspieszyć zbieżność przy zastosowaniu metody iteracyjnej oraz uodpornić na skoki wartości modułów [50]. Tak skonstruowane metody określa się jako optymalne do wyznaczenia rozwiązań dla mających wiele specjalnych cech macierzy rozrzedzonych, które otrzymuje się z dyskretyzacji równań różniczkowych cząstkowych metodą różnic skończonych lub elementów skończonych [133]. Aby dodatkowo przyspieszyć wykonywanie kodu, pakiet bazuje na pewnych uproszczeniach w przypadku parametrów materiałowych stanowiących dane wejściowe, w tym użyciu izotropowej wartości modułu Younga  $E_0$  dla poszczególnych wokseli (bądź globalnie dla całej struktury) oraz stałej globalnej wartości współczynnika Poissona  $\nu_0$ . Ponieważ pakiet działa na geometrii wokseli o równych rozmiarach, rozwiązuje problem wprost z przekrojów poprzecznych trójwymiarowych danych, które można uzyskać za pomocą  $\mu$ CT. Uzyskane w taki sposób modele obliczeniowe nie potrzebują walidacji poprawności wymaganej w przypadku siatek na bazie rekonstrukcji powierzchniowej [16] (zestawienie modeli z obu podejść na rysunku 6.2). Elementy przestrzeni porowej ze szpikiem standardowo nie są uwzględniane w modelach  $\mu$ FE w celu skrócenia czasu obliczeń i uniknięcia problemów ze zbieżnością spowodowanych dużą różnicą ich sztywności w stosunku do sztywności kości [37].

1. Repozytorium pakietu *ParOSol*: <http://bitbucket.org/cflaig/parosol>

Aby móc wykorzystać w praktyce pakiet *ParOSol*, dokonano w nim kilku zmian, zgodnych z modyfikacjami zespołu Uniwersytetu Technicznego w Wiedniu<sup>2</sup>. Po zmianach kod działa na bazie spójnego układu jednostek (m i Pa lub mm i MPa). Dodatkowo wykorzystywana jest wartość współczynnika Poissona  $\nu_0$  odczytywana z danych wejściowych w standardzie HDF5 (pliki w formacie .h5 dedykowane dla dużych ilości danych liczbowych), a nie zakodowana na stałe w kodzie źródłowym, a dane wyjściowe sformatowane są zgodnie ze standardem pakietu *parFE*. Wyniki symulacji z użyciem autorskiej adaptacji pakietu *ParOSol* mogły zostać zweryfikowane numerycznie oraz wizualnie z użyciem interakcji w programie *ParaView*<sup>3</sup>. Jedną z możliwości, aby wykorzystać tego typu narzędzie wizualizacyjne, może być zaadaptowanie do tego celu dostosowanego interfejsu dla określonych warunków brzegowych z użyciem wtyczki dedykowanej pakietowi *VOX-FE*<sup>4</sup>.

Na potrzeby obliczeń opracowano wieloplatformowe zautomatyzowane podejście do narzędzi, w którym dane wejściowe są zapisywane w standardzie HDF5 bezpośrednio z przekrojów poprzecznych pochodzących z pomiarów  $\mu$ CT (*ImageJ*, wtyczka *HDF5\_Vibez*<sup>5</sup>, pod kluczem */Image\_Data/Image*), a nałożenie warunków brzegowych w plikach wejściowych w standardzie HDF5 dla określonych obszarów kości gąbczastej jest oskryptowane z użyciem biblioteki *h5py*<sup>6</sup> w języku Python (podrozdziały 6.3.1 i 6.3.2).

### 6.3. Testy ściskania i ścinania

Wprowadzone powyżej zagadnienia dotyczące przygotowania danych do obliczeń pozwalają na przybliżenie charakterystyki pojęć dedykowanych zastosowaniu metody MES w zoptymalizowanych statycznych symulacjach w zakresie liniowo-sprężystym. Dysponując wygenerowanymi siatkami obliczeniowymi dla reprezentatywnych obszarów kości gąbczastej, można wyznaczyć wartości składające się na tensor sztywności  $\mathbf{C}^s$ , a w rezultacie 9 niezależnych stałych materiałowych w symetrii ortotropowej (3 moduły Younga  $E_i^s$ , 3 współczynniki Poissona  $\nu_{ij}^s$ , 3 moduły ścinania  $G_{ij}^s$ ) w oparciu o serię testów obliczeniowych. Symulacje te mogą odnosić się bezpośrednio do technik wykorzystywanych podczas rzeczywistych pomiarów eksperymentalnych bądź pozwalać na schematy możliwe do zrealizowania jedynie cyfrowo, ale ułatwiające wyznaczenie pozornej sztywności danego materiału możliwie zbliżonej do właściwości efektywnych. Zdecydowano się zrealizować w sposób zautomatyzowany serię następujących 6 testów obliczeniowych na bazie symulacji MES w zakresie liniowym dla symetrii ortotropowej:

- jednoosiowy test ściskania w trzech prostopadłych kierunkach,
- test prostego ścinania w trzech kierunkach.

2. Repozytorium pakietu *ParOSol TU Wien*: <https://github.com/reox/parosol-tu-wien>

3. Strona główna programu *ParaView*: <https://www.paraview.org/>

4. Strona projektu *VOX-FE GUI*:

<https://www.epcc.ed.ac.uk/blog/2015/02/02/vox-fe-gui-developments>

5. Strona projektu *HDF5\_Vibez*:

[http://lmb.informatik.uni-freiburg.de/resources/opensource/imagej\\_plugins/hdf5.html](http://lmb.informatik.uni-freiburg.de/resources/opensource/imagej_plugins/hdf5.html)

6. Strona główna biblioteki *h5py*: <https://docs.h5py.org/en/stable/>

Poniżej przedstawione zostały najważniejsze zagadnienia oparte na założeniach teoretycznych dotyczących testów mechanicznych zawartych w podrozdziale 2.2.3 (zilustrowanych na rysunku 2.3 z rozdziału 2), włączając w to dobór parametrów wejściowych i warunków brzegowych, który pozwala na numeryczne wyznaczenie pozornych stałych sprężystych dla kości gąbczastej.

### 6.3.1. Parametry wejściowe

Jako dane wejściowe potrzebne do zdefiniowania izotropowych właściwości dla beleczek kostnych w symulacjach w zakresie liniowo-sprężystym wykorzystuje się najczęściej uśrednione wartości eksperymentalnie wyznaczonych stałych materiałowych: modułu Younga  $E_0^s$  i współczynnika Poissona  $\nu_0^s$  (podrozdział 2.4.2). W przypadku izotropowym moduł ścinania  $G_0$  wyliczany jest bezpośrednio na bazie wartości  $E_0$  i  $\nu_0$  z relacji  $G_0 = \frac{E_0}{2(\nu_0+1)}$ , nie stanowi więc niezależnego parametru wejściowego. Wartości stałych materiałowych dla uśrednionych właściwości materiałowych na poziomie tkanki kostnej mogą być jednak trudne do ustalenia z racji niejednorodnego i w rzeczywistości anizotropowego charakteru materiału budującego strukturę kości gąbczastej [3]. Jednak użycie zakresu liniowego pozwala w praktyce uzależnić wartości składowe tensora sztywności  $\mathbf{C}$  od wejściowej wartości modułu Younga  $E_0^s$ , a tym samym na liniowe przeskalowanie końcowych wyników, np. w przypadku kalibracji symulacji na bazie pomiarów eksperymentalnych [166, 88]. Tym samym można wyznaczyć przybliżone właściwości beleczek kostnych na podstawie MES, bez konieczności powtarzania samych testów obliczeniowych. Na przestrzeni lat ugruntowało się użycie właściwości izotropowych beleczek kostnych z  $\nu_0^s$  o wartości 0,3 dla kości ludzkich i zwierzęcych [166, 161, 205, 155]. Z kolei przyjmowana wartość modułu Younga tkanki kostnej  $E_0^s$  jest mocno zależna od typu kości, pozycji anatomicznej i wieku pacjenta bądź osobnika zwierzęcego. Literaturowe wartości średnie dla  $E_0^s$  przyjmuje się zwykle w przedziale 10–12 GPa [161, 205], również w przypadku symulacji MES kalibrowanych pomiarami eksperymentalnymi takimi jak nanoindentacja [156], zgodnie z zestawieniem tabelarycznym z podrozdziału 2.4.2.

Wartości odkształceń bądź działających sił powierzchniowych, niezbędne do wykonania poszczególnych testów zgodnie z definicją określonych warunków brzegowych, definiuje się na bazie rozmiarów próbki, postulowanych przemieszczeń lub przyłożonych obciążeń. Aby wiarygodnie przeprowadzić testy ściskania i ścinania z użyciem symulacji MES, należało określić warunki brzegowe (ang. *bounadry conditions*, BC).

### 6.3.2. Warunki brzegowe

Założenia modeli Voigta i Reussa (podrozdział 2.3.2) stanowią jedynie zgrubne oszacowanie odpowiednio od dołu i od góry makro-naprężeń wyrażanych przez zmienne makroskopowe [86]. W 1683 roku Hill pokazał, że konieczne i wystarczające warunki równoważności pomiędzy energetycznie i mechanicznie zdefiniowanymi właściwościami materiałów sprężystych mogą być

wyrażone w kryterium równoważności energii odkształcenia na poziomie makro i mikro:

$$\langle \boldsymbol{\sigma} : \boldsymbol{\varepsilon} \rangle = \langle \boldsymbol{\sigma} \rangle : \langle \boldsymbol{\varepsilon} \rangle, \quad (6.2)$$

gdzie  $\boldsymbol{\sigma}$  i  $\boldsymbol{\varepsilon}$  to tensory naprężeń i odkształceń [78]. W twierdzeniu Hilla zakłada się, że średnia objętościowa iloczynu mikroskopijnych tensorów naprężeń i odkształceń jest równa iloczynowi ich średnich objętościowych, tj. makroskopowych naprężeń i odkształceń. Dla nieskończonego ciała jednorodnego warunek ten jest trywialnie spełniony, ale dla skończonej niejednorodnej objętości wymaga definicji właściwego obciążenia w określony sposób [148]. W przypadku materiałów kompozytowych nieperiodycznych, takich jak kość gąbczasta, równanie 6.2 jest spełnione dla następujących trzech typów jednorodnych warunków brzegowych:

- kinematycznych jednorodnych BC (ang. *kinematic uniform boundary conditions*, KUBC) — gdzie punkty brzegowe są ograniczone do jednorodnych przemieszczeń (warunki Dirichleta),
- statycznych jednorodnych BC ((ang. *static uniform boundary conditions*, SUBC)) — gdzie punkty są ograniczone do jednorodnych sił powierzchniowych (warunki Neumanna),
- mieszanych jednorodnych BC (ang. *mixed uniform boundary conditions*, MUBC) — ograniczenie jednorodnych przemieszczeń i sił powierzchniowych (ortogonalne mieszane).

Oprócz powyższych przypadków warunek Hilla jest spełniony przez periodyczne BC (ang. *periodicity boundary conditions*, PBC) dla mikrostruktur periodycznych [151].

W ogólności, aby równanie 6.2 mogło być spełnione, macierze średnich naprężeń i odkształceń nie muszą być diagonalne [69]. Dla warunków brzegowych MUBC spełniających 6.2, równanie musi być ortogonalne. W ścisłym sensie nakłada to dla nich ograniczenie zastosowań do materiałów mających co najmniej ortotropową symetrię sprężystą w skali makro i do elementów objętościowych, które są zorientowane zgodnie z głównymi osiami. Natomiast zastosowanie warunków PBC wiąże się z badaniem periodycznych „kompozytów modelowych” i prowadzi do uzyskania ich efektywnych właściwości materiałowych [151], stanowiąc bardziej precyzyjną metodę w przypadku porowatych poeriodycznych kompozytów niż standardowe podejścia [80].

Często stosowane w praktyce warunki brzegowe KUBC oraz PBC nie są odpowiednie do tego, żeby wiarygodnie odwzorowywać pozorne właściwości sprężyste kości gąbczastej, które byłyby zgodne z testami walidacji eksperymentalnej [150]. Dlatego podjęto próby użycia warunków MUBC do uzyskiwania pozornych modułów sprężystości materiałów niejednorodnych spełniających założenie o cechach ortotropowych i zgodnym z nimi zorientowaniu, dając w rezultacie podstawę do przewidywań pomiędzy tymi uzyskanymi za pomocą warunków SUBC i KUBC [148]. W takim ujęciu warunki SUBC mogą stanowić pozorną dolną granicę, a warunki KUBC pozorną górną granicę badanych właściwości [152].

W sprężystości możliwy jest znaczny zakres różnych typów warunków MUBC, które mogą być rozszerzane [69]. W 2008 roku Pahr i Zysset zaproponowali MUBC zgodne z periodycznymi, aby otrzymać dla struktur zbliżonych do ortotropowych makroskopowe właściwości sprężyste

tożsame z warunkami PBC. Zdefiniowano w taki sposób mieszane jednorodne BC kompatybilne z periodycznymi (ang. *periodic compatible mixed uniform boundary conditions*, PMUBC) i dla elementów objętościowych, które nie są reprezentatywne, warunki PMUBC zapewniają wyraźnie pozorne właściwości sprężyste, ale dla reprezentatywnych elementów objętościowych wyniki zbiegają do efektywnych właściwości [152]. Zgodnie z powyższymi założeniami stosuje się je do badania mikrostruktur ortotropowych zorientowanych w głównych osiach anizotropii.

W przypadku badań kości zarówno przyjęte warunki brzegowe, jak i wielkość analizowanych obszarów mają wpływ na mierzone wartości stałych materiałowych dla analizowanych próbek. Jak wykazano w bazowym opracowaniu Pahra i Zysseta, użycie w symulacjach MES warunków PMUBC pozwala w przypadku reprezentatywnych próbek kości gąbczastej zbliżonych do ortotropowych (rozmiary  $\geq 5$  mm) na otrzymanie pozornych właściwości sprężystych. Dla mniejszych próbek kości ( $< 5$  mm) z silną anizotropią (poza ortotropią) jednorodne BC pozostają stosowalne, ale mogą znacznie odbiegać od efektywnej sztywności. Próbki zbyt małe, aby stać się reprezentatywnymi, okazują się sztywniejsze z użyciem warunków KUBC, niż w przypadku warunków PMUBC. Żeby uniknąć tych efektów, stosuje się odpowiednią walidację relatywnych rozmiarów próbek, tak aby były reprezentatywne [152].

W opracowaniach uwzględniających wpływ rozmiaru próbek na badane właściwości stwierdzono, że stosowanie warunków PMUBC i symulacji  $\mu$ FE do homogenizacji w zakresie liniowym ogólnie lepiej przybliża efektywne właściwości sprężyste kości gąbczastej w porównaniu z warunkami KUBC, zwłaszcza w przypadku ścinania [155, 37]. W przeciwieństwie do warunków PMUBC, warunki KUBC nie pozwalają na swobodne odkształcanie się beleczek, sztucznie wzmacniając w ten sposób ich udział w całkowitych właściwościach sprężystych. Wybór warunków KUBC wiąże się więc z przeszacowaniem właściwości mechanicznych, zwłaszcza w przypadku mniej reprezentatywnych obszarów i odzwierciedla efekt połączenia beleczek kostnych z sąsiedztwem, w analogii do zwartej struktury kości zbitej, dlatego mogą być odpowiednie, ale jedynie dla obszarów kości gąbczastej ze sztywnym otoczeniem, takim jak obszary w pobliżu kości zbitej. Warunki PMUBC z kolei dobrze odpowiadają zachowaniu beleczek, które są otoczone morfologią kości gąbczastej o podobnej sztywności, ale w przeciwieństwie do warunków KUBC, warunki PMUBC są wrażliwe na heterogeniczność próbek kości [150]. Warto zaznaczyć, że bazujący na morfometrii model Zysseta–Curniera sprawdza się równie dobrze dla obu typów warunków [156].

Biorąc pod uwagę cechy opisanych w powyższych rozważaniach warunków brzegowych, zdecydowano się na użycie w praktyce warunków PMUBC, najlepiej odpowiadających strukturze kości gąbczastej. W tabeli 6.1 zawarto definicję sześciu niezależnych testów obciążeniowych na podstawie odkształceń, odpowiednio jednoosiowego ściskania w 3 prostopadłych kierunkach (C1, C2, C3) oraz prostego ścinania (S12, S13, S23) na podstawie sformułowania mieszanych jednorodnych warunków brzegowych kompatybilnych z periodycznymi (PMUBC) zgodnie z definicją nazewnictwa powierzchni na określonych ściankach (E, W, N, S, T, B), a także przemieszczeń  $u_i$ , odkształceń  $\varepsilon_{ij}$ , długości próbki  $l_i$ , oraz sił powierzchniowych  $t_i$  z pracy [152].

Tabela 6.1. Definicja 6 niezależnych testów obciążeniowych na podstawie odkształceń, odpowiednio jednoosiowego ściskania w 3 prostopadłych kierunkach (C1, C2, C3) oraz prostego ścinania (S12, S13, S23) na podstawie sformułowania mieszanych jednorodnych warunków brzegowych kompatybilnych z periodycznymi (PMUBC) zgodnie z definicją nazewnictwa ścianek (E, W, N, S, T, B), a także przemieszczeń  $u_i$ , odkształceń  $\varepsilon_{ij}$ , długości próbki  $l_i$ , oraz sił powierzchniowych  $t_i$  z pracy [152].

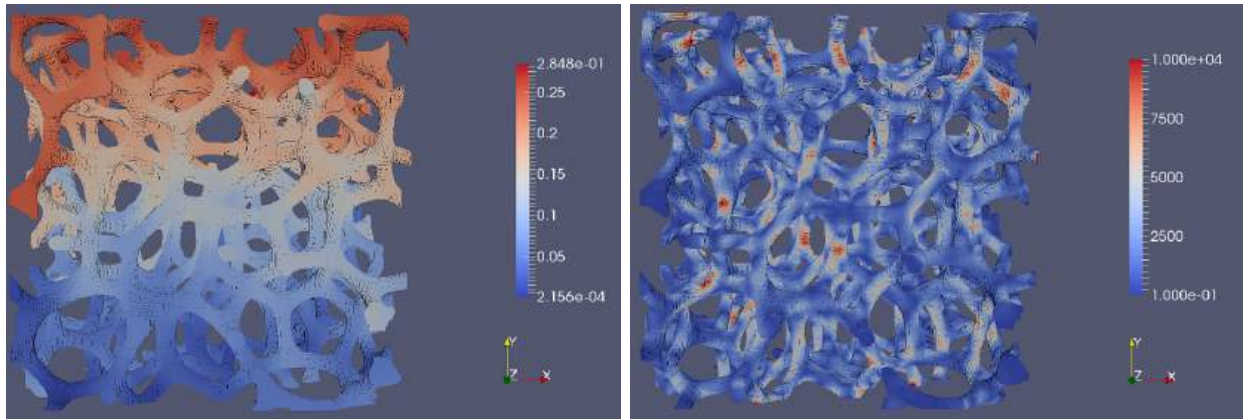
	Wschód (E)	Zachód (W)	Północ (N)	Południe (S)	Góra (T)	Dół (B)
C1	$u_1 = -\varepsilon_{11} \frac{l_1}{2}$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_1 = \varepsilon_{11} \frac{l_1}{2}$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_2 = 0$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_2 = 0$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_3 = 0$ $t_1 = t_2 = 0$	$u_3 = 0$ $t_1 = t_2 = 0$
C2	$u_1 = 0$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_1 = 0$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_2 = -\varepsilon_{22} \frac{l_2}{2}$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_2 = \varepsilon_{22} \frac{l_2}{2}$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_3 = 0$ $t_1 = t_2 = 0$	$u_3 = 0$ $t_1 = t_2 = 0$
C3	$u_1 = 0$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_1 = 0$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_2 = 0$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_2 = 0$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_3 = -\varepsilon_{33} \frac{l_3}{2}$ $t_1 = t_2 = 0$	$u_3 = \varepsilon_{33} \frac{l_3}{2}$ $t_1 = t_2 = 0$
S12	$u_2 = \varepsilon_{21} \frac{l_1}{2}$ $u_3 = 0, t_1 = 0$	$u_2 = -\varepsilon_{21} \frac{l_1}{2}$ $u_3 = 0, t_1 = 0$	$u_1 = \varepsilon_{12} \frac{l_2}{2}$ $u_3 = 0, t_2 = 0$	$u_1 = -\varepsilon_{12} \frac{l_2}{2}$ $u_3 = 0, t_2 = 0$	$u_3 = 0$ $t_1 = t_2 = 0$	$u_3 = 0$ $t_1 = t_2 = 0$
S13	$u_3 = \varepsilon_{31} \frac{l_1}{2}$ $u_2 = 0, t_1 = 0$	$u_3 = -\varepsilon_{31} \frac{l_1}{2}$ $u_2 = 0, t_1 = 0$	$u_2 = 0$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_2 = 0$ $t_1 = t_3 = 0$	$u_1 = \varepsilon_{13} \frac{l_3}{2}$ $u_2 = 0, t_3 = 0$	$u_1 = -\varepsilon_{13} \frac{l_3}{2}$ $u_2 = 0, t_3 = 0$
S23	$u_1 = 0$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_1 = 0$ $t_2 = t_3 = 0$	$u_3 = \varepsilon_{32} \frac{l_2}{2}$ $u_1 = 0, t_2 = 0$	$u_3 = -\varepsilon_{32} \frac{l_2}{2}$ $u_1 = 0, t_2 = 0$	$u_2 = \varepsilon_{23} \frac{l_3}{2}$ $u_1 = 0, t_3 = 0$	$u_2 = -\varepsilon_{23} \frac{l_3}{2}$ $u_1 = 0, t_3 = 0$

### 6.3.3. Weryfikacja testów

Rozwiązanie symulacji MES można zweryfikować badając zarówno poprawność jak i dokładność modelu. Wielokrotne analizy zbieżności dla elementów mogą posłużyć do zbadania dokładności rozwiązania. Stopień poprawności jest zaś standardowo określany poprzez porównanie wyników z danymi uzyskanymi eksperymentalnie oraz analitycznymi technikami otrzymywania rozwiązań. Wyniki symulacji można zinterpretować konwencjonalnie, wykorzystując do tego celu interaktywną wizualizację, która jest standardowo dostępna w interfejsach komercyjnych i bezpłatnych pakietów obliczeniowych dedykowanych do analizy MES. Wielokolorowe skale oraz wykresy konturowe są typowymi metodami graficznej prezentacji wyników w przypadku naprężeń i odkształceń.

W przypadku pakietu *ParOSol* możliwe było zadeklarowanie postulowanej wartości zbieżności na określonym poziomie, która była osiągana iteracyjnie w trakcie symulacji. Przed docelowym zastosowaniem do objętości reprezentatywnych kości gąbczastej, implementacja warunków PMUBC po przypisaniu zgodnie z definicją została zweryfikowana pozytywnie na uproszczonych modelach obliczeniowych, osiągając zbieżność na zakładanym poziomie. W niniejszym opracowaniu zaadaptowano uproszczone porowate struktury 3D, które zostały wygenerowane na potrzeby analizy właściwości modeli parametrycznych pod kątem wytwarzania rusztowań tkankowych i opisane szerzej w opublikowanych pracach [91, 179]. Na rysunku 6.6 zamieszczono zestawienie wizualizacji przemieszczeń oraz naprężeń von Misesa dla przykładowej sztucznie wygenerowanej struktury porowatej o zadanych właściwościach na podstawie wyników symulacji  $\mu$ FE z użyciem pakietu *ParOSol*. Zgodnie z definicją testu obciążeniowego jednoosiowego ściskania dla warunków PMUBC z tabeli 6.1, dolna powierzchnia jest unieruchomiona, a górna powierzchnia poddana jednorodnemu przemieszczeniu ściskającemu, co widać na ilustracji. Uwidoczniony został także nierównomierny rozkład naprężeń w mikrostrukturze charakterystyczny dla tego typu obciążenia. Walidacja definicji sześciu kanonicznych testów obciążeniowych

na uproszczonych strukturach w zróżnicowanych rozmiarach pozwala w ogólności na kontrolowanie efektów zastosowania określonych warunków brzegowych i uproszczoną interpretację wyników [13, 192].



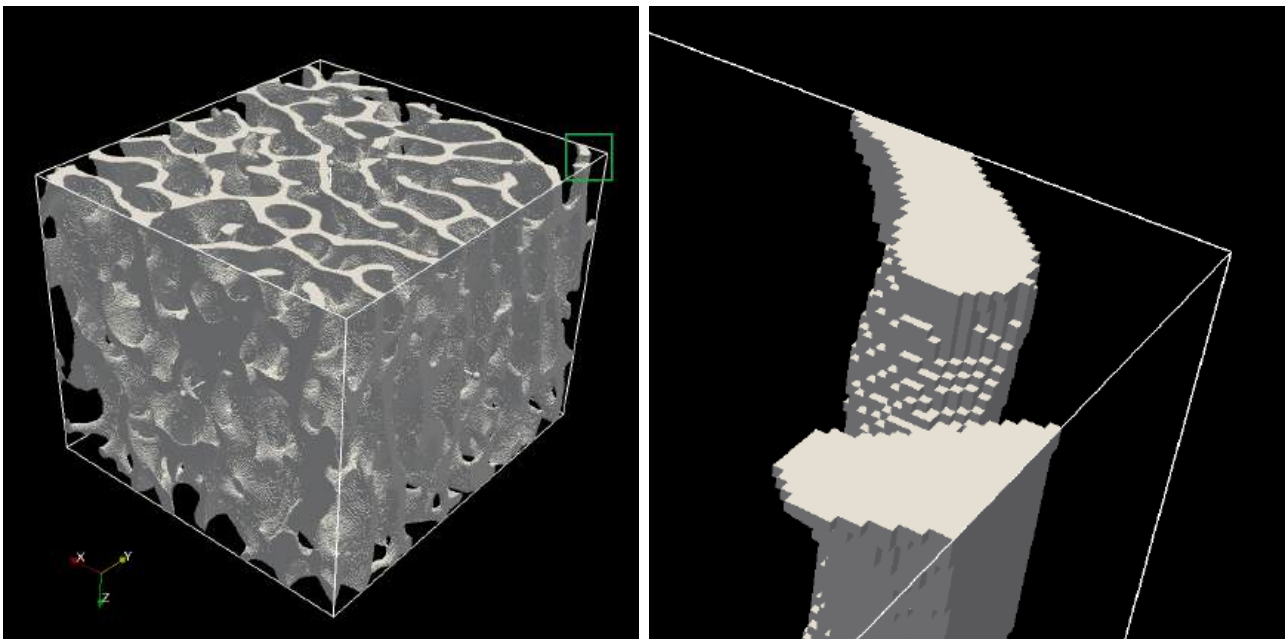
Rysunek 6.6. Wynik symulacji testu obciążeniowego jednoosiowego ściskania wzdłuż osi  $y$ , wykonany w ramach weryfikacji mieszanych jednorodnych warunków brzegowych kompatybilnych z periodycznymi (PMUBC) na wyidealizowanych modelach obliczeniowych. Na wizualizacjach zamieszczono zestawienie przemieszczeń zgodnych z oczekiwanymi (po lewej) oraz nierównomierny rozkład naprężeń von Misesa (po prawej) dla sztucznie wygenerowanej struktury porowatej o zadanych właściwościach.

Wymagania dla stosowania warunków PMUBC zakładały poprawność zorientowania struktur w osiach głównych dla symetrii ortotropowej. Dlatego zastosowanie cyfrowego wycięcia obszarów zgodnie z orientacją z analizy MIL (opisane w podrozdziale 6.2.1) mogło pozwolić na zapewnienie poprawności wyników. Symulacje zostały zautomatyzowane dla poszczególnych plików wejściowych za pomocą skryptów w języku Python. Tym samym dla poszczególnych obszarów do obliczeń lokalnych bądź zdalnych w pakiecie *ParOSol* mógł wystarczyć jedynie plik wejściowy w standardzie HDF5 z siatką obliczeniową na bazie danych wokselowych, oraz zestaw parametrów opisujących wejściowe właściwości materiałowe (moduł Younga  $E_0^s$  i współczynnik Poissona  $\nu_0^s$ ). Warunki brzegowe PMUBC dla wszystkich testów były zdefiniowane uniwersalnie i przypisywane skryptowo (rozmiary obszarów określano automatycznie na podstawie danych). Również w celu wyznaczenia wartości końcowych w postaci ortotropowych parametrów materiałowych wykorzystano podejście skryptowe, na podstawie odczytu wyników z plików w standardzie HDF5 zawierających rozkład naprężeń dla poszczególnych testów obliczeniowych. Wartości te mogą być zsumowane po wszystkich elementach, tak aby wyznaczyć pełną postać tensora sztywności  $\mathbf{C}^s$  w postaci macierzowej [154]. Jest to możliwe dzięki znanej postaci tensora odkształceń  $\boldsymbol{\varepsilon}^s$  na bazie zadanych przemieszczeń zdefiniowanych w warunkach brzegowych. Na podstawie założenia o ortotropowości struktury możliwe jest w następnym kroku wyznaczenie wynikowych stałych materiałowych (3 modułów Younga  $E_i^s$ , 3 współczynników Poissona  $\nu_{ij}^s$ , 3 modułów ścinania  $G_{ij}^s$ ). Ortotropowość uzyskanych danych mogła być dodatkowo zweryfikowana na bazie optymalizacji postaci tensora sztywności dostępnej w pakiecie *medtool*<sup>7</sup>.

7. Strona główna pakietu *medtool*: <http://www.dr-pahr.at/medtool/>

Także kalibracja parametrów modelu Zysseta–Curniera na podstawie wyników symulacji MES była możliwa z wykorzystaniem funkcjonalności pakietu *medtool* (udzielony dostęp badawczy).

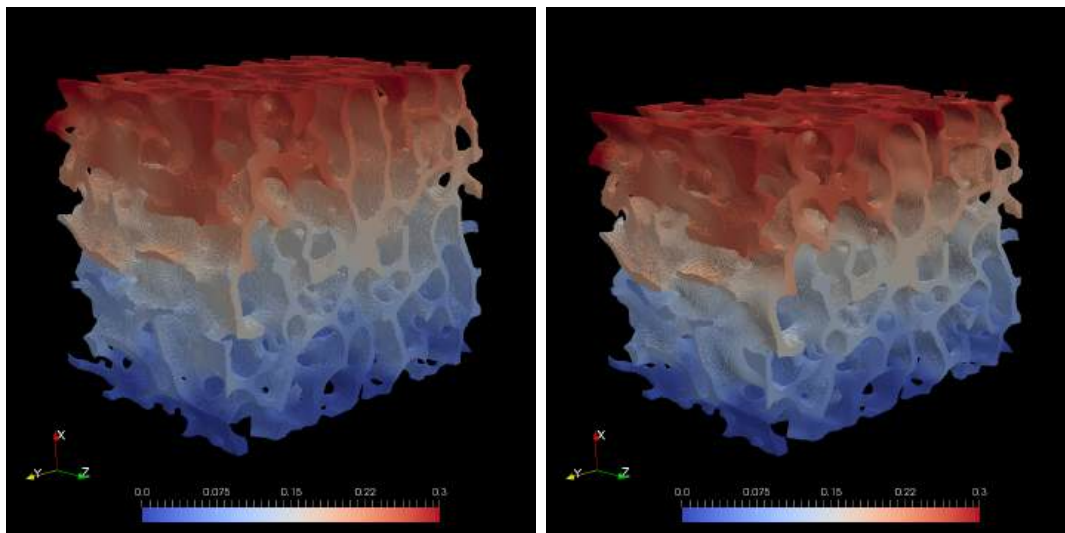
Decydując się na użycie struktur 3-krotnie zreskalowanych względem oryginalnej rozdzielczości pomiarowej z  $\mu$ CT (woksel  $6,5\ \mu\text{m}$ ) i uzyskując niższą efektywną rozdzielczość (woksel  $19,5\ \mu\text{m}$ ) w rezultacie uzyskano stopień złożoności modeli obliczeniowych dla pakietu *ParOSol* rzędu 20 milionów węzłów i 20 milionów elementów. Przykładową siatkę obliczeniową  $\mu$ FE dla jednego z obszarów oraz powiększony fragment uwidaczniający poszczególne elementy heksaedralne zilustrowano na rysunku 6.7.



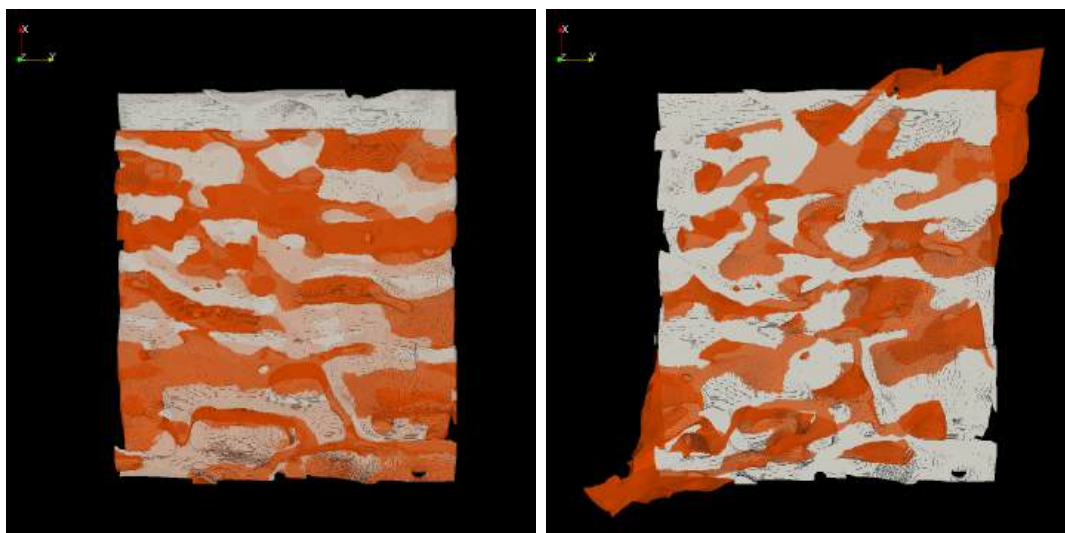
Rysunek 6.7. Wizualizacja siatki obliczeniowej  $\mu$ FE dla badanego 3-krotnie zreskalowanego obszaru kości gąbczastej (po lewej), po uzyskaniu na podstawie bezpośredniej zamiany wokseli z  $\mu$ CT na heksagonalne elementy skończone (liczba węzłów: 22275138, liczba elementów: 19472455). Powiększony fragment siatki obliczeniowej  $\mu$ FE uwidaczniający poszczególne elementy heksaedralne (po prawej).

Z kolei na rysunku 6.8 przedstawiono wizualizację sekwencji testu obciążeniowego ściskania z użyciem  $\mu$ FE w pakiecie *ParOSol* stosując warunki PMUBC. Test wykonano na siatce obliczeniowej z elementami heksagonalnymi dla obszaru kości gąbczastej z pomiarów  $\mu$ CT. Na rysunku 6.9 pokazano zaś zestawienie obejmujące wizualizację deformacji modelu w przypadku finalnych testów obciążeniowych ściskania i ścinania zasymulowanych w pakiecie *ParOSol* zgodnie z definicją warunków PMUBC z tabeli 6.1 oraz zakładanym zakresem liniowo-sprężystym dla symetrii ortotropowej. Ukazano jednoosiowy charakter testu ściskania w kierunku zgodnym z osią  $x$  oraz deformację struktury charakterystyczną dla testu ścinania w płaszczyźnie  $xy$ .





Rysunek 6.8. Wizualizacja sekwencji próbnego testu obciążeniowego ściskania wzdłuż osi  $x$  z użyciem pakietu *ParOSol* dla siatki obliczeniowej  $\mu$ FE na bazie wokseli obszaru kości gąbczastej z  $\mu$ CT z użyciem warunków PMUBC. Zestawienie przed (po lewej) i po deformacji (po prawej, z uwzględnieniem współczynnika skalowania 2-krotnego) z naniesionymi przemieszczeniami.



Rysunek 6.9. Zestawienie obejmujące rezultat testów obciążeniowych ściskania wzdłuż osi  $x$  (po lewej, z uwzględnieniem wsp. skalowania 2-krotnego) i ścinania w płaszczyźnie  $xy$  (po prawej, z uwzględnieniem wsp. skalowania 10-krotnego dla lepszego pokazania efektu) przed (kolor szary) i po deformacji (kolor pomarańczowy). Wykorzystano siatkę obliczeniową  $\mu$ FE na bazie obszaru kości gąbczastej z  $\mu$ CT z użyciem mieszanych jednorodnych warunków brzegowych kompatybilnych z periodycznymi (PMUBC) do obliczeń w pakiecie *ParOSol*.

## 6.4. Wyniki

W badaniach wykorzystano dane z wysokorozdzielczych pomiarów  $\mu$ CT (woksel  $6,5\ \mu\text{m}$ ) w postaci prostopadłościennych próbek kości gąbczastej zbliżonych kształtem do sześcianu o boku  $10\ \text{mm}$ . Z obrazów tych wycięto cyfrowo podobszary zorientowane zgodnie z główny-

mi osiami anizotropii (podrozdział 6.2.1), które następnie zreskalowano 3-krotnie (efektywny woksel 19,5  $\mu\text{m}$ ). W przypadku danych z obrazowania  $\mu\text{CT}$  w niższej rozdzielczości (woksel 45,6  $\mu\text{m}$ ) zastosowano cyfrowe wycięcie sześciennych podobszarów o boku 13,5 mm na bazie metody przesuwnego okna dla obszaru  $300 \times 300 \times 300$  wokseli i ich obrót zgodny z orientacją z analizy MIL. Przetwarzanie zbinaryzowanych danych (opis w podrozdziale 5.4.2) oraz analizę morfometrii (podrozdział 5.3) przeprowadzono z użyciem makr automatyzujących proces (*ImageJ* 1.46q, wtyczka *BoneJ* 1.3.6) na stacji roboczej z układem Intel Xeon X5560 94GB (24 wątki). Właściwy dobór objętości reprezentatywnych pierwotnych obszarów, po docięciu próbek w najbardziej niekorzystnych przypadkach, otrzymano rozmiary obszarów o bokach powyżej 5 mm, zachowując ich reprezentatywność. Obrazy z rekonstrukcjami próbek kości gąbczastej nie zawierały obszarów kości zbitej, nie istniała więc potrzeba segmentacji obu rodzajów kości na potrzeby dalszej analizy. Zaplanowano przeprowadzenie oraz weryfikację symulacji dla uzyskanych danych i obliczeń z użyciem modelu uśredniającego na podstawie poniższych kroków:

- Przetwarzanie wstępne danych do symulacji MES:
  - przygotowanie modeli obliczeniowych na bazie reprezentacji wokselowej dla próbek przed i po docięciu zgodnym z głównymi osiami anizotropii,
  - przygotowanie modeli obliczeniowych dla podobszarów wyciętych cyfrowo z kości udowej i zorientowanych zgodnie z głównymi osiami anizotropii.
- Walidacja i kalibracja symulacji MES (wyniki w podrozdziale 6.4.1):
  - przeprowadzenie serii 6 testów obliczeniowych (symulacji ściskania i ścinania w zakresie liniowym) w celu wyznaczenia tensora sztywności,
  - weryfikacja wartości na bazie optymalizacji do głównych osi anizotropii,
  - weryfikacja parametrów symulacji po zestawieniu wartości uzyskanych z obliczeń dla poprawnie zorientowanych próbek z wynikami eksperymentalnymi,
  - wykonanie analizy statystycznej korelacji pomiędzy morfometrią a wartościami stałych materiałowych z pomiarów i symulacji,
  - wyznaczenie uśrednionych wartości modułu Younga dla wybranych kości.
- Wyznaczenie parametrów modelu uśredniającego (wyniki w podrozdziale 6.4.2):
  - optymalizacja parametrów modelu Zysseta–Curniera z wykorzystaniem wartości stałych materiałowych, frakcji objętościowej oraz anizotropii;
  - zestawienie stałych materiałowych z symulacji MES i wartości z modelu Zysseta–Curniera.

Symulacje ściskania i ścinania z użyciem zmodyfikowanego pakietu *ParOSol* (podrozdział 6.2.2) oraz warunków brzegowych typu PMUBC (podrozdział 6.3.2) mogły być przeprowadzone na bazie możliwości klastra TeraACMiN z układem 192 Intel Xeon E5-2660 (1536 rdzeni). Dzięki niskiemu zapotrzebowaniu na pamięć (16 $\times$  mniejsze niż przy standardowym podejściu), symulacje te można było przeprowadzić efektywnie wykorzystując analizę  $\mu\text{FE}$ . Przyjęto założenia o właściwościach ortotropowych oraz homogeniczności wyciętych obszarów kości gąbczastej (wymagania charakterystyczne dla użytych warunków brzegowych). Woksele z obrazów repre-

zentuujących mikrostrukturę kości zostały bezpośrednio skonwertowane do siatek obliczeniowych  $\mu$ FE z przyporządkowaniem globalnych izotropowych wartości modułu Younga ( $E_0^s = 10$  GPa) i współczynnika Poissona ( $\nu_0^s = 0,3$ ) do każdego z elementów. Symulacje można było następnie skalibrować na podstawie liniowego skalowania z użyciem pomiarów eksperymentalnych. Do przetwarzania danych zastosowano podejście skryptowe (*h5py*, Python 2.7.9) oraz możliwości narzędzi do obróbki końcowej (ang. *postprocessing*) i weryfikacji (*ParaView* 5.1, *medtool* 3.9).

#### 6.4.1. Walidacja i kalibracja symulacji

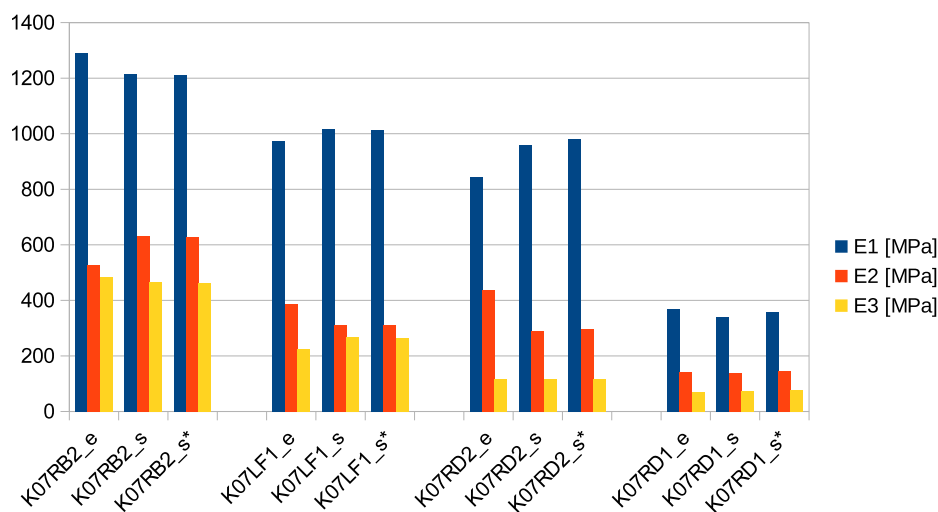
Walidację symulacji MES przeprowadza się głównie pod kątem tego, czy model reprezentuje rzeczywisty układ zainteresowania oraz czy zbieżność symulacji jest dobrym parametrem pomiaru dokładności [206]. W przypadku pakietu *ParOSol* obie te kwestie zostały uwzględnione na podstawie głównych cech obliczeń. Wykorzystano bezpośrednią konwersję wokseli do elementów skończonych, bez utraty informacji przy konwersji do innych rodzajów elementów bądź przy uśrednianiu. Dodatkowo wewnętrzna procedura pakietu wymuszała określony poziom dokładności na bazie podawanej wartości poziomu dla zbieżności.

Aby móc poddać dodatkowej walidacji i skalibrować wyniki symulacji, wykonano 6 liniowych testów obliczeniowych ściskania i ścinania prowadząc do  $6 \cdot 70 \cdot 2 = 840$  analiz  $\mu$ FE z użyciem warunków PMUBC w pakiecie *ParOSol*, odpowiadających wypreparowanym próbkom kości gąbczastej z pomiarów  $\mu$ CT w skali mezo ( $n = 70$ ) oraz ich podobszarom obróconym do osi głównych zgodnie z wynikami analizy MIL. W przypadku jednej z kości udowych (K03) z pomiaru  $\mu$ CT w skali makro wykonano dodatkowo  $6 \cdot 20 \cdot 2 = 240$  analiz  $\mu$ FE, dla cyfrowo wyciętych podobszarów ( $n = 20$ ). Rezultatem symulacji były uśrednione pełne postaci tensora sztywności  $\mathbf{C}^s$ , uzyskane na bazie wartości zadanych odkształceń i zsumowanych naprężeń [65]. Z użyciem pakietu *medtool* anizotropowa postać tensora sztywności została obrócona do układu współrzędnych najbardziej zbliżonego do ortotropowego (ang. *best orthotropic fit*). Dedykowana procedura optymalizacyjna bazująca na metodzie Neldera–Meada, czyli sympleksowej metodzie spadku (ang. *downhill simplex method*) wyznaczającej minimum funkcji celu w przestrzeni wielowymiarowej, pozwoliła na uzyskanie kierunków optymalnego obrotu w postaci kątów Eulera [166]. Dzięki temu możliwe było zestawienie ze sobą wartości dla próbek i podobszarów obróconych na bazie MIL do osi głównych (przed i po obrocie) oraz wyznaczenie z uzyskanych postaci  $\mathbf{C}^s$  wartości 9 stałych materiałowych w symetrii ortotropowej ( $E_i^s, \nu_{ij}^s, G_{ij}^s$ ). Wynikiem działania procedury optymalizacyjnej była również wartość błędu, czyli różnicy względem układu ortotropowego, w którym odpowiednie wartości w postaci macierzowej  $\mathbf{C}$  są równe 0 (podrozdział 2.2.4). W praktyce wartości te dla reprezentatywnych homogenicznych obszarów kości gąbczastej w orientacji zbliżonej do ortotropowej były niezerowe, ale bliskie 0.

Zgodność oceniano dla wszystkich zmierzonych próbek w skali mezo ( $n = 70$ ) oraz cyfrowo wyciętych obszarów w skali makro ( $n = 20$ ), zarówno na poziomie analizy strukturalnej, jak i optymalizacji wartości tensora struktury na bazie symulacji MES. Należy podkreślić, że próbki kości gąbczastej nie były wypreparowane z kości udowych z precyzyjnym uwzględnieniem orien-

tacji kierunków głównych. Dlatego wyniki pomiarów eksperymentalnych mogły być zestawione jedynie w przypadku próbek, które po wypreparowaniu były poddane testom jednoosiowego ściskania zgodnie z kierunkami głównymi. Wyznaczono uśrednione różnice wyrażone w stopniach pomiędzy strukturalnymi, a mechanicznymi kierunkami głównymi. Strukturalna anizotropia była wyrażona jako orientacja tensora struktury  $\mathbf{M}$  z analizy MIL, a mechaniczne kierunki główne zinterpretowano jako orientację tensora sztywności po uwzględnieniu jej optymalizacji ortotropowej z wyników symulacji MES.

Na wykresie 6.10 umieszczono zestawienie danych eksperymentalnych ( $E_i^e$ ) z wynikami symulacji MES ( $E_i^s$ ) w postaci modułów Younga dla 3 prostopadłych kierunków ( $E_1 \geq E_2 \geq E_3$ ), uwzględniając liniowo przeskalowane dane. Wartość czynnika skalującego została wyznaczona dla każdej próbki, uwzględniając wszystkie 3 kierunki, tak aby zminimalizować błąd pomiędzy danymi eksperymentalnymi, a wynikami symulacji. Określenie referencyjnej wartości modułu Younga  $E_0^s$  na podstawie zestawienia z wynikami pomiarów eksperymentalnych umożliwiło liniowe przeskalowanie wartości modułów dla struktur kości ( $E_i^s$  i  $G_{ij}^s$ ), bez wpływu na wartości bezwymiarowych współczynników Poissona ( $\nu_{ij}^s$ ) [166, 88]. Wiarygodne wyniki uzyskano dla próbek kości gąbczastej z kości udowej (K07), wykazujących pierwotną orientację mocno zbliżoną do głównych kierunków w symetrii ortotropowej (K07RB2, K07LF1, K07RD2, K07RD1).

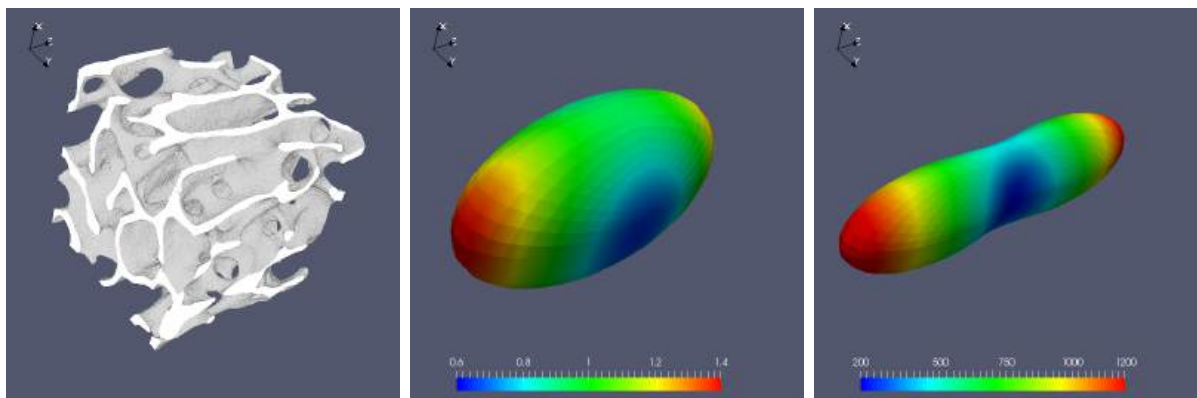


Rysunek 6.10. Wykres przedstawiający zestawienie danych eksperymentalnych z wynikami symulacji MES w postaci modułów Younga dla 3 prostopadłych kierunków testu jednoosiowego ściskania. Wyniki zawężono do 4 próbek kości gąbczastej (K07RB2, K07LF1, K07RD2, K07RD1) z kości makroskopowej (K07) wykazujących pierwotną orientację mocno zbliżoną do zgodnej z głównymi osiami anizotropii. Dla każdej z próbek przedstawiono począwszy od lewej: wartości eksperymentalne (e), dane z symulacji (s) oraz przeskalowane dane z symulacji (s\*).

Na podstawie zestawienia wyników można wykazać zgodność danych eksperymentalnych z przeskalowanymi liniowo wynikami symulacji, w tym anizotropią dla poszczególnych kierunków oraz wartości średnich i odchyłeń z danych literaturowych (podrozdział 2.4.2). Kierunko-

wość strukturalna również przewidywała dobrze mechaniczne kierunki główne dla wyselekcjonowanych próbek, z różnicami w zakresie kilku stopni ( $1,4\text{--}3,8^\circ$ ) na bazie uśrednionych wyników.

Na rysunku 6.11 zamieszczono zestawienie obejmujące trójwymiarową rekonstrukcję mikrostruktury kości gąbczastej dla jednej z próbek wykazujących pierwotną kierunkowość zbliżoną do ortotropowej (K07RB2) oraz odpowiadający jej rozkład orientacji metody MIL w postaci elipsoidy, wraz z graficzną reprezentacją tensora sztywności.



Rysunek 6.11. Zestawienie obejmujące mikrostrukturę obszaru kości gąbczastej (K07RB2) w postaci rekonstrukcji 3D (po lewej), rozkład orientacji metody MIL w postaci elipsoidy (w środku) oraz graficzną reprezentację tensora sztywności (po prawej). Wartości odzwierciedlone kolorami na mapie barwnej naniesionej na elipsoidę MIL są bezwymiarowe (w środku), natomiast wydłużenie reprezentacji tensora sztywności (kształt) i rozkład objętości (kolor) wyrażono w MPa (po prawej).

Właściwa orientacja została zweryfikowana pozytywnie zarówno na bazie analizy MIL, jak i obrotu postaci tensora sztywności zgodnie z układem współrzędnych tensora struktury. Zarówno w przypadku elipsoidy MIL oraz reprezentacji tensora sztywności można wyraźnie zaobserwować zorientowanie zgodne z 3 głównymi kierunkami anizotropii tożsame z symetrią ortotropową. Dla obu reprezentacji uwidocznione jest charakterystyczne wydłużenie dla jednego z kierunków (zgodnego z osią  $z$ ), właściwe dla miejsca pobrania próbki z obszaru poddanego głównie siłom rozciągającym w tym kierunku.

W tabeli 6.4.1 zawarto zestawienie wartości liczbowych korelacji liniowej Pearsona ( $r$ ) pomiędzy morfometrią (zestaw 7 reprezentatywnych parametrów na bazie argumentacji z rozdziału 5: BV/TV, BS/BV, Tb.Th, Tb.Sp, Conn.D, EF\*, DA) oraz wyznaczonymi eksperymentalnie wartościami na podstawie testów ściskania modułów Younga w 3 kierunkach ( $E_1^e, E_2^e, E_3^e$ ) oraz gęstości pozornej  $\rho_a$  dla wypreparowanych próbek kości gąbczastej (podrozdziały 3.4.1 i 3.4.2). Z kolei w tabeli 6.4.1 zawarto analogiczne zestawienie korelacji pomiędzy morfometrią oraz wyznaczonymi z użyciem symulacji MES na podstawie obliczeniowych testów ściskania i ścinania wartościami modułów Younga dla trzech prostopadłych kierunków ( $E_1^s, E_2^s, E_3^s$ ) oraz trzech modułów ścinania ( $G_{23}, G_{13}, G_{12}$ ), a także dla kompletności trzech współczynników Poissona ( $\nu_{23}^s, \nu_{13}^s, \nu_{12}^s$ ) dla wypreparowanych próbek ( $n = 70$ ). Wszystkie wartości korelacji dla parametrów morfometrycznych oraz wyników z pomiarów i symulacji zawarto w dodatku B.

Zarówno dla pomiarów eksperymentalnych, jak i wyników symulacji MES w przypadku korelacji dla frakcji objętościowej i modułów uzyskano silną istotność statystyczną ( $p < 0,01$ ). Szczegółowa analiza korelacji pozwala na wyciągnięcie następujących wniosków:

- moduły Younga  $E_i^e$  oraz  $E_i^s$ : silna dodatnia korelacja dla BV/TV, widocznie większa dla symulacji MES względem pomiarów eksperymentalnych, co może bezpośrednio wynikać z uwzględnienia obrotu dla obszarów do głównych osi anizotropii na bazie analizy MIL przed obliczeniami oraz brak istotnych korelacji dla pozostałych parametrów morfometrycznych,
- moduły ścinania  $G_{ij}^s$ : silna dodatnia korelacja dla BV/TV oraz brak istotnych korelacji dla pozostałych parametrów, analogicznie jak w przypadku  $E_i^s$  uzyskanych w symulacjach MES,
- współczynniki Poissona  $\nu_{ij}^s$ : brak korelacji dla parametrów morfometrycznych,
- gęstość pozorną  $\rho_a$ : silna dodatnia korelacja dla BV/TV, co potwierdza słuszność wyboru tego parametru jako znormalizowanej gęstości w modelu Zysseta–Curniera.

Tabela 6.2. Wartości liczbowe korelacji Pearsona ( $r$ ) pomiędzy najważniejszymi parametrami morfometrycznymi oraz wyznaczonymi eksperymentalnie wartościami modułów Younga w 3 kierunkach ( $E_i^e$ ) oraz gęstością pozorną ( $\rho_a$ ) dla wypreparowanych próbek kości gąbczastej.

	BV/TV	BS/BV	Tb.Th	Tb.Sp	Conn.D	EF*	DA
$E_1^e$	<b>0,69</b>	-0,44	0,45	-0,45	-0,11	-0,29	-0,18
$E_2^e$	<b>0,83</b>	-0,50	0,51	-0,59	-0,04	-0,17	-0,18
$E_3^e$	<b>0,79</b>	-0,39	0,43	-0,60	0,01	-0,09	-0,26
$\rho_a$	<b>0,85</b>	-0,47	0,50	-0,62	-0,01	-0,38	-0,14

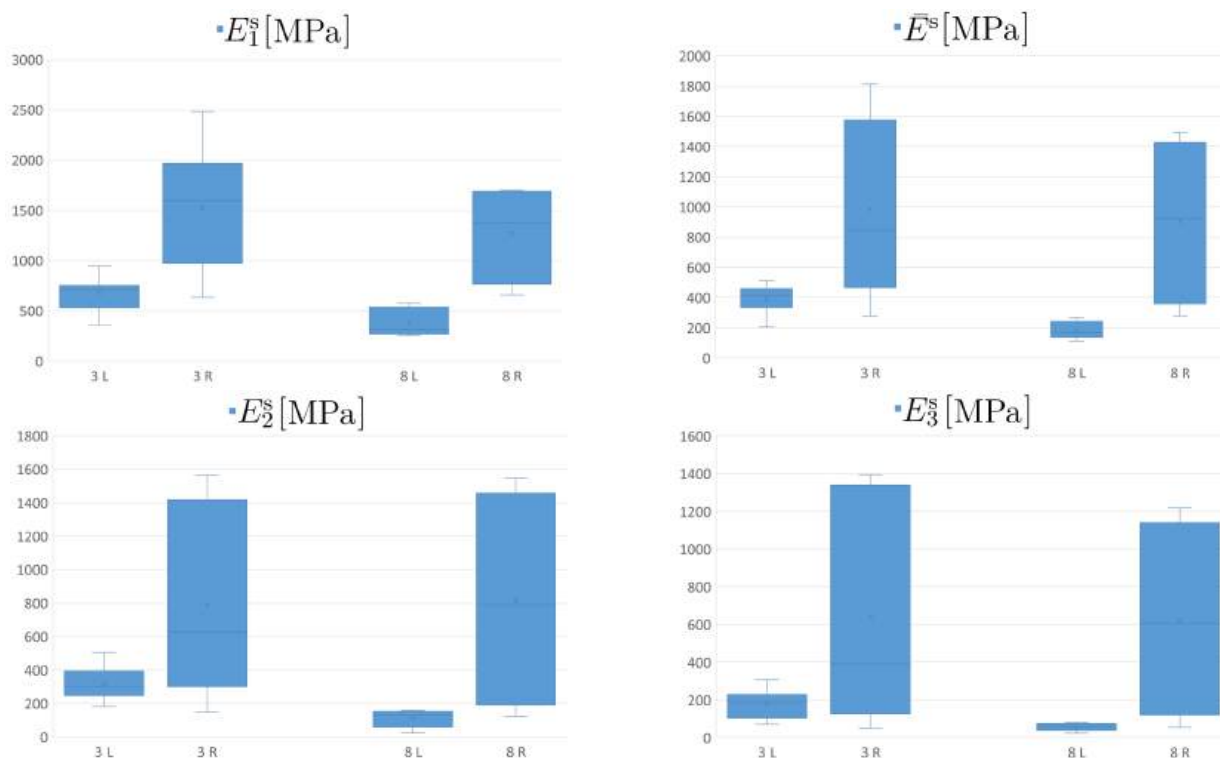
Tabela 6.3. Wartości liczbowe korelacji (parametr  $r$ ) pomiędzy parametrami morfometrycznymi oraz wyznaczonymi z użyciem symulacji MES wartościami modułów Younga dla 3 kierunków ( $E_i^s$ ), 3 modułów ścinania ( $G_{ij}^s$ ) oraz 3 współczynników Poissona ( $\nu_{ij}^s$ ) dla próbek kości gąbczastej ( $n = 70$ ).

	BV/TV	BS/BV	Tb.Th	Tb.Sp	Conn.D	EF*	DA
$E_1^s$	<b>0,96</b>	-0,56	0,65	-0,71	0,00	0,15	-0,31
$E_2^s$	<b>0,97</b>	-0,56	0,72	-0,62	-0,09	0,32	-0,55
$E_3^s$	<b>0,96</b>	-0,57	0,68	-0,62	-0,08	0,40	-0,57
$G_{23}^s$	<b>0,95</b>	-0,57	0,66	-0,63	-0,12	0,27	-0,44
$G_{13}^s$	<b>0,96</b>	-0,57	0,66	-0,64	-0,07	0,28	-0,40
$G_{12}^s$	<b>0,93</b>	-0,56	0,66	-0,60	-0,05	0,35	-0,57
$\nu_{23}^s$	0,10	0,03	0,04	-0,10	0,00	0,28	-0,28
$\nu_{13}^s$	0,29	-0,04	0,25	-0,14	-0,07	0,31	-0,49
$\nu_{12}^s$	-0,20	0,21	-0,19	0,06	0,19	-0,18	0,21

Uzyskane wyniki analizy statystycznej korelacji pomiędzy wartościami z pomiarów i symulacji, a parametrami morfometrycznymi, mogą stanowić dobrą podstawę do użycia modelu uśredniającego bazującego na relacji morfometria-właściwości mechaniczne. Uzyskane wyniki są zgodne z poprzednimi opracowaniami, w których wykazano, że modele wiążące frakcję objętościową (BV/TV) i wartości własne  $m_i$  tensora struktury  $\mathbf{M}$  wyjaśniają około 94–97% wariancji w ortotropowych składowych tensora sztywności kości gąbczastej w modelu Zysseta–Curniera [65, 122], który zdecydowano się wykorzystać jako dobrze odpowiadający postawionym celom.

### 6.4.2. Parametry modelu uśredniającego

Na rysunku 6.12 zamieszczono wykresy z uśrednionymi wynikami dla 3 prostopadłych kierunków ( $E_1^s \geq E_2^s \geq E_3^s$ ) oraz średnich ( $\bar{E}^s$ ) z symulacji MES testów ściskania dla próbek wypreparowanych z wołowych kości udowych (K07, K03) w różnym wieku, z podziałem na anatomiczną stronę lewą (L) i prawą (R), oznaczające miejsce wycięcia i pomiarów obszarów poddawanych różnym obciążeniom ściskającym, rozciągającym i skręcającym (rozdział 3).



Rysunek 6.12. Wykresy z uśrednionymi wynikami wartości modułów Younga dla trzech prostopadłych kierunków ( $E_1^s \geq E_2^s \geq E_3^s$ ) oraz wartości średniej ( $\bar{E}^s$ ) z symulacji MES w postaci testów ściskania dla kości K07 (wiek 3 lat) i K03 (wiek 8 lat) z podziałem na stronę lewą (L) i prawą (R).

Do analizy wybrano kości makroskopowe, uwzględniając założenia dla wyznaczenia parametrów modelu uśredniającego (podrozdział 6.4.2) oraz dalszej analizy wieloskalowej na bazie układu kostno-mięśniowego (rozdział 7). Wykorzystano dane kości, dla których otrzymano najwięcej wypreparowanych próbek ( $n = 33$ ) i wysokorozdzielczych pomiarów  $\mu$ CT oraz wyciętych cyfrowo podobszarów z niskorozdzielczych pomiarów  $\mu$ CT ( $n = 20$ ). Widoczna jest znaczna różnica pomiędzy ortoropowymi właściwościami mechanicznymi próbek z obu stron, dla poszczególnych kierunków oraz w przypadku wartości średniej, analogicznie dla kości w różnym wieku. Tożsame przebiegi uzyskano w przypadku wartości frakcji objętościowej (rysunek 5.13). Charakterystyczna jest duża rozpiętość dla prawej strony i mała dla lewej, potwierdzająca zróżnicowanie we właściwościach mechanicznych. Uzyskane wartości są zgodne ze średnimi i odchyleniami z danych literaturowych dla wołowych kości udowych (podrozdział 2.4.2).

W tabeli 6.4 zawarte zostały wyznaczone uzyskane wartości z wyników symulacji MES (9 parametrów) dla podobszarów próbek wyciętych zgodnie z orientacją głównych osi anizotropii, analizy MIL (znormalizowane wartości własne  $m_i$ ) oraz frakcji objętościowej (BV/TV) dla kości K07. Łącznie uzyskano zestawy 13 wartości ( $E_1^s, E_2^s, E_3^s, G_{12}^s, G_{23}^s, G_{31}^s, \nu_{12}^s, \nu_{23}^s, \nu_{31}^s, BV/TV, m_1, m_2, m_3$ ). Frakcja objętościowa (BV/TV) utożsamiana jest w tym przypadku ze znormalizowaną gęstością  $\rho$  występującą w modelu Zysseta-Curniera. Widoczne jest duże zróżnicowanie uzyskanych wyników, w tym anizotropia przechodząca od trzech ortotropowych kierunków, po dwa wyróżnione kierunki, aż do jednego wyróżnionego kierunku, przejawiająca się we wzajemnych stosunkach wartości modułów oraz wartości własnych. Także w przypadku frakcji objętościowej w obrębie pojedynczej kości makroskopowej widzimy duże zróżnicowanie, od obszarów o wysokiej porowatości (BV/TV= 0,15), aż do obszarów ze stosunkowo wysoką porowatością (BV/TV= 0,4). Również dla uzyskanych wartości współczynników Poissona widoczne jest wewnętrzne zróżnicowanie wzajemnych relacji oraz rozrzut od niskich (0,05) do wysokich wartości (0,5) wynikający z różnic we właściwościach struktury, w tym morfologii, topologii i kierunkowości beleczek kostnych. Wszystkie zestawy danych uzyskanych na potrzeby optymalizacji parametrów modelu uśredniającego zostały zawarte zbiorczo w dodatku C.

Tabela 6.4. Zestawy parametrów złożonych z wyników symulacji MES ( $E_i^s, G_{ij}^s, \nu_{ij}^s$ ), analizy MIL (wartości własne  $m_i$ ) oraz frakcji objętościowej (BV/TV), uzyskanych dla próbek kości gąbczastej ( $n = 14$ ) z kości udowej (K07) po selekcji do optymalizacji parametrów modelu uśredniającego.

	$E_1^s$	$E_2^s$	$E_3^s$	$G_{12}^s$	$G_{13}^s$	$G_{23}^s$	$\nu_{12}^s$	$\nu_{13}^s$	$\nu_{23}^s$	BV/TV	$m_3$	$m_2$	$m_1$
1	2124,70	1384,90	1286,60	686,81	654,69	470,50	0,18	0,29	0,30	0,37	0,53	1,15	1,32
2	2481,20	1562,10	1395,20	772,92	686,45	501,06	0,15	0,18	0,35	0,40	0,55	1,18	1,27
3	970,24	288,71	228,25	202,56	159,99	74,24	0,10	0,10	0,33	0,19	0,44	1,10	1,47
4	941,13	311,45	212,94	223,86	163,64	88,15	0,10	0,11	0,49	0,19	0,39	1,13	1,49
5	1061,6	318,66	165,15	212,42	112,74	65,03	0,05	0,11	0,51	0,20	0,38	0,98	1,64
6	1618,70	531,57	391,57	319,96	288,57	128,71	0,10	0,10	0,41	0,26	0,34	1,25	1,41
7	1464,90	628,07	354,52	390,79	221,48	150,38	0,08	0,14	0,48	0,25	0,46	0,96	1,58
8	718,70	400,34	194,37	150,67	70,03	59,20	0,08	0,13	0,41	0,17	0,53	0,84	1,63
9	497,52	241,54	71,63	100,87	45,70	28,52	0,10	0,14	0,52	0,14	0,52	0,82	1,66
10	449,63	417,06	104,73	101,58	71,22	59,01	0,10	0,17	0,53	0,16	0,69	0,81	1,50
11	1805,30	1451,80	1393,70	654,85	618,24	499,32	0,26	0,28	0,31	0,37	0,16	1,27	1,57
12	706,76	269,46	231,34	142,30	93,01	75,44	0,08	0,17	0,31	0,18	0,66	0,96	1,37
13	1590,30	816,98	631,00	408,30	350,63	229,74	0,13	0,15	0,39	0,29	0,49	1,10	1,65
14	633,85	148,63	49,95	85,55	47,62	30,14	0,05	0,06	0,24	0,14	0,32	0,83	1,84

Wykorzystując otrzymane zestawy parametrów dla 2 kości makroskopowych (K03, K07), można było wykonać kalibrację wartości parametrów modelu Zysseta–Curniera z użyciem regresji wielokrotnej z pakietu *medtool*. Zagadnienie to wymagało starannej selekcji wartości, w tym odrzucenia wartości dla obszarów, które nie spełniały kryterium homogeniczności i ortotropowości na wystarczającym poziomie. Błędy dopasowania parametrów zostały zweryfikowane, co pozwoliło na otrzymanie dopasowań o wysokiej wiarygodności. Główną miarą oceny było wyznaczenie wartości współczynnika determinacji  $r^2$  (ang. *coefficient of determination, R-squared*) oraz skorygowanego współczynnika determinacji  $r_{adj}^2$  (ang. *adjusted coefficient of determination,*

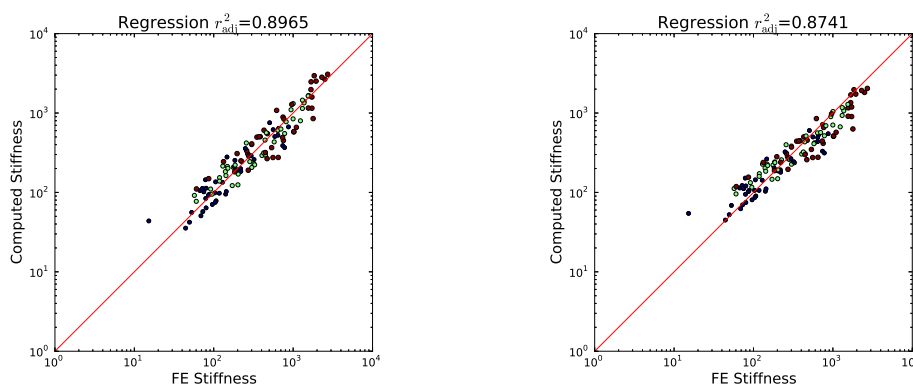


*adjusted R-squared*), który jest zmodyfikowaną wersją współczynnika  $r^2$ , zgodnie ze wzorem:

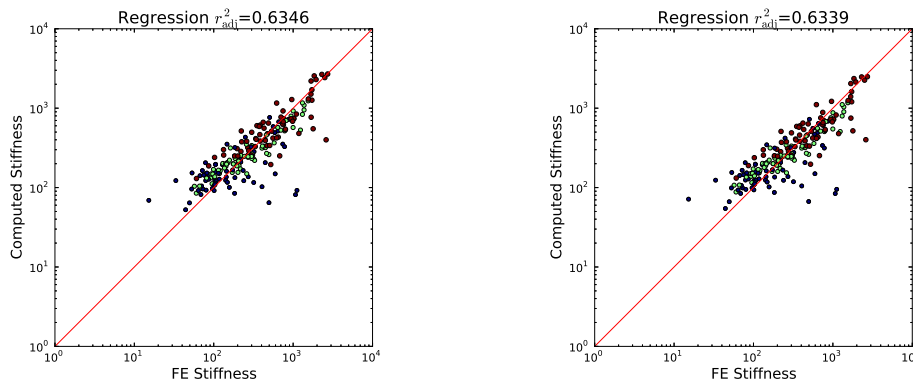
$$r_{\text{adj}}^2 = 1 - (1 - r^2) \frac{n - 1}{n - p - 1}, \quad (6.3)$$

gdzie  $n$  jest liczbą obserwacji,  $p$  to liczba zmiennych objaśniających w modelu (w przypadku modelu Zysseta–Curniera  $p = 5$ ), a  $r^2$  jest zwykłym współczynnikiem determinacji. Wartość  $r_{\text{adj}}^2$  jest używana szczególnie w modelach regresji wielokrotnej, aby lepiej i wiarygodniej ocenić dopasowanie modelu przy dużej liczbie zmiennych, ponieważ dodanie kolejnych zmiennych może sztucznie zwiększać wartość  $r^2$ , nawet gdy nie wnoszą one istotnej informacji. Regresja wielokrotna jest matematycznie poprawna, jeżeli obejmuje wyłącznie parametry niezależne. Układ wielu równań liniowych został utworzony po transformacji logarytmicznej modelu anizotropii-sprężystości struktury [155]. Liniowa regresja wielokrotna uzyskanego układu równań miała na celu zminimalizowanie sumy kwadratów reszt pomiędzy tensorami sztywności na bazie wyników symulacji (tensor  $C^s$ ) i przewidywanych przez model uśredniający (tensor  $C^m$ ).

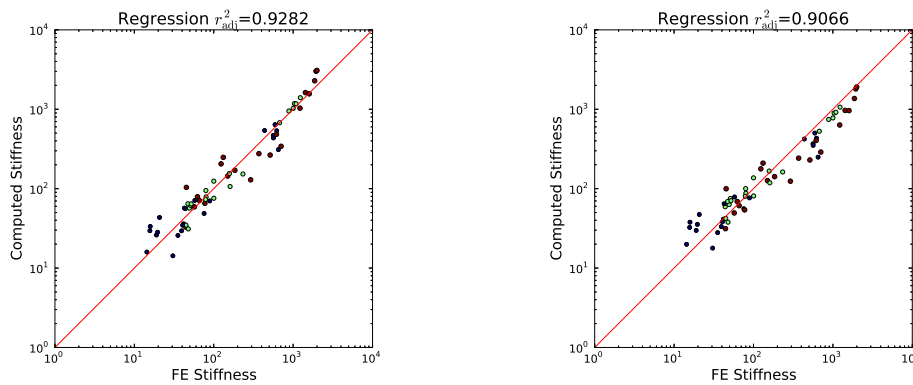
Poniżej zaprezentowano wykresy zależności sztywności na bazie symulacji MES (ang. *FE stiffness*) na osi  $x$  oraz sztywności wyznaczonej z modelu uśredniającego (ang. *computed stiffness*) na osi  $y$ , z oznaczeniem uzyskanej wartości  $r_{\text{adj}}^2$ . Wykresy 6.16, 6.15, 6.14, 6.13, 6.17, 6.18 oraz 6.19 posiadają skalę logarytmiczną, a punkty zostały oznaczone kolorami: **czzerwony** (moduły Younga), **zielony** (moduły ścinania), **niebieski** (współczynniki Poissona). Tym samym każdemu użytemu zestawowi parametrów z danego obszaru odpowiadało 9 naniesionych wartości (oznaczenia zgodne z danymi uzyskanymi na bazie pakietu *medtool*). Biorąc pod uwagę homogenizację z użyciem modelu Zysseta–Curniera w celu otrzymania dobrego dopasowania, szczególnie istotna była orientacja obszarów zbliżona możliwie do ortotropowej (założenia modelu z podrozdziału 2.3.2) oraz homogeniczność w obrębie mikrostruktury (analiza czułości).



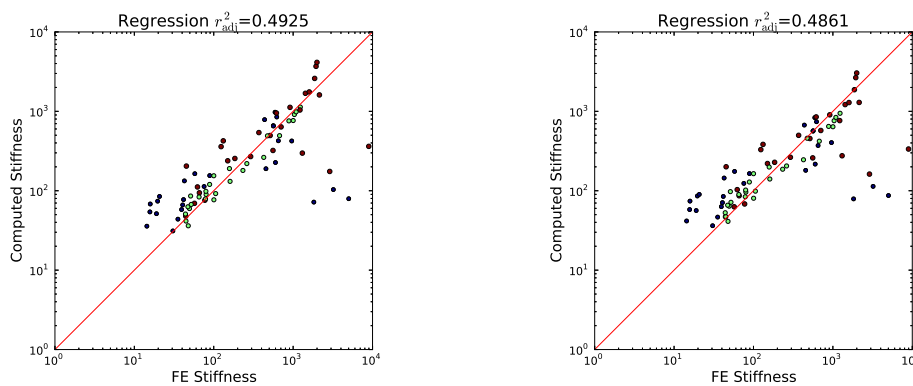
Rysunek 6.13. Wykres zależności wyników w skali logarytmicznej na bazie symulacji MES (na osi  $x$ ) oraz wartości wyznaczonych z modelu Zysseta–Curniera (na osi  $y$ ) po regresji wielokrotnej dla próbek kości gąbczastej z kości udowej (K07), z optymalizacją tensora sztywności oraz selekcją homogeniczności ( $n = 14$ ). Wyniki regresji dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu wartości  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej), z oznaczeniem wartości  $r_{\text{adj}}^2$ . Naniesione wartości modułów Younga (kolor **czzerwony**), modułów ścinania (kolor **zielony**) i współczynników Poissona (kolor **niebieski**).



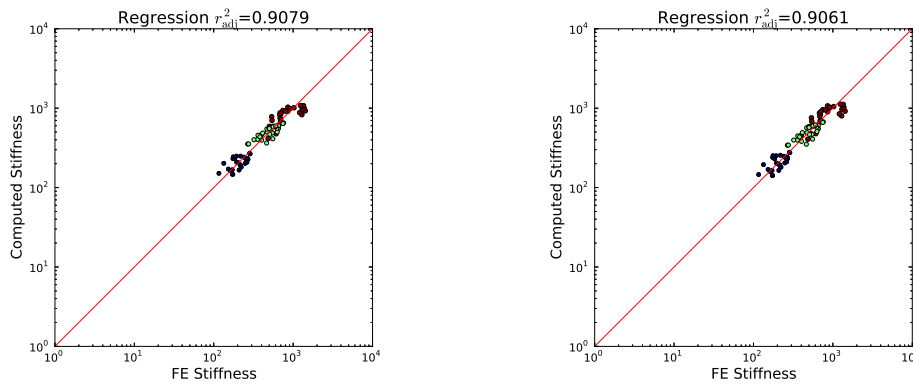
Rysunek 6.14. Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla próbek kości (K07), bez optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności ( $n = 23$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej).



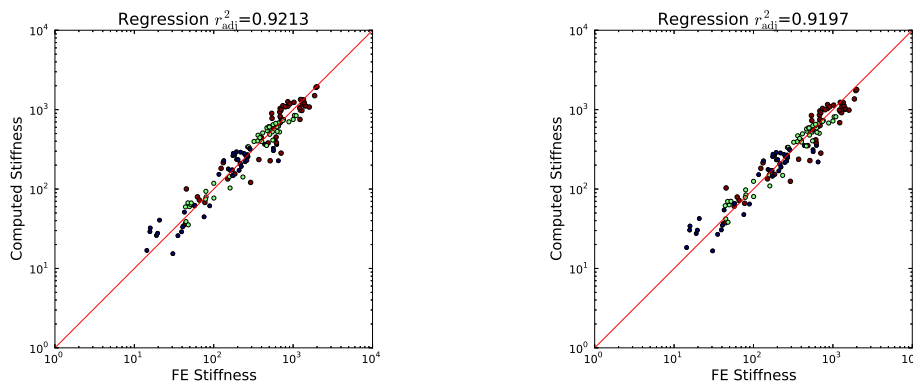
Rysunek 6.15. Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla próbek kości (K03), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 7$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej).



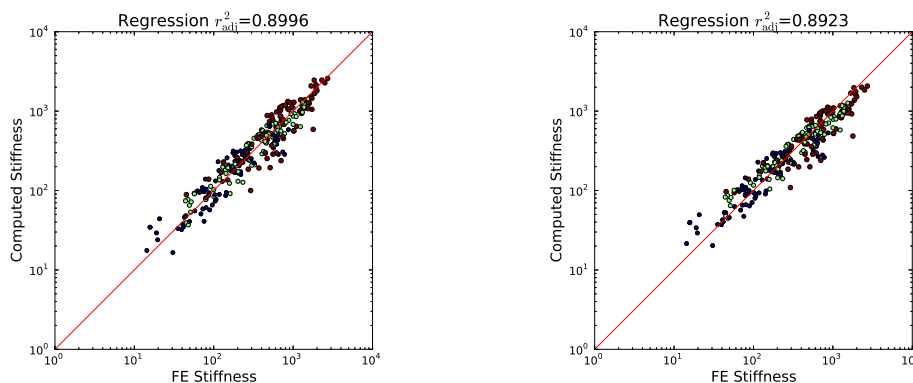
Rysunek 6.16. Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla próbek kości (K03), bez optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności ( $n = 9$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej).



Rysunek 6.17. Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla wyciętych obszarów kości (K03), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 9$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej).



Rysunek 6.18. Wykres regresji wyników symulacji MES i wartości z modelu Zysseta-Curniera zbiorczo dla próbek i wyciętych obszarów (K03), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 16$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów (po lewej) i dla  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej).



Rysunek 6.19. Wykres zależności wyników regresji wielokrotnej na bazie symulacji MES i wartości z modelu Zysseta-Curniera zbiorczo dla wyciętych obszarów i próbek 2 różnych kości (K03, K07), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 30$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej), z oznaczeniem wartości  $r_{adj}^2$ .

W tabeli 6.5 wylistowano wartości modelu Zysseta–Curniera ( $E_0^m$ ,  $\nu_0^m$ ,  $G_0^m$ ,  $k$ ,  $l$ ) uzyskane dla różnych zestawów ( $n$ ) na bazie regresji wielokrotnej wyników z symulacji MES i przewidywanych przez model dla wyciętych obszarów i próbek z 2 różnych zwierzęcych kości udowych (K03 i K07), z uwzględnieniem optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności. Wszystkie zestawy danych na bazie optymalizacji parametrów modelu uśredniającego zostały zawarte zbiorczo w dodatku C.

Tabela 6.5. Parametry modelu Zysseta–Curniera ( $E_0^m$ ,  $\nu_0^m$ ,  $G_0^m$ ,  $k$ ,  $l$ ) uzyskane dla różnych zestawów ( $n$ ) na bazie regresji wielokrotnej wyników z symulacji MES i przewidywanych przez model dla wyciętych obszarów i próbek z 2 różnych zwierzęcych kości udowych (K03 i K07), z uwzględnieniem optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności. Dla wszystkich zestawów wylistowano wyniki regresji wielokrotnej dla wszystkich parametrów ( $p = 5$ ), jak i po wymuszeniu wartości  $E_0^m = 10$  GPa.

Oznaczenie zestawów	$n$	$E_0^m$ [MPa]	$\nu_0^m$	$G_0^m$ [MPa]	$k$	$l$	$r^2$	$r_{\text{adj}}^2$
próbki kości gąbczastej (K07)	14	22428,013	0,200	6787,269	2,410	0,262	0,8997	0,8965
		10000,000	0,231	3726,685	2,015	0,244	0,8780	0,8741
próbki kości gąbczastej (K03)	7	25730,682	0,196	7583,432	2,404	0,579	0,9326	0,9282
		10000,000	0,242	4005,401	2,057	0,582	0,9122	0,9066
wycięte obszary (K03)	9	6303,735	0,205	2187,182	1,692	0,367	0,9123	0,9079
		10000,000	0,204	3437,270	2,048	0,361	0,9122	0,9061
obszary i próbki (K03)	16	12261,761	0,201	3960,707	2,103	0,501	0,9234	0,9213
		10000,000	0,211	3453,224	2,013	0,508	0,9218	0,9197
obszary i próbki (K03, K07)	30	15470,935	0,203	4883,537	2,227	0,312	0,9010	0,8996
		10000,000	0,221	3588,440	2,020	0,310	0,8938	0,8923

Dla obszarów cyfrowo wyciętych z kości i próbek kości gąbczastej (K03, K07) zestawionych osobno oraz zbiorczo, otrzymano wysokie wartości współczynników determinacji  $r^2$  i  $r_{\text{adj}}^2$  z regresji wielokrotnej parametrów modelu Zysseta–Curniera, na poziomie wartości granicznej ( $r_{\text{adj}}^2 = 0,9$ ) określanej jako wiarygodna, zarówno dla wszystkich parametrów ( $p = 5$ ), jak i po wymuszeniu wartości  $E_0^m = 10$  GPa. Jednak wartości te uzyskano jedynie dla zestawów z uwzględnieniem optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności, co pokazano na wykresach zależności wyników regresji wielokrotnej uwzględniających błędne dopasowania bez optymalizacji i selekcji. Potwierdza to założenie o warunkach niezbędnych do poprawnego użycia warunków brzegowych PMUBC w symulacjach  $\mu$ FE oraz modelu Zysseta–Curniera, tzn. symetrii możliwie zbliżonej do ortropowej oraz homogeniczności mikrostruktury dla obszarów reprezentatywnych. Widać, że wykluczenie z analizy nawet małej liczby niereprezentatywnych zestawów ( $n = 7$  zamiast  $n = 9$  dla K03), diametralnie zmienia wartości dopasowania ( $r_{\text{adj}}^2$  z 0,4861 na 0,9066). Warto jednak skomentować różnice wynikające z pierwotnej rozdzielczości obrazowania obszarów wykorzystanych do uzyskania wyników analizy  $\mu$ FE i morfometrii. Wartości  $E_0^m$  oraz  $G_0^m$  uzyskana z automatycznego dopasowania (bez wymuszania wartości  $E_0^m = 10$  GPa), są wielokrotnie mniejsze dla regresji uwzględniającej wyniki dla wyciętych podobszarów, zestawiając z wartościami dla próbek ( $E_0^m = 22428,013$  MPa dla kości K07,  $E_0^m = 25730,682$  MPa dla starszej kości K03). Również zestawiana wartość wykładnika  $k$  dla znormalizowanej gęstości jest mniejsza (poniżej 2). Niemniej jednak także i w tym przypadku

uzyskano wiarygodne dopasowanie. Rezultat ten wynika zarówno z homogeniczności obszaru bazowego kości udowej z którego były wycinane podobszary (wartości na wykresie nie są od siebie oddalone), jak i różnicy skal pomiarowych (mezo z wokselem  $6,5\ \mu\text{m}$  przeskalowanym 3-krotnie dla próbek, makro z wokselem  $45,6\ \mu\text{m}$  dla podobszarów), wpływających na otrzymywane wartości parametrów morfometrycznych oraz sprężystych stałych materiałowych. Jednak uwzględnienie wyników dla cyfrowo wyciętych podobszarów kości przy dopasowaniu wartości parametrów Zysseta–Curniera, było istotne w kontekście uzyskania zestawu parametrów odpowiednich do wykorzystania w analizie wieloskalowej bazującej na pomiarach kości w skali makro (rozdział 7). Widać to w przypadku znajdujących się pomiędzy skrajnymi wartościami  $E_0^m$  oraz  $G_0^m$ , uzyskanych w przypadku zestawów, które uwzględniały dane z obu skal pomiarowych, przy zachowaniu dopasowania na wystarczająco dobrym poziomie. Warto podkreślić że opcjonalne podejście z wymuszeniem wartości  $E_0^m=10\ \text{GPa}$  przy dopasowaniu, zgodne z wartością przyjętą jako dane wejściowe w analizie  $\mu\text{FE}$  w zakresie liniowo–sprężystym, może pozwolić na liniowe przeskalowanie uzyskanych wyników parametrów  $E_0^m$  i  $G_0^m$ , bez zmiany pozostałych bezwymiarowych parametrów  $\nu_0^m$ ,  $k$  i  $l$ , oraz jakości dopasowania, w przypadku kiedy również wyniki  $\mu\text{FE}$  zostaną liniowo przeskalowane. Daje to możliwość bezkosztowej zmiany wartości parametrów, np. przy uwzględnieniu wyników pomiarów eksperymentalnych jak nanoindentacja i mikroindentacja [156, 190], bez ponownego wykonywania regresji wielokrotnej.

Potwierdzono, że frakcja objętościowa oraz wartości własne tensora struktury z pomiaru anizotropii w połączeniu ze stałymi sprężystymi są wiarygodnymi zmiennymi objaśniającymi liniowo–sprężyste zachowanie kości gąbczastej, a wartości pozornej sztywności zmieniają się liniowo wraz z modułem sprężystości tkanki  $E_0$ , w związku z czym ten ostatni nie wpływa na związek między morfometrią, a sprężystością [122]. Co istotne, dzięki kalibracji parametrów progowania lokalnego na bazie rejestracji (rozdziały 4 i 5) oraz wyników symulacji na bazie pomiarów eksperymentalnych (rozdziały 3 i 6), możliwe było uzyskanie wiarygodnych parametrów modelu uśredniającego dla danych z różnych kości makroskopowych zmierzonych w wysokorozdzielczych (woksel  $6,5\ \mu\text{m}$ ) i niskorozdzielczych (woksel  $45,6\ \mu\text{m}$ ) pomiarach  $\mu\text{CT}$ .

Do wieloskalowych symulacji z wykorzystaniem modelu kostno-mięśniowego (rozdział 7) zdecydowano się finalnie wykorzystać dane z pomiarów  $\mu\text{CT}$  wołowej kości udowej (K07), z której wypreparowano największą liczbę próbek kości gąbczastej ( $n = 23$ ) i dla której udało się skalibrować symulacje MES w skali mezo (wykres 6.10). Użyto wartości parametrów modelu Zysseta–Curniera zoptymalizowanych z użyciem regresji wielokrotnej na bazie wyników symulacji MES dla wysokorozdzielczych obrazów wypreparowanych próbek kości i obszarów wyciętych cyfrowo z niskorozdzielczego obrazowania  $\mu\text{CT}$ , dla których otrzymano najlepsze dopasowanie (wartość współczynnika  $r_{\text{adj}}^2$ ).

## 6.5. Dyskusja

Do realizacji celów postawionych w pracy istotne było wykorzystanie możliwie dużej liczby wypreparowanych próbek dla kości w różnym wieku, jak również szerokich zakresów wartości, w tym zwłaszcza dla wyników analizy morfometrycznej oraz znacznego zróżnicowania liniowo–sprężystych stałych materiałowych. Tak postawione cele udało się osiągnąć, dzięki czemu parametry modelu uśredniającego mogły zostać skutecznie skalibrowane i pozwalały na jego wiarygodne użycie w dalszej analizie wieloskalowej na bazie modelu kostno–mięśniowego (rozdział 7). Zastosowanie wydajnych analiz  $\mu$ FE weryfikowanych eksperymentalnie oraz skalibrowanych parametrów modelu Zysseta–Curniera pozwala na uśrednianie właściwości kości gąbczastej w symetrii ortropowej. Jednak założenia przyjęte podczas opracowania metodologii pozwalającej na zaawansowaną analizę i wydajne obliczenia mają pewne ograniczenia, wymagające pogłębionej dyskusji i odniesienia do innych prac.

Wołowe kości udowe okazały się być odpowiednie do zakładanych celów w badaniach, podobnie jak w pracy [42], w której uzyskano dla tego typu kości wyniki zbieżne z otrzymanymi w niniejszej pracy. W pracy tej użyto jednak nieoptymalnego zestawu parametrów morfometrycznych, bez uwzględnienia analiz z najnowszych doniesień literaturowych w tej tematyce. W szczególności istotny jest brak wykluczenia z dalszej analizy szeregu parametrów zależnych, pomimo opisów badań wprowadzających selekcję parametrów morfometrycznych dla danych na bazie obrazowania tomograficznego kości gąbczastej [169]. Uzyskane wyniki są także zgodne ze wcześniejszymi doniesieniami potwierdzającymi poprawność działania modelu uśredniającego nie tylko dla kości ludzkich, ale także dla kości zwierzęcych [217]. Jednak w porównaniu do innych opracowań, w których również zakładano silną zależność właściwości mechanicznych kości od frakcji objętościowej, w niniejszym opracowaniu wykorzystano analizę zróżnicowanej mikrostruktury na bazie wyselekcjonowanych 7 reprezentatywnych parametrów morfometrycznych (BV/TV, BS/BV, Tb.Th, Tb.Sp, Conn.D, EF\*, DA) dla zwierzęcych kości udowych, z różnych okresów życia danego gatunku. Pozwoliło to na wykorzystanie znacznie szerszego zakresu zmienności danego parametru, szczególnie w przypadku frakcji objętościowej i ortotropowej orientacji beleczek kości gąbczastej, które były bezpośrednio wykorzystywane przy optymalizacji parametrów modelu uśredniającego właściwości. Otrzymano wiarygodne korelacje potwierdzające zależność morfometrii i właściwości mechanicznych, w tym poszczególnych stałych sprężystych i gęstości pozornej. W przyszłości optymalne byłoby jednak zbudowanie modelu objaśniającego, który składałby się z wielu zmiennych, analogicznie jak w przypadku innych prac [65, 122]. Pozwoliłoby to na zbiorcze opracowanie uwzględniające łączny wpływ na właściwości różnych kombinacji zmiennych, w kontraście do wyznaczenia korelacji jedynie dla poszczególnych parametrów.

Wykorzystanie modelu Zysseta–Curniera staje się standardem w przypadku użycia modeli uśredniających do opracowań dla kości ludzkich na bazie obrazowania tomograficznego [119, 155, 122, 138, 37], w tym badań z weryfikacją eksperymentalną wyników symulacji jak

w pracy [65], gdzie uzyskano wiarygodne parametry modelu ( $E_0^m=22500$ ;  $\nu_0^m=0,3$ ;  $G_0^m=8650$ ;  $k=1,9$ ;  $l=0,99$ ). Powiązanie pomiarów eksperymentalnych, analizy morfometrycznej (BV/TV, MIL) i symulacji  $\mu$ FE (pakiet *ParOSol*, warunki KUBC, testy ściskania i ścinania) pozwala m.in. na kontrolowanie warunków brzegowych i łatwą interpretację wyników w przypadku innego badania z podobną metodologią, w którym wykorzystano model Zysseta–Curniera [106]. W opracowaniach dla kości ludzkich z ostatnich kilku lat charakterystyczne jest powoływanie się na dane bądź wartości parametrów modelu uzyskane na potrzeby wcześniejszych badań [208, 6], z czego w przypadku ostatniej przywołanej pracy z 2023 roku można wprost zestawzić elementy składowe metodologii analogiczne do tych z niniejszego opracowania (obszary w rozmiarze 5 mm, pakiety *ParOSol* i *medtool*, analiza  $\mu$ FE, warunki PMUBC, izotropowe właściwości tkanki kostnej  $E_0^s=12$  GPa,  $\nu^s=0,3$ ), także pozwalające na otrzymanie wiarygodnych wartości dla parametrów modelu ( $E_0^m=13758$ ;  $\nu_0^m=0,22$ ;  $G_0^m=4136$ ;  $k=2,01$ ;  $l=1,2$ ), które choć są uzyskane dla kości ludzkich, zestawia się również z wynikami dla kości zwierzęcych.

Również wykorzystanie danych na bazie pomiarów  $\mu$ CT w publikacjach z ostatnich kilku lat jest powszechne [177, 181, 11]. I choć standardem jest też użycie w większości opracowań zakresu liniowo–sprężystego w symulacjach, zgodnego z założeniami niniejszej pracy, w literaturze pojawiają się też nieliniowe rozszerzenia uwzględniające granicę sprężystości  $\sigma_Y$  (ang. *yield*) w pracach [175, 156]. Autorzy bazowych narzędzi takich jak pakiet *ParOSol* w dyskusji dotyczącej użycia kodu w takich scenariuszach wskazują, że równania liniowe efektywnie rozwiązywane przez algorytm (wielosiatkowa metoda gradientu sprzężonego, etap początkowego wygładzenia macierzy), można zaadaptować poprzez ostrożne dostosowanie do prostego nieliniowego zachowania materiału, utrzymując wysoką wydajność [51]. W dwóch niezależnych badaniach z ostatnich lat, również uwzględniono granicę sprężystości  $\sigma_Y$ , uzyskując izotropowy model materiału sprężysto–plastycznego [183, 171], z otwarto–źródłowym udostępnieniem modyfikacji pakietu *ParOSol* na potrzeby podejścia nieliniowego<sup>8</sup>. Podejście to może pozwolić w przypadku wykorzystania kodu do wiarygodnego modelowania przebudowy i przejść materiałowych na podstawie uzyskiwanych w obliczeniach wartości tensora sztywności. W przypadku badań *in vivo* kości zwierzęcych w literaturze można odnaleźć modele do przebudowy kości gąbczastej [130]. W ogólności anizotropowa postać tensora charakteryzuje odpowiedź kości gąbczastej w zakresie sprężystości na dowolne możliwe obciążenia [166], dlatego w przypadku modelowania dla kości ludzkiej można wykorzystywać zróżnicowane statyczne i dynamiczne schematy przyłożonych sił i zadawanych odkształceń [208].

W badaniach z literatury powiązanej tematycznie z niniejszą pracą, standardowo zakłada się izotropowe właściwości tkanki kostnej z globalną wartością  $E_0^s$  jako parametrem wejściowym do analiz  $\mu$ FE [119, 138, 37]. Spotkać można jednak podejścia wykorzystujące tego heterogeniczne mapowanie wartości  $E_0^s$  dla każdego woksela, a co za tym mikroelementu skończonego, na bazie modeli wyznaczających lokalne wartości gęstości bezpośrednio z danych w skali szarości z obrazowania  $\mu$ CT skalibrowanego na bazie dedykowanego fantomu [36]. Także alternatywne metody

8. Repozytorium projektu *NonlinearRoutine*: <https://github.com/ameliesas/NonlinearRoutine>

eksperymentalne jak nanoindentacja i mikroindentacja, mogą w przypadku wypreparowanych próbek pozwolić, aby precyzyjniej określić dla nich właściwości tkanki kostnej [156, 190]. Jak pokazują poprzednie badania, niejednorodna mineralizacja tkanek ma jedynie niewielki wpływ na pozorne właściwości mechaniczne [122]. Niemniej jednak każda morfologiczna cecha ujęta w rekonstrukcji  $\mu$ CT w skali mezo, może być odzwierciedlona w analizie  $\mu$ FE na bazie mapowania per woxel z użyciem możliwości pakietu *ParOSol*, bez utraty wydajności obliczeń i wzrostu zapotrzebowania na pamięć operacyjną. W związku z tym, zasadne jest stwierdzenie, że analiza tego typu może być najlepiej dopasowaną metodą do badania wpływu morfologii na sprężystość kości gąbczastej. Dlatego też należy uznać, że ograniczeniem analizy  $\mu$ FE wykorzystanej w niniejszym opracowaniu jest założenie jednorodnych i izotropowych wejściowych właściwości materiałowych tkanki kostnej w symulacjach. Jednak globalna wartość modułu Younga wynosząca 10 GPa została wybrana jako wiarygodna i przyjmowana powszechnie w literaturze, a zakres liniowo-sprężysty umożliwił przeskalowanie wyników symulacji na bazie eksperymentalnych wyników otrzymanych z testów ściskania. Podejście to dobrze koresponowało również z koncepcją wykorzystaną w modelu Zysseta–Curniera, gdzie również przyjmuje się globalne wartości stałych materiałowych, interpretowane jako parametry modelu ( $E_0^m$ ,  $G_0^m$ ,  $\nu_0^m$ ).

Dzięki ostatnim osiągnięciom w dziedzinie cyfrowej korelacji objętościowej (ang. *digital volume correlation*, DVC), możliwe jest bezpośrednie porównanie lokalnych przemieszczeń w eksperymentach i symulacjach na bazie danych obrazowych z  $\mu$ CT. Technika ta pozwala jednocześnie na lepszą weryfikację pomiarów oraz na rozszerzenie uzyskanych wyników stałych materiałowych [212, 36, 181]. Jednak możliwość wyznaczenia bezwymiarowych wartości współczynników Poissona na bazie testów ściskania z użyciem techniki DVC, choć rozszerzyłoby to wyniki pomiarów, nie wpłynęłyby na liniową kalibrację wyników symulacji MES z niniejszego opracowania. Niemniej jednak metodologia zweryfikowana w tym badaniu została zaprojektowana w taki sposób, żeby można było wykorzystać uzyskane dane, uwzględniając wykonanie testów obciążeniowych w trakcie pomiarów  $\mu$ CT oraz zapis danych niezbędnych do analizy DVC po wykonaniu symulacji. Analiza DVC została wstępnie zweryfikowana w badaniach właściwości struktur parametrycznych generowanych do wytwarzania rusztowań tkankowych, opublikowanych w pracach [91, 179]. Rozszerzenie możliwości pomiarowych jest również możliwe w przypadku podejść do testów ścinania, które są szczególnie utrudnione w przypadku takich materiałów jak kość gąbczasta. Choć w literaturze brakuje wiarygodnych wyników dla takich pomiarów z wyznaczeniem doświadczalnych wartości modułów ścinania, które mogłyby posłużyć do zaadaptowania i szerszej weryfikacji analiz  $\mu$ FE na bazie danych z  $\mu$ CT, to dedykowane urządzenia pomiarowe są już w fazie projektowej, np. w zespole prof. Pawła Lipińskiego z LaBPS w Metz, co może pozwolić w niedalekiej przyszłości na skuteczne wzbogacenie badań.

Liczba wykorzystanych w niniejszym opracowaniu zestawów z wynikami na potrzeby kalibracji parametrów modelu uśredniającego była niższa niż w przypadku innych badań, co może stanowić istotne ograniczenie. Większą liczbę zastosowano w symulacjach dla kości ludzkich



w pracach [155, 156], w których użyto podejścia z jedynie cyfrowym wycięciem obszarów bez uwzględnienia rzeczywistego wypreparowania próbek kości gąbczastej. Jednakże wykorzystana metodologia była w dużej części tożsama, łącząc użycie sześciennych obszarów w reprezentatywnych rozmiarach z obrazów  $\mu$ CT, z uwzględnieniem orientacji na bazie analizy MIL, założenie izotropowych właściwości tkanki kostnej w analizie  $\mu$ FE ze stałą wartością  $E_0$  oraz wykorzystanie modelu uśredniającego w sformułowaniu Zysseta–Curniera (orientacja tensora struktury z analizy MIL, pomiar BV/TV dla zbinaryzowanych danych). Wyniki zawarte w wymienionych pracach potwierdziły także zasadność stosowania warunków brzegowych typu PMUBC dla kości gąbczastej w zestawieniu z warunkami KUBC na potrzeby kalibracji parametrów modelu uśredniającego, ze szczególnym zwróceniem uwagi na wrażliwość na niejednorodność obszarów i właściwe zorientowanie zgodne z symetrią ortotropową. W przypadku innych analogicznych badań wykorzystano model Zysseta–Curniera dla kości ludzkich (bez weryfikacji eksperymentalnej), wyznaczając wartości parametrów morfometrycznych (BV/TV, analiza MIL) z użyciem pakietu *ImageJ* z wtyczką *BoneJ* i wykonując analizę  $\mu$ FE (izotropowa wartość  $E_0$ , warunki PMUBC/KUBC) dla obrazów z  $\mu$ CT jako podstawę do opracowania metodologii w celu zastosowania w przyszłości dla danych z obrazowania klinicznego z użyciem wysokorozdzielczych technik [122]. Zastosowanie jednorodnych warunków brzegowych może być jednak uznane jako ograniczenie, ponieważ rzeczywiste obciążenia oddziałujące na mikrostrukturę kości gąbczastej nie przyjmują takiej formy. W przypadku niniejszej pracy założono jednak, że najistotniejsze jest otrzymanie właściwości pozornych możliwie zbliżonych do efektywnych, stąd decyzja o zastosowaniu tego typu uproszczonego podejścia w przypadku obliczeniowych testów obciążenia, zgodnego z metodologią stosowaną w innych pracach i weryfikowanego eksperymentalnie.

W przypadku danych klinicznych na podstawie obrazowania tomograficznego model uśredniający pozwala na uzyskanie wiarygodnych wartości bez konieczności wykonania obliczeniowych testów obciążeniowych, ponieważ frakcja objętościowa w połączeniu z orientacją mikrostruktury na bazie analizy anizotropii stanowi generalnie najlepszy zestaw zmiennych objaśniających właściwości materiałowe dla kości gąbczastej [122]. Jednak technika przetwarzania obrazu stosowana w takich badaniach — złoty standard, metoda MIL (omówiona szczegółowo w podrozdziale 5.3.6) — jest skuteczna dla zbinaryzowanych obrazów w wysokiej rozdzielczości, takich jak te uzyskiwane za pomocą  $\mu$ CT, a nie do obrazów w skali szarości w niskiej rozdzielczości, uzyskiwanych za pomocą dostępnych klinicznie skanerów tomografii komputerowej. W tym przypadku można wykorzystać metody GST bądź GMIL do analizy anizotropii kości gąbczastej wprost z danych obrazowych w skali szarości w ograniczonej rozdzielczości [187, 129].

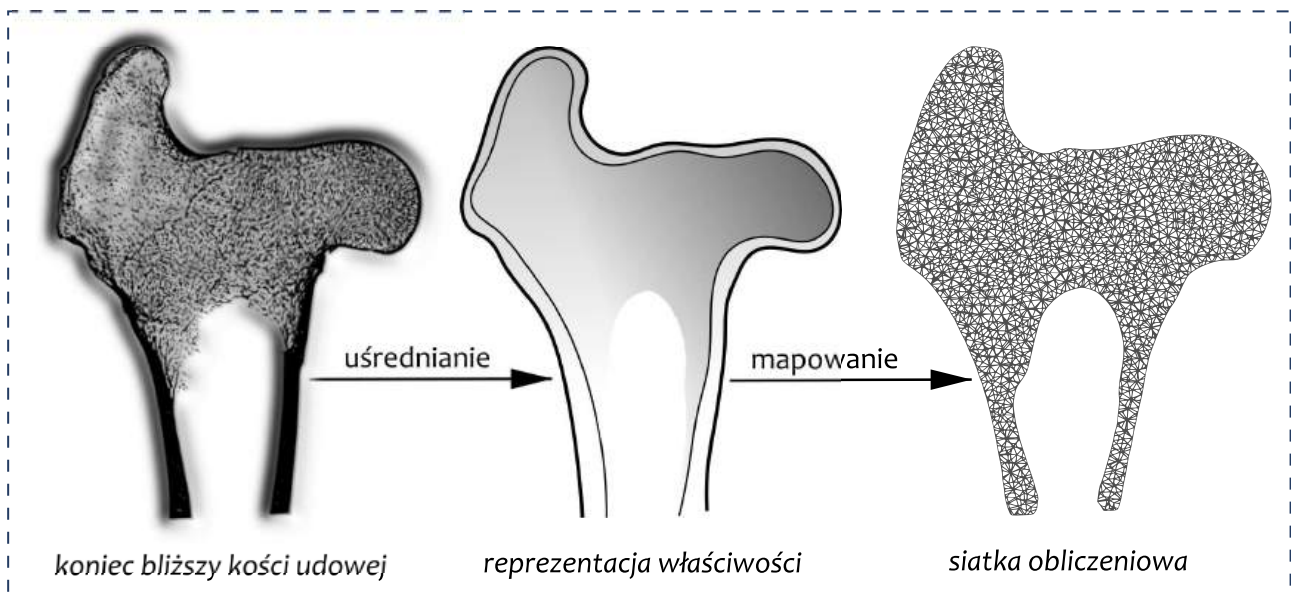
Zastosowanie wiarygodnych analiz  $\mu$ FE z użyciem wydajnego oprogramowania jak pakiet *ParOSol*, pozwala na zarządzanie pamięcią operacyjną na poziomie wymagań klinicznych. W przyszłości może to pozwolić na wykorzystanie opracowywanych rozwiązań dla danych wokselowych z wysokorozdzielczego obrazowania *in vivo*, jak obwodowa ilościowa tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości (HR-pQCT) i tomografia komputerowa wiązki stożkowej (CBCT). Trzeba jednak podkreślić, że choć tego typu podejście pozwala na uniknięcie niepo-

trzebnych stopni swobody i wykonywanie obliczeń na stacjach roboczych oraz komputerach zlokalizowanych w szpitalach, zamiast na klastrach wymagających połączenia sieciowego, to wymaga dodatkowych starań w celu wizualizacji i interpretacji wyników modelowania, w tym skorzystania z możliwości komplementarnych narzędzi takich jak pakiet *ParaView*.

Nałożenie warunków brzegowych PMUBC dla określonych obszarów kości gąbczastej na potrzeby analiz  $\mu$ FE w pakiecie *ParOSol* jest wykonywane w niniejszym opracowaniu z użyciem oskryptowania. Pozwala to na automatyzację i nie zamyka drogi do weryfikacji uzyskanych wartości z użyciem narzędzi takich jak *ParaView*, jednak nie daje możliwości interaktywnej zmiany definicji sformułowań, zwłaszcza w fazie dopracowywania metodologii. Jednak tego typu narzędzia wizualizacyjne mogą być zaadaptowane do użycia z interfejsem dostosowanym do interaktywnego określania warunków brzegowych na bazie wtyczek dedykowanych do innych pakietów (jak *VOX-FE* i *parFE*), opierając się na opcji rozszerzania możliwości tą drogą. Dzięki temu opracowana metodologia może być rozszerzona w przyszłości, w tym na potrzeby opracowań z obszaru spersonalizowanych symulacji i rusztowań tkankowych. Rezultaty użycia metodologii opracowanej w części dotyczącej symulacji MES w skali mezo zostały dotychczas zaadaptowane do zbadania obszarów kości o określonej strukturze i opublikowane w pracy [90].

Dla struktur o wysokiej porowatości (bardzo niskie wartości BV/TV) otrzymywane błędy określenia orientacji tensora struktury są relatywnie wyższe niż dla tych z wyższą frakcją objętościową, niezależnie od wykorzystanej metody analizy (MIL, GMIL, GST), czy też rodzaju opisu tensorowego (drugiego lub czwartego rzędu) [129]. W oczywisty sposób może wpływać to na rezultaty otrzymywane z użyciem modelu Zysseta–Curniera, bazujących na wynikach analizy stopnia anizotropii, np. zawyżając wskazania dla heterogenicznych próbek kości gąbczastej (wysoka porowatość) [156]. Problem ten odnosi się do generalnej potrzeby rozwiązania zagadnienia homogenizacji heterogenicznych obszarów w skali mezo i makro. W przypadku niniejszego opracowania zminimalizowano ten efekt przeprowadzając selekcję na bazie analizy homogeniczności i stopnia ortotropowości po obrocie tensora sztywności dla obszarów z pomiarów w obu skalach przed dopasowaniem parametrów modelu uśredniającego przeznaczonych do analizy wieloskalowej. Również na potrzeby cyfrowego wycięcia podobszarów z obrazów w skali makro, zdecydowano się na deterministyczne określenie obrazu źródłowego i użycie metody przesuwnej okna dla obszaru o niższej porowatości. W ogólności zebranie losowych próbek z różnych obszarów kości przed pomiarami  $\mu$ CT oraz losowych obrazów przy wycięciu cyfrowym podobszarów, oznaczałoby, że każde ujęcie badanego obiektu jest równie prawdopodobne [203]. Taki losowy charakter jest przyjmowany jako warunek konieczny do oszacowania ilościowych cech struktury badanego materiału. Odpowiednie uśrednienie właściwości jest oczekiwane zwłaszcza przy analizie układu kość–implant, jednak to zagadnienie nie było przedmiotem prac w niniejszym opracowaniu.

## Modelowanie w skali makro



Rysunek 7.1. Proces symulacji w skali makro: dyskretyzacja kości udowych i mapowanie uśrednionych ortotropowych właściwości materiałowych w celu analizy przewidywanego stanu obciążenia.

### Najważniejsze zagadnienia rozdziału

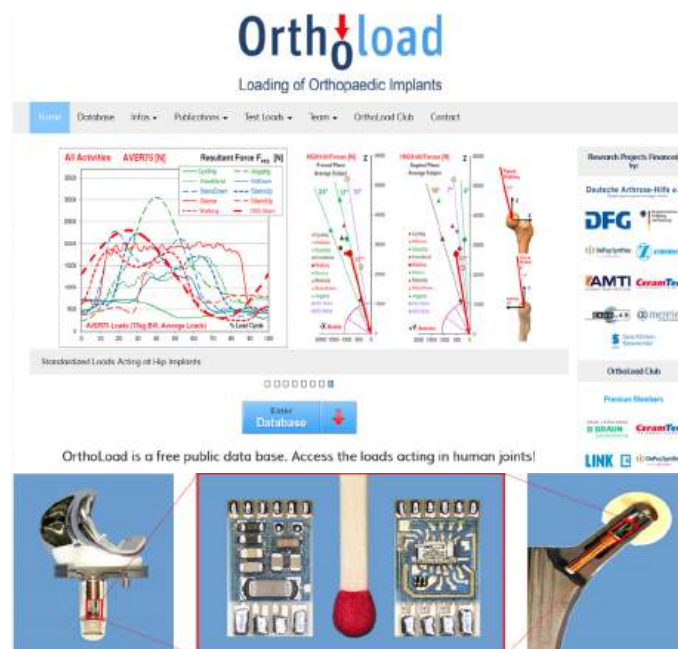
- Binaryzacja końca bliższego kości udowej z użyciem parametrów progowania lokalnego skalibrowanych po rejestracji próbek kości gąbczastej.
- Segmentacja kości zbitiej i gąbczastej wraz z generacją masek binarnych.
- Wyznaczenie parametrów morfometrycznych dla obszaru kości gąbczastej z kości udowej z użyciem masek binarnych.
- Utworzenie objętościowej siatki obliczeniowej na bazie maski binarnej z kością udową.
- Wykonanie mapowania właściwości materiałowych z użyciem modelu ortotropowego w elementach skończonych siatki obliczeniowej.
- Symulacja stanu obciążenia kończyny tylnej z użyciem modelu kostno-mięśniowego.
- Zbadanie wpływu użycia segmentacji, właściwości ortotropowych oraz rzeczywistej frakcji i orientacji dla kości gąbczastej na przewidywany rozkład naprężeń.

## 7.1. Wstęp

**P**RZEDSTAWIONE w poprzednich rozdziałach badania dotyczące mikrostruktury oraz własności mechanicznych kości makroskopowych z uwzględnieniem właściwości kości zbitej i gąbczastej, a także beleczek kostnych, mogą posłużyć do analizy wieloskalowej (ang. *multiscale analysis*). Metoda ta odnosi się do symulacji dla kilku skal jednocześnie i znajduje swoje zastosowanie w przypadku kości [168], stanowiąc często podstawę do wykonania zaawansowanej diagnostyki medycznej kości [162].

Jednak w wielu pracach dotyczących modelowania kości autorzy stosują bardzo przybliżone podejście w skali makro, w którym modeluje się tylko fragment kości lub kończyny. Najczęściej w symulacjach przykłada się siły tylko do analizowanego fragmentu kości, na ogół uwzględniając tylko wybrane węzły siatki elementów skończonych [178]. Takie podejście wydaje się być bardzo wrażliwe na wszelkiego rodzaju warunki brzegowe i zadane obciążenia. Niewielkie zmiany działających sił, a szczególnie kierunków ich działania mogą powodować całkowicie odmienne rozkłady naprężeń. Jest to bardzo istotny problem przy modelowaniu procesów adaptacji tkanki kostnej, w której następuje zmiana parametrów takich jak np. gęstość.

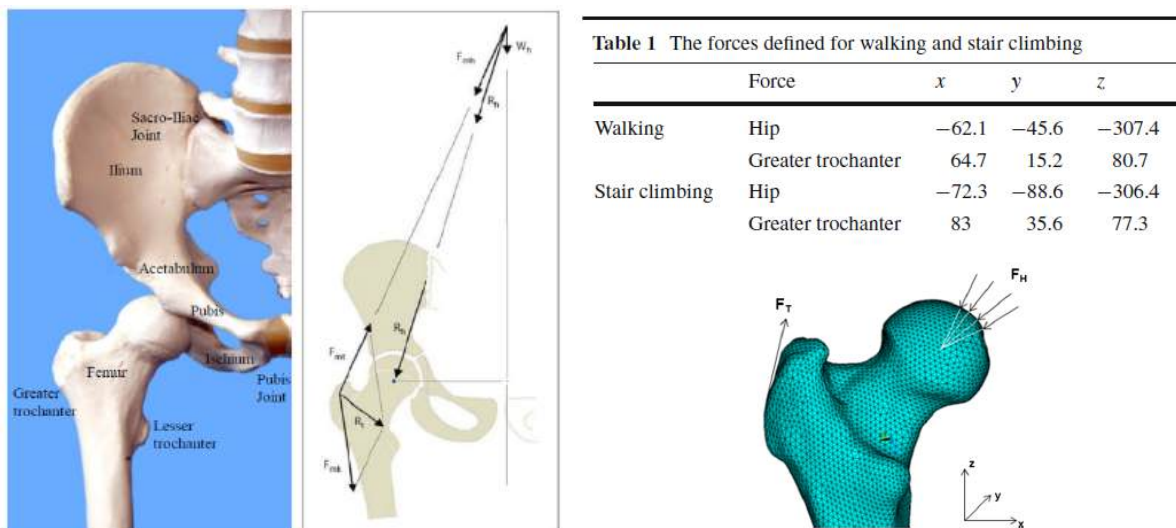
W wielu pracach dotyczących symulacji zachowania kończyn ludzkich autorzy korzystają z powszechnie dostępnej bazy danych *Orthoload*<sup>1</sup>. Twórcy bazy wykonali szereg eksperymentów mających na celu precyzyjne określenie obciążeń jakim poddawany jest m.in. staw biodrowy podczas typowych sytuacji takich jak pozycja prosta, czy też chodzenie po płaskiej powierzchni i po schodach. Typowe przebiegi cykli tego rodzaju i wykorzystywane w ich analizie urządzenia pomiarowe zostały przedstawione na rysunku 7.2.



Rysunek 7.2. Ilustracja możliwości bazy danych *Orthoload* sił działających na stawy ludzkie dla typowych przebiegów i urządzeń. Rysunek zaczerpnięto z głównej strony bazy danych *Orthoload*.

1. Baza danych *Orthoload*: <http://orthoload.com>

Dane te pochodzą przede wszystkim od pacjentów, którym wszczepiono implanty stawu biodrowego lub kolanowego, w których to umieszczono czujniki mierzące siły przenoszone przez implant. W bazie dostępne są pomiary sił oraz ich zmienność w czasie, co jest powszechnie wykorzystywane do bezpośredniego wskazania obciążeń działających na określone kości [72]. Użycie uśrednionych sił do określenia obciążeń kości zostało zilustrowane na rysunku 7.3.



Rysunek 7.3. Wykorzystanie uśrednionych sił do określenia obciążeń kości: zaadaptowanie sił działających na ludzki staw biodrowy z pracy [178] (po lewej), siły działające na kość udową w czasie chodzenia po płaskiej powierzchni i po schodach z pracy [72] (po prawej).

W ostatnim czasie coraz częściej zaczynają się jednak pojawiać doniesienia o bardziej zaawansowanych pracach, w których autorzy wykorzystują wysokorozdzielcze pomiary tomograficzne do stworzenia układów biomechanicznych uwzględniających działanie poszczególnych mięśni, a nie ich uśrednianie w postaci pojedynczych sił [56, 57, 208]. W rezultacie tego typu modele kostno-mięśniowe, choć kosztowniejsze obliczeniowo, uwzględniają realistyczne zachowanie pozostając kompatybilnymi z technikami homogenizacji.

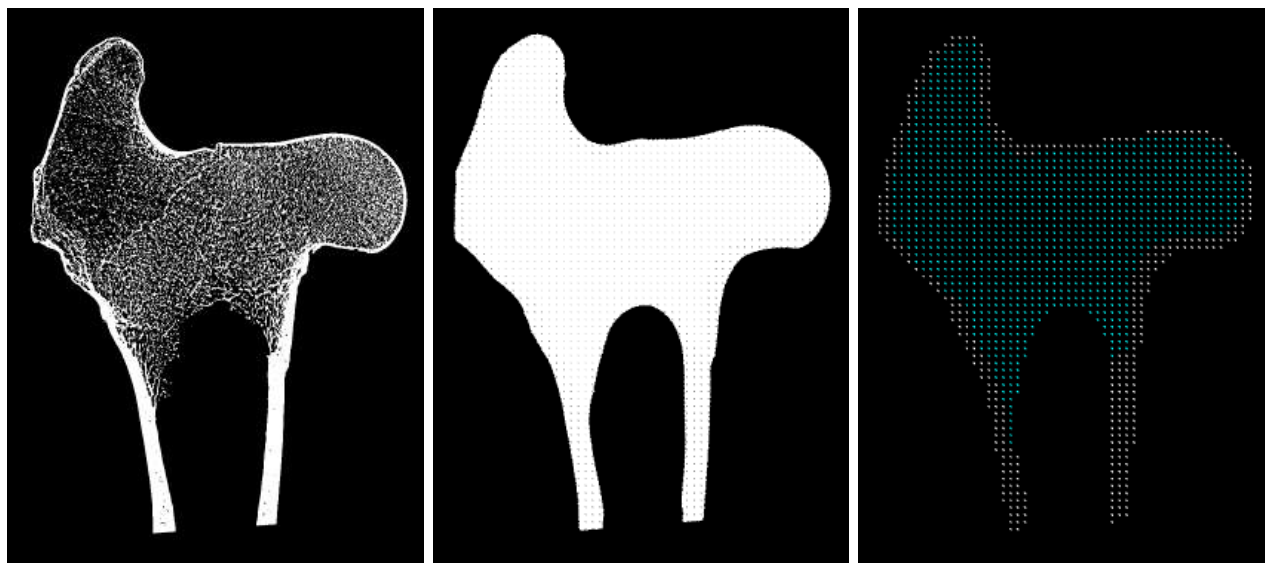
W celu przeprowadzenia realistycznej symulacji oraz zbadania wpływu własności na rozkład naprężeń w niniejszym opracowaniu wykorzystano opracowany model kończyny tylnej krowy. Przewidziano zbadanie wpływu uwzględnienia kości zbitej i mapowania ortotropowego zgodnie z aktualnymi trendami w literaturze [73, 153]. Założono, że tylko model pełnej kończyny może oddawać realne obciążenia, jakim podlega kość udowa w okolicy stawu biodrowego [213]. Aby odzwierciedlić realistyczne zachowanie kości udowej, konieczne było uwzględnienie wpływu sąsiadujących kości i przyczepionych mięśni na stan naprężeń wzdłuż kończyny. Tak przygotowany model umożliwi w przyszłości zasymulowanie dynamicznego obciążenia kończyny, co pozwoli na uzyskanie pełniejszego obrazu obciążeń jakim poddana jest rzeczywista kość. Odpowiednie poznanie zachowania kości pod wpływem obciążeń w tym obszarze pozwoli również w przyszłości na usprawnienie projektowania i budowy endoprotez stawu biodrowego.

## 7.2. Przygotowanie do symulacji

W celu wygenerowania siatek obliczeniowych MES i zmapowania w elementach skończonych stałych materiałowych w symetrii ortotropowej uzyskanych z modelu Zysseta–Curniera należało przetworzyć dane kości udowej (K07) uzyskane z obrazowania mikrotomograficznego.

### 7.2.1. Binarystacja i segmentacja

Przeprowadzono binaryzację końca bliższego kości udowej z użyciem parametrów progowania lokalnego (*ImageJ*, *Auto Local Threshold*) skalibrowanych po rejestracji próbek kości gąbczastej z dwóch rozdzielczości obrazowania mikrotomograficznego (zgodnie z informacjami zawartymi w rozdziale 5). W celu segmentacji obszaru zajmowanego przez kość zbitą i gąbczastą na oryginalny stos przekrojów poprzecznych nałożony został filtr Gaussa w wersji 3D z parametrem  $\sigma = 3$  dla trzech osi (*ImageJ*, *Gaussian Blur 3D*), a następnie próg globalny z ręcznie dobraną wartością 40% zakresu histogramu (*ImageJ*, *Threshold*), co dało w rezultacie maskę binarną odpowiadającą kości zbitej. Maskę binarną obejmującą całą kość została utworzona poprzez kilkukrotne zastosowanie filtru zamknięcia dziur z promieniem  $14 \times 14 \times 14$  pikseli (*3D Slicer*, *Voting Binary Hole Filling Image*), aż do osiągnięcia pożądanego efektu. Efekty binaryzacji i segmentacji zaprezentowano na rysunkach 7.4 i 7.5.

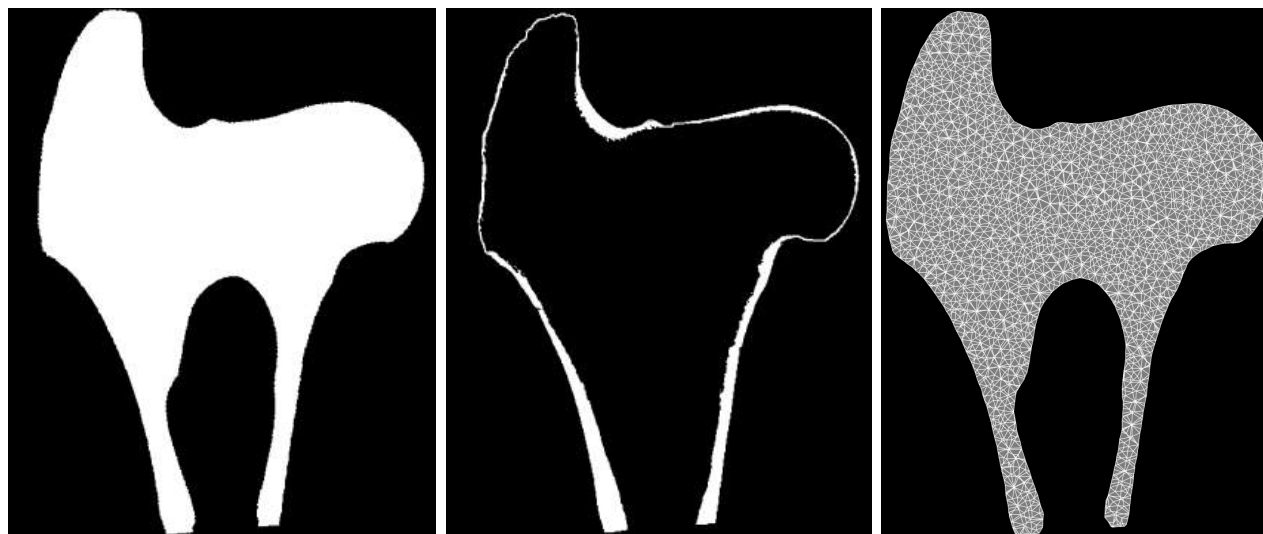


Rysunek 7.4. Zestawienie obejmujące kość po binaryzacji (po lewej), odpowiadającą jej maskę binarną wraz z naniesionymi markerami wyznaczającymi centra analizowanych obszarów (w środku) oraz wyodrębnione markery (kolor biały i niebieski) odpowiadające kości zbitej i gąbczastej (po prawej).

### 7.2.2. Analiza morfometryczna

Otrzymane zgodnie z powyższymi krokami maski binarne zostały wykorzystane do analizy morfometrycznej (*ImageJ*, *BoneJ*) obszaru zajmowanego w kości udowej przez kość gąbczastą na potrzeby mapowania właściwości (zgodnie z informacjami zawartymi w rozdziale 5). Bezpośrednio dla reprezentacji binarnej przeprowadzono pomiary morfometryczne frakcji (BV/TV)

oraz anizotropii (DA) wraz z informacją o wektorach i wartościach własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  na bazie metody MIL, wykorzystując reprezentatywne sześciiany o boku 5,472 mm (120 wokseli dla pomiaru z rozdzielczością 0,0456 mm) przemieszczane o 2,736 mm w trzech osiach.



Rysunek 7.5. Zestawienie przedstawiające przekroje poprzeczne maski binarnej końca bliższego kości udowej (po lewej), maski obszaru zajmowanego przez kość zbitą (w środku) oraz wygenerowanej objętościowej siatki obliczeniowej (po prawej).

Do przechowania wyników analizy morfometrycznej wykorzystano reprezentację pośrednią przyporządkowującą pomiary morfometryczne centrom badanych obszarów, pozwalającą na uniezależnienie od siatki elementów skończonych. Dzięki temu przy zmianie siatki (np. testowaniu zagęszczenia elementów) nie jest wymagane powtórne przeprowadzenie czasochłonnych analiz morfometrycznych anizotropii dla całego obszaru zajmowanego przez kość gąbczastą. Zestawienie obejmujące przekrój poprzeczny końca bliższego kości udowej po binaryzacji, odpowiadającą mu maskę binarną oraz markery wyznaczające centra obszarów analizowanych w trakcie mapowania zostało zilustrowane na rysunku 7.4.

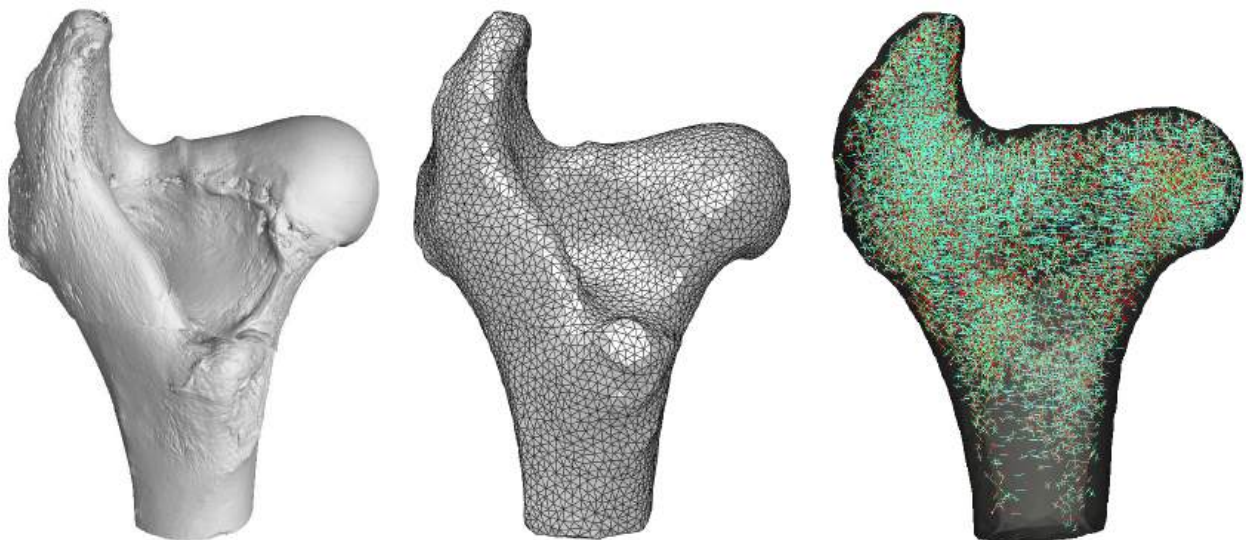
### 7.2.3. Generowanie siatek obliczeniowych

W celu utworzenia objętościowych siatek obliczeniowych hFE na potrzeby symulacji wykorzystano maskę binarną obejmującą koniec bliższy kości udowej oraz generator z biblioteki *CGAL* oparty na 3-wymiarowej triangulacji Delone wraz z możliwościami optymalizacji siatek [2]. Zdecydowano się na utworzenie siatki złożonej z elementów odpowiadających obszarom zajmowanym przez kość zbitą i gąbczastą w celu późniejszego mapowania właściwości w oparciu o reprezentację pośrednią utworzoną w trakcie analizy morfometrycznej. Przetestowano generowanie siatek z elementami czworociennymi z zakresu parametrów *facet size* (3–6) oraz *facet angle* (30–34), jak również zastosowanie optymalizacji siatek (globalne: *odt* i *lloyd* oraz lokalne: *perturb* i *exude*). Na ostateczny wybór kombinacji parametrów (32; 4,5; *odt+perturb*) zdecydowano się po weryfikacji jakości siatek, w tym otrzymanych kątów wygenerowanych ele-

mentów oraz ich równomiernemu rozłożeniu wewnątrz siatek. Docelowa lista węzłów ( $n = 6214$ ) i elementów typu  $C3D4$  ( $n = 29089$ ) dla kości K07 została zapisana z użyciem formatu INP (*Abaqus*). Zestawienie przedstawiające przekroje poprzeczne maski binarnej kości udowej, maski obszaru zajmowanego przez kość zbitą oraz siatki obliczeniowej zilustrowano na rysunku 7.5.

#### 7.2.4. Mapowanie właściwości do elementów

Do mapowania stałych materiałowych w symetrii ortotropowej dla kości gąbczastej wykorzystano model Zysseta–Curniera. Wartości te zostały przyporządkowane elementom skończonym siatki obliczeniowej. Parametry ( $E_0$ ,  $\nu_0$ ,  $G_0$ ,  $k$ ,  $l$ ) zostały zoptymalizowane dla mierzonych struktur (wyniki w podrozdziale 6.4.2) na bazie wyników analizy morfometrycznej frakcji objętościowej (BV/TV) i anizotropii (wartości i wektory własne tensora  $\mathbf{M}$ ). Otrzymane w ten sposób zależności posłużyły do wyznaczenia uśrednionych właściwości w obrębie zajmowanym przez kość gąbczastą. Wobec bardzo niskiej wartości porowatości kości zbitej, nie zdecydowano się na zastosowanie ortotropowego modelu Zysseta–Curniera do przewidywania jej właściwości. Kości tej przypisane zostały właściwości wynikające z modelu izotropowego, odpowiadające w analizowanej skali uśrednionej wartości frakcji objętościowej (BV/TV=0,975). Zestawienie obejmujące zrekonstruowany w pomiarze mikrotomograficznym koniec bliższy kości udowej, odpowiadającą mu siatkę obliczeniową oraz rezultat mapowania lokalnej orientacji wektorów własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  dla elementów skończonych zilustrowano na rysunku 7.6.



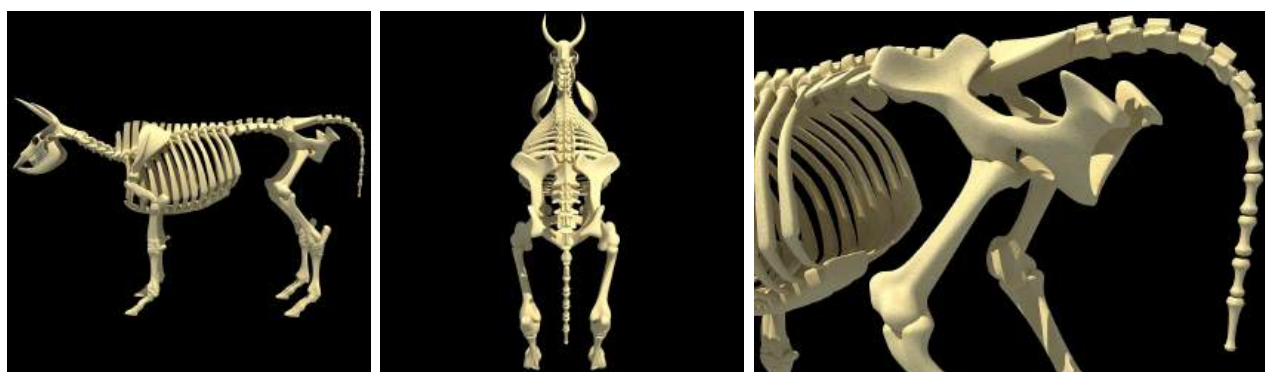
Rysunek 7.6. Zestawienie obejmujące zrekonstruowany w pomiarze mikrotomograficznym koniec bliższy kości udowej (po lewej), odpowiadającą mu siatkę obliczeniową (w środku) oraz rezultat mapowania lokalnej orientacji wektorów własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  dla elementów skończonych (po prawej).

### 7.3. Model kostno–mięśniowy

Do zbadania wpływu zadanych własności kości na panujące w niej obciążenie wykorzystano model kostno–mięśniowy kończyny tylnej krowy opracowany w Katedrze Fizyki Materii



Skondensowanej Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH w Krakowie. Model połączono z utworzoną siatką objętościową hFE odpowiadającą zobrazowanemu w  $\mu$ CT końcowi bliższemu kości udowej (K07) wraz z informacją o lokalnych właściwościach dla każdego z elementów skończonych [209]. Geometrię modelu zaprojektowano na podstawie analizy atlasów anatomicznych oraz modelu powierzchniowego szkieletu krowy przedstawionego na rysunku 7.7. Model ten został opracowany i zweryfikowany wspólnie z Ecole Nationale d'Ingenieurs de Metz we Francji we współpracy z prof. Pawłem Lipińskim, a jego stworzenie nie jest przedmiotem wykonania w niniejszej pracy. Poniżej przedstawiono najważniejsze założenia modelu zintegrowanego z wygenerowaną siatkę obliczeniową końca bliższego kości udowej, krótki opis parametrów modelu oraz sposobu dobierania ich wartości, zaś pełny opis znajduje się w pracy [125].



Rysunek 7.7. Trójwymiarowy model powierzchniowy szkieletu krowy przedstawiony z boku (po lewej), od tyłu (w środku) oraz w ujęciu badanego obszaru końca bliższego kości udowej (po prawej).

### 7.3.1. Założenia modelu

Model kostno-mięśniowy kończyny tylnej krowy wykonano w środowisku *HyperMesh* korzystając z jego szerokich możliwości w zakresie tworzenia układów obliczeniowych, narzędzi do ich weryfikacji oraz eksportu do innych pakietów. Obiektem zainteresowania był koniec bliższy kości udowej, zaprojektowano więc model całej kończyny tylnej składający się z elementów:

- kości udowej (łac. *femur*) (bez końca bliższego, którego geometria jest dokładnie odwzorowana na podstawie siatki obliczeniowej otrzymanej z danych mikrotomograficznych),
- kości piszczelowej (łac. *tibia*),
- kości śródstopia (łac. *metatarsus*), guza piętowego (łac. *calcaneus*) oraz kopyta krowiego (łac. *ungula*), które modelowano razem, gdyż nie posiadają znaczących przegubów, więc ruch względem siebie jest pomijalny w porównaniu do kości tworzących staw biodrowy, kolanowy i stopowy.

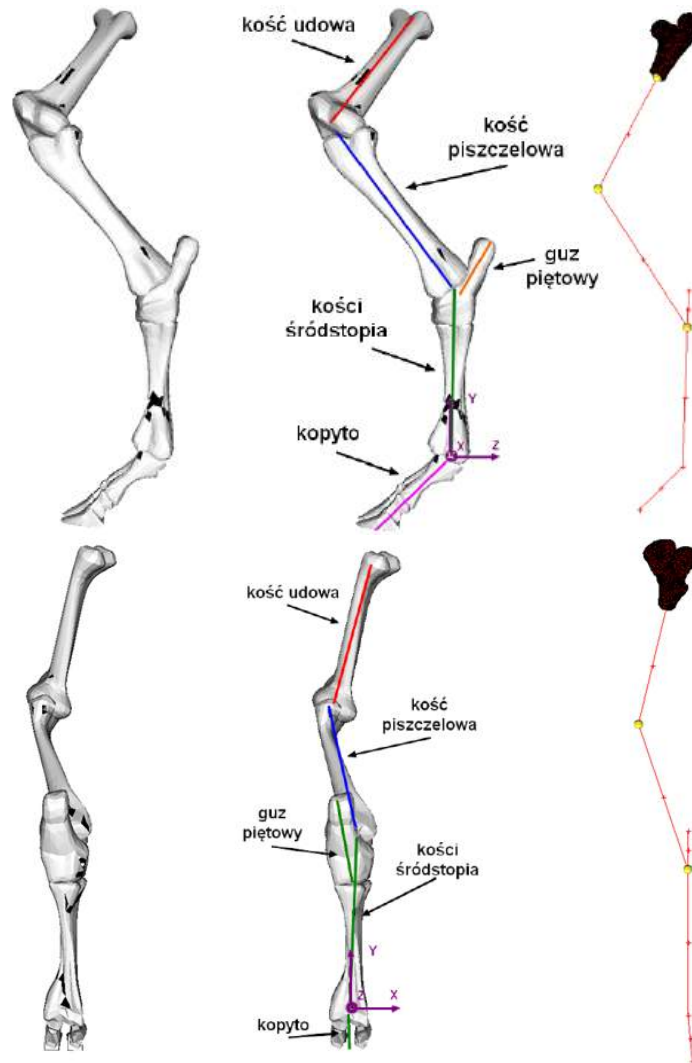
Kość śródstopia, piszczelowa i część kości udowej zamodelowano przy pomocy elementów belkowych 3D typu *B31* o zdefiniowanym przekroju poprzecznym w postaci pierścienia. Element tego rodzaju przenosi zarówno obciążenia wzdłużne jak i poprzeczne, dzięki czemu może zostać poddany skręcaniu i zginaniu. Dane o przekrojach kości zaczerpnięto z atlasu anatomicznego

[163]. Sposób przybliżania geometrii kości przy pomocy elementów belkowych przedstawiono na rysunku 7.8. Jako początek układu współrzędnych (układu globalnego modelu) wybrano punkt w miejscu połączenia kopyta z kośćmi śródstopia.

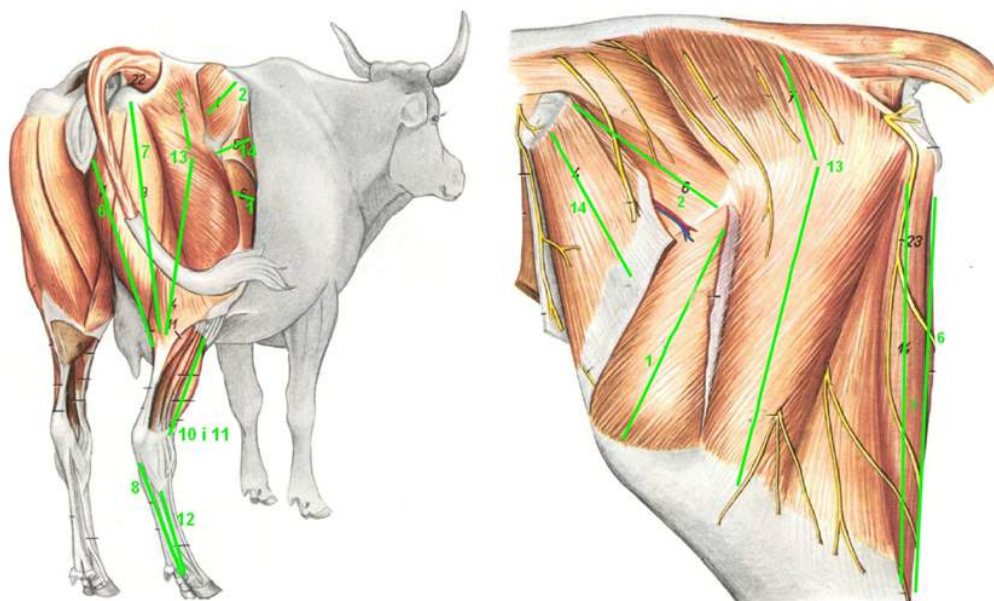
Aby poprawnie odwzorować mechanikę kończyny tylnej, do układu kostnego dobudowano także uproszczony model mięśniowy. Dzięki takiemu podejściu możliwe było zadanie odpowiednich obciążeń na kość oraz sterowanie położeniem kończyny. Dane o właściwościach mięśni, tj. ich przyczepach oraz wielkości (pole przekroju poprzecznego) zaczerpnięto z atlasu anatomicznego [163]. Mięśnie utworzono jako elementy liniowe, korzystając z elementów prętowych 1D typu  $T2D2$ . Są to elementy, którym przypisano własności temperaturowe (współczynnik rozszerzalności temperaturowej), zgodnie z pierwotną ideą naśladowania zachowania mięśni przez elementy prętowe o zdolności do rozszerzania [35]. Dzięki takiemu podejściu możliwe było sterowanie aktywnością każdego z mięśni. Zmiana jego temperatury umożliwia symulowanie procesu skurczu. Ostatecznie utworzono model układu mięśniowego składający się z 14 najważniejszych mięśni, które decydują o ułożeniu kończyny podczas typowych obciążeń. Na rysunku 7.9 przedstawiono układ mięśniowy kończyny tylnej krowy z oznaczonymi mięśniami, które użyto podczas przygotowywania modelu kończyny tylnej. Są to mięśnie:

1. obszerny szeroki boczny (łac. *vastus lateralis*),
2. pośladkowy środkowy (łac. *musculus gluteus medius*),
3. pośladkowy dodatkowy (łac. *musculus gluteus accessorius*),
4. pośladkowy głęboki (łac. *musculus gluteus profundus*),
5. bliźniacze (łac. *musculi gemelli*),
6. półbłoniasty (łac. *musculus semimembranosus*),
7. półścięgnisty (łac. *musculus semitendinosus*),
8. zginacz głęboki palców (łac. *musculus flexor digitorum profundus*),
9. zginacz powierzchowny palców (łac. *musculus flexor digitorum superficialis*),
10. prostownik długi palców (łac. *musculus extensor digitorum*),
11. strzałkowy trzeci (łac. *musculus peroneus tertius*),
12. międzykostny (łac. *musculi interossei*),
13. dwugłowy uda (łac. *musculus biceps femoris*),
14. napinacz powięzi szerokiej (łac. *musculus tensor fasciae latae*).

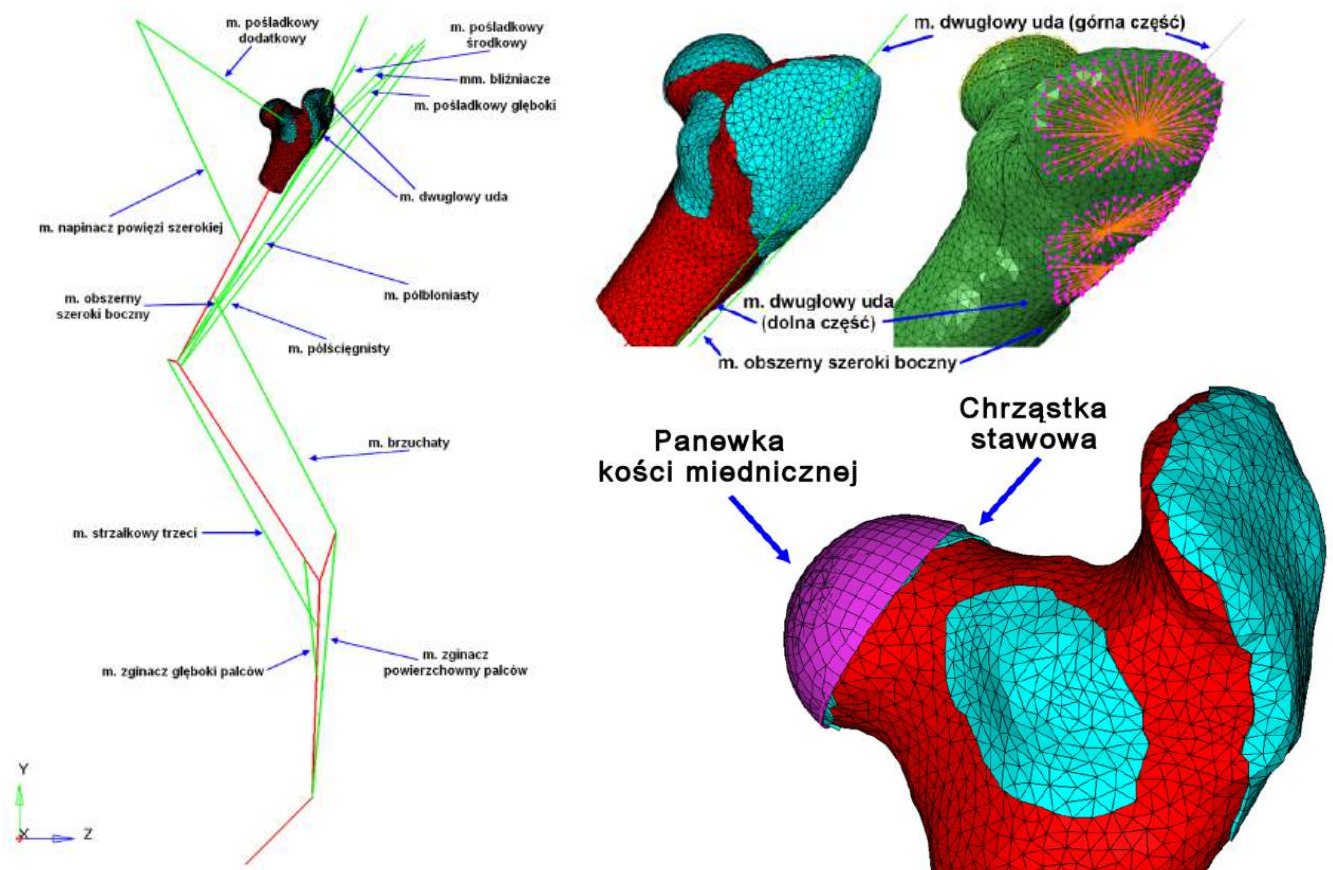
W celu umożliwienia ruchu kończyny w stawach, wprowadzono warunki pozwalające na zginanie: ruch w stawie kolanowym (łączącym kość udową i piszczelową) i stępowym (łączącym kość piszczelową i śródstopia). Ponieważ niektóre z mięśni mają swoje przyczepy w głowie kości udowej, konieczne jest poprawne ich zdefiniowanie. Aby uniknąć kumulacji naprężeń w miejscach przyczepów oraz aby rozłożyć działającą siłę na powierzchnię przyczepu, utworzono warstwę elementów pełniącą funkcję ścięgien. Na rysunku 7.10 przedstawiono model wraz z przykładem podłączenia mięśnia dwugłowego uda do siatki hFE przy pomocy ścięgien.



Rysunek 7.8. Lewa kończyna tylna krowy z zaznaczonymi elementami prętowymi zaprojektowanego modelu - widok od boku (na górze) oraz widok od tyłu (na dole) [125].



Rysunek 7.9. Schemat układu mięśniowego kończyny tylnej z zaznaczonymi mięśniami, których użyto podczas przygotowywania modelu kostno-mięśniowego kończyny tylnej [163].



Rysunek 7.10. Model kostno-mięśniowy kończyny tylnej krowy wykorzystany podczas obliczeń (po lewej) wraz z elementami pełniącymi rolę mięśni (kolor zielony) oraz elementami reprezentującymi kość (kolor czerwony). Połączenie mięśnia dwugłowego uda oraz mięśnia obszerne szerokiego bocznego do końca bliższego kości udowej przy pomocy elementów pełniących funkcje ścięgien (po prawej, na górze) oraz model panewki stawu biodrowego (po prawej, na dole) [125].

### 7.3.2. Dobór parametrów modelu

Przeprowadzenie poprawnych symulacji obciążeń wymaga precyzyjnego doboru wszystkich własności kości jak i przyczepionych do nich mięśni, zaś kości modelowane przy pomocy elementów belkowych wymagają zdefiniowania pola i profilu przekroju poprzecznego. Ponieważ długość modelowanych kości znacznie przewyższała ich szerokość i grubość, jako profil przekroju wybrano profil rurowy o zadanym promieniu  $r$  oraz grubości ścianki  $t$ . Parametry te wyznaczono przez uśrednienie pomiarów w kilku miejscach na różnej wysokości kości, wykonanych przy pomocy oprogramowania *MeshLab* na posiadanym modelu szkieletu<sup>2</sup> zilustrowanego na rysunku 7.7. Wykorzystane w obliczeniach wartości przedstawiono w tabeli 7.1.

2. Model szkieletu krowy: <http://www.gandoza.com/cow-skeleton-animal-3d-models.html>

Tabela 7.1. Parametry profilu przekroju kości użytych w trakcie symulacji.

Rodzaj materiału	Promień przekroju poprzecznego $r$ [mm]	Szerokość pierścienia przekroju $t$ [mm]
kość udowa	23	5
kość piszczelowa	18	4
kość śródstopia	20	4

Tworzonym przy pomocy elementów prętowych mięśniom przypisano odpowiednie własności materiałowe, a także pola przekrojów. Wartości pola przekroju każdego z mięśni dobrano na podstawie analizy opracowań opisujących mięśnie bydła [137, 163], a także na podstawie bazy danych *Bovine Myology*<sup>3</sup>. Elementom składowym całej kończyny przypisano wykorzystywane podczas symulacji własności materiałowe, których wartości zestawiono w tabeli 7.2, wraz z odniesieniem do źródeł literaturowych oraz wartościami bazujących na analizie danych pomiarowych i symulacji w skali mezo (zgodnie z informacjami zwartymi w rozdziale 6).

Tabela 7.2. Własności materiałowe elementów składowych modelu użyte w trakcie symulacji.

Rodzaj materiału	Moduł Younga [MPa]	Wsp. Poissona
koniec bliższy kości udowej	12642 (podrozdział 6.4.2)	0.20 (podrozdział 6.4.2)
pozostałe kości	11977 [23]	0.30 [23]
ścięgna i chrząstki	50 [83, 101]	0.45 [121]
mięśnie	5 [101]	0.30 [101, 28]

Przygotowany model wraz ze zdefiniowanymi własnościami każdego z elementów poddano obciążeniu. Na panewkę kości miednicznej oraz końce mięśni, które mają swój przyczep w częściach szkieletu znajdujących się poza rozważanym modelem nałożono warunki, które prowadzą do ich całkowitego unieruchomienia (zablokowano wszystkie stopnie swobody - translacyjne oraz rotacyjne). Na kość kopyta nałożono siłę reprezentującą reakcję od podłoża o wartości 2000 N, zakładając że jej wartość powinna mieścić się w przedziale od 1/4 do 1/2 masy całkowitej krowy [125]. Należy podkreślić, że dokładna wartość siły działającej na kończynę nie jest znana. W wielu pracach pojawiają się różne założenia na temat obciążenia kończyny, jednak dotyczą one przede wszystkim kości ludzkich. W pracy [87] zakłada się masę osobnika pomniejszoną o masę kończyny, z kolei w pracy [123] zakłada się obciążenie znacznie większe niż cały ciężar.

Znalezienie stanu równowagi złożonego modelu geometrycznego składającego się z wielu elementów, które posiadają różne własności, wymaga zlokalizowania aktywności mięśni. Ponieważ kości połączone są przegubami symulującymi zachowanie się stawów (kolanowego oraz stępowego), pod wpływem działania siły cały układ uległby odkształceniu, jednak stan równowagi jest utrzymywany przez mięśnie. Mięśnie zostały zamodelowane jako elementy posiadające zdolność kurczenia się pod wpływem działającego bodźca — w tym przypadku były to elementy które się kurczą w wyniku działania temperatury, którą przypisano do każdego z mięśni. Przypisanie współczynnika rozszerzalności temperaturowej umożliwiło sterowanie napięciem każdego z mięśni, co może być utożsamiane z ich aktywnością.

3. Baza danych *Bovine Myology*: <http://bovine.unl.edu/>

W tak przygotowanym modelu znaleziono stan równowagi (aktywności mięśni) korzystając z następujących założeń:

- Pod wpływem działania siły pochodzącej od podłoża przesunięcie kopyta (które mówi o ugięciu kończyny) powinno być bliskie zeru.
- Kąty pomiędzy kośćmi w stawie kolanowym oraz stępowym nie powinny się zmienić, gdyż ułożenie kości kończyny reprezentuje stan równowagi statycznej.
- Jak wskazują źródła literaturowe [21], maksymalne wartości naprężeń dla mięśni mieszczą się w zakresie 0,5-2,0 MPa.
- Włókna mięśniowe napinają się pod wpływem bodźca (dochodzi do skurczu mięśnia), a naprężenia w nich panujące są naprężeniami rozciągającymi.
- W stanie równowagi podczas pozycji normalnej część mięśni jest aktywna a część pozostaje nieaktywna — np. w pozycji normalnej zginacze nie są aktywne (naprężenie bliskie zeru).

Spełnienie powyższych warunków umożliwiło efektywne dobranie aktywności mięśni.

## 7.4. Wyniki

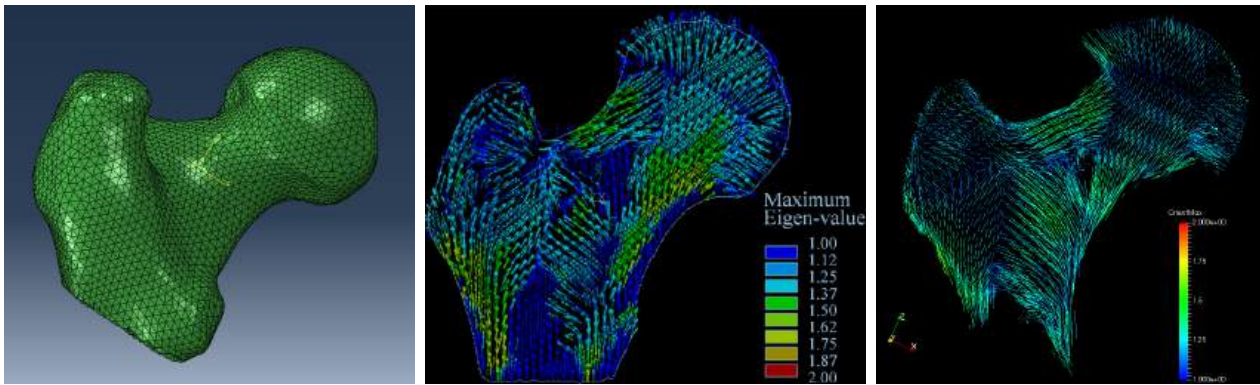
Symulacje przeprowadzono z użyciem klastra *Mars* z ACK Cyfronet AGH (układ 56 Intel Xeon 5150 i 40 Intel Xeon E5345, łącznie z 544 rdzeniami i 1088 GB pamięci operacyjnej). Poniżej zaprezentowano wyniki symulacji dla założonych schematów obliczeniowych. Dla upewnienia się co do poprawności mapowania własności kości wykonano najpierw testy na podstawie kości ludzkich dzięki dostępowi do publicznej bazy zawierających niezbędne dane.

### 7.4.1. Przetestowanie poprawności mapowania

Aby przetestować poprawność opracowanej metodologii w części dotyczącej mapowania lokalnej orientacji na potrzeby modelu Zysseta–Curniera, wykorzystano bazę danych ludzkich kości udowych zobrazowanych za pomocą wysokorozdzielczego tomografu HR-pQCT<sup>4</sup>, która powstała na potrzeby symulacji obliczeniowych opartych o podejście bazodanowe [70], w ramach projektu *Osteoporotic Virtual Physiological Human Project* (VPHOP)<sup>5</sup>. Zestaw obejmuje 33 pomiary obejmujące koniec bliższy ludzkiej kości udowej (średni wiek dawców wynosił  $77,8 \pm 10,0$  lat) i jest dostępny powszechnie do wykorzystania w projektach naukowych. Na rysunku 7.11 zaprezentowano zestawienie obejmujące jedną z siatek obliczeniowych z zestawu testowego oraz przekroje poprzeczne końca bliższego ludzkiej kości udowej. Uwidoczniono tam lokalną orientację głównych kierunków anizotropii w elementach skończonych, z pracy [72] i na podstawie metodologii z niniejszego opracowania, do weryfikacji jej poprawności. Wizualizacja lokalnej orientacji anizotropii była możliwa po przetworzeniu zmapowanych właściwości do uniwersalnego formatu CASE i wizualizacji w programie *ParaView* na podstawie wektorów własnych i wartości własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$ .

4. Baza danych *Femur*: <http://data.4tu.nl/repository/uuid:4ae59365-92f0-480b-a899-ade34bc84a00>

5. Projekt *Osteoporotic Virtual Physiological Human* (VPHOP): <http://www.vphop.eu/>



Rysunek 7.11. Jedna z siatek MES z bazy danych utworzonej w ramach projektu *VPHOP* (po lewej), wizualizacja lokalnej orientacji głównych kierunków anizotropii w elementach na podstawie wektorów i wartości własnych tensora  $\mathbf{M}$  (kolory odpowiadają wartościom własnym), z pracy [72] (w środku) i na podstawie metodologii z niniejszego opracowania (po prawej) do weryfikacji jej poprawności.

#### 7.4.2. Realizacja schematów obliczeniowych

Po pozytywnej weryfikacji poprawności mapowania lokalnych właściwości struktury kości na potrzeby modelu Zysseta–Curniera w oparciu o bazę danych ludzkich kości udowych, przetworzone i zanalizowane dane pomiarowe końca bliższego zwierzęcej kości udowej, posłużyły do symulacji komputerowych MES kończyny tylnej. Symulacja miała na celu zbadanie wpływu zadanych własności kości na stan naprężeń i odkształceń. Model kostno–mięśniowy kończyny ze zintegrowaną siatką końca bliższego kości udowej (K07) przygotowano w środowisku graficznym *HyperMesh*, a następnie zapisano do formatu INP pakietu obliczeniowego *Abaqus*, w którym wykonano symulacje. Warto podkreślić, że poprawne przewidywanie rozkładów naprężeń i odkształceń jest kluczowe w przypadku gdy w kości umieszczono implant. Niewielka stała zmiana rozkładu naprężeń wokół wszczepionego implantu może prowadzić w dłuższym czasie do zaniku tkanki kostnej, a w konsekwencji utraty jego stabilności. Zbadano wpływ zastosowania segmentacji kości zbitej i gąbczastej, właściwości ortotropowych oraz rzeczywistej wartości znormalizowanej gęstości (frakcji objętościowej) i anizotropii na wyniki modelowania parametrów mechanicznych kości. W tabeli 7.3 zestawiono parametry schematów obliczeniowych wykonanych dla 5 przypadków określających następujące własności kości:

1. model izotropowy ze stałą wartością frakcji (BV/TV) dla kości zbitej i gąbczastej,
2. model izotropowy z różniącymi się stałymi wartościami frakcji dla kości zbitej i gąbczastej,
3. model izotropowy z mapowaniem rzeczywistej frakcji objętościowej dla kości gąbczastej,
4. model ortotropowy dla kości gąbczastej nieuwzględniający orientacji głównych osi,
5. model ortotropowy dla kości gąbczastej uwzględniający orientację głównych osi.

Tabela 7.3. Schematy na potrzeby badania wpływu zastosowania segmentacji kości zbitej i gąbczastej oraz rzeczywistej frakcji i orientacji na stan naprężeń i odkształceń.

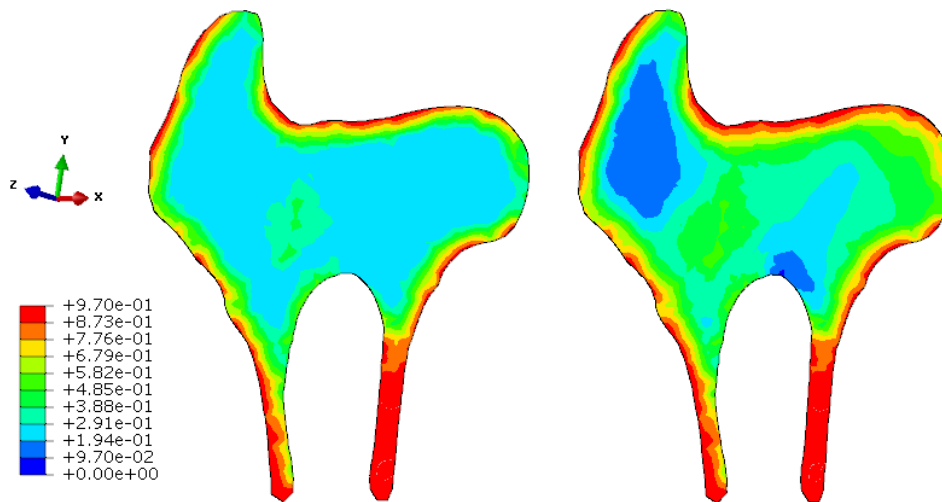
	Kość zbita		Kość gąbczasta		
	właściwości	BV/TV	właściwości	BV/TV	orientacja
1	izotropowe	0,208	izotropowe	0,208	stała
2		0,975 (r. 3)			
3				mapowana (r. 5)	
4			ortotropowe (r. 6)		
5					mapowana (r. 5)

Symulacje w przestrzeni trójwymiarowej wymagają dużej liczby węzłów i elementów skończonych dla uzyskania odpowiedniej dokładności, wpływając w konsekwencji na duże zapotrzebowanie pamięci operacyjnej oraz długi czas obliczeń. Z tego też powodu wszystkie obliczenia wykonano w ACK Cyfronet AGH na klastrze obliczeniowym *Mars*, wyposażonym w pakiet *Abaqus*. Model konstytutywny kości został zaimplementowany z wykorzystaniem procedur użytkownika UMAT (ang. *user material subroutines*) oraz zmiennych wewnętrznych do przechowania informacji o morfometrii i stałych materiałowych. Przed wywołaniem właściwej procedury UMAT wywołana zostaje procedura *SDVINI*, która ma na celu zainicjowanie zmiennych niezbędnych do wykonania pierwszego kroku symulacji. W procedurze tej następuje odczyt danych dla każdego elementu: frakcji objętościowej oraz wartości i wektorów własnych tensora struktury **M**. Na ich podstawie w oparciu o model Zysseta–Curniera wyznaczane są tensory **C** i **S** (opis w podrozdziale 2.3.2). Wartości dla każdego elementu zapisywane są do zmiennych w tablicy *STATEV* i przekazywane do pierwszego kroku. Do wiarygodnej prezentacji wyników symulacji wykorzystano płaszczyznę cięcia określającą przekrój poprzeczny zilustrowany na rysunku 7.13 na przykładzie naprężeń von Misesa oraz wizualizacje trójwymiarowe.

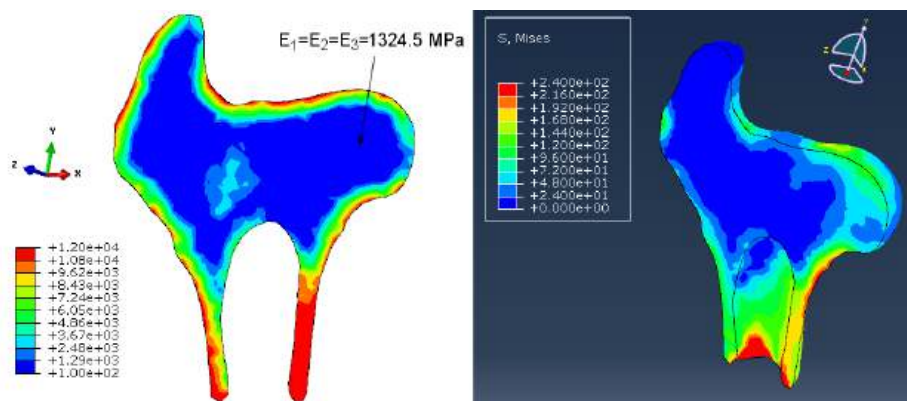
Zgodnie ze zdefiniowanymi powyżej schematami, obliczenia wykonywano dla trzech różnych wartości frakcji objętościowej. W pierwszym podejściu założono dla całej kości stałą frakcję objętościową równą wartości średniej dla kości gąbczastej ( $BV/TV=0,208$ ). W tym przypadku nie uwzględniono właściwości kości zbitej, która znajduje się przy powierzchni. W drugim podejściu wykorzystano informacje o segmentacji pozwalającej na rozróżnienie wartości dla kości zbitej i gąbczastej, wykorzystując stałe uśrednione wartości. W finalnym podejściu założono niejednorodny rozkład frakcji objętościowej dla kości gąbczastej, mapowany w elementach na bazie wcześniej omówionej analizy danych mikrotomograficznych. Rozkłady frakcji objętościowej ( $BV/TV$ ) z uśrednieniem w elementach skończonych odpowiadające jednolitej wartości w obrębie kości gąbczastej oraz wartościom mapowanym zaprezentowano na rysunku 7.12. W wyniku mapowania parametru  $BV/TV$  na siatkę elementów o określonym rozmiarze nastąpiło nieznaczne rozmycie frakcji w miejscu przejścia pomiędzy kością zbitą i gąbczastą, naśladując obserwowane w danych mikrotomograficznych zmiany struktury kości.

Rozkład modułów Younga w przypadku symetrii ortotropowej i izotropowej zaprezentowano w postaci uśrednionych map na rysunkach 7.13 i 7.14.

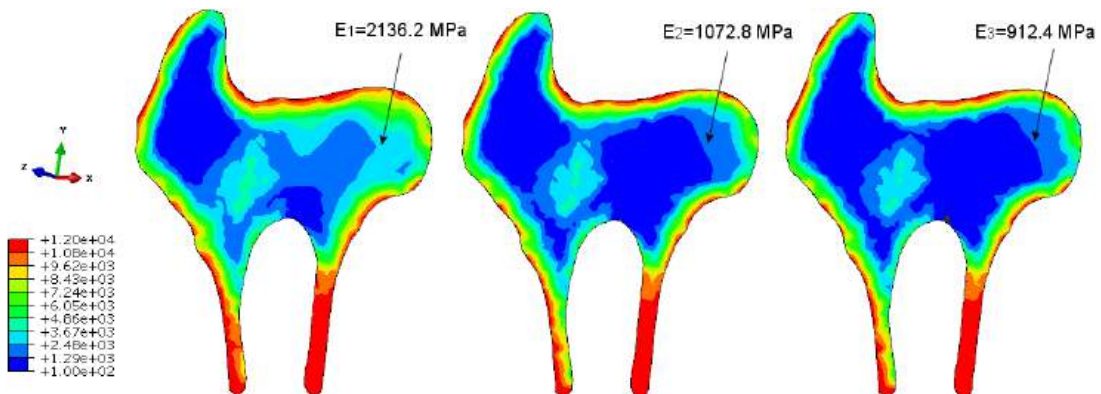




Rysunek 7.12. Rozkłady frakcji (BV/TV) z uśrednieniem w elementach skończonych: schemat 2 odpowiadający jednolitej wartości w obrębie kości gąbczastej (po lewej) oraz schematy 3–5 z tabeli 7.3 odpowiadające wartościom mapowanym (po prawej).



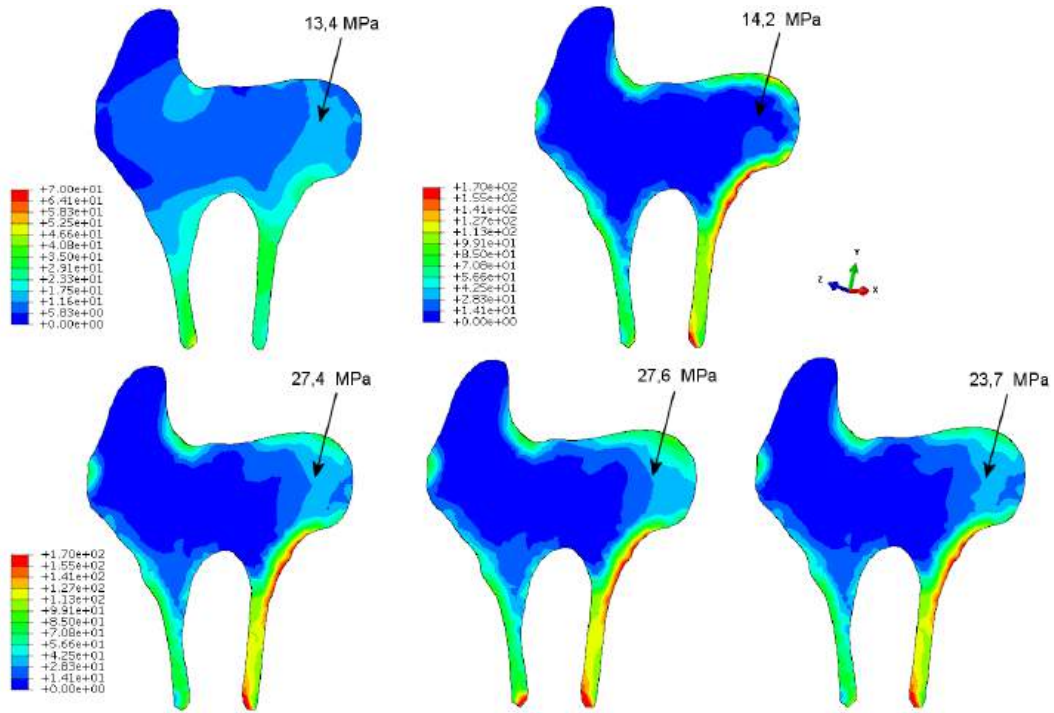
Rysunek 7.13. Rozkład modułów Younga w przypadku symetrii izotropowej (po lewej), odpowiadający schematom 1–3 z tabeli 7.3 oraz obraz płaszczyzny cięcia przekroju poprzecznego (po prawej).



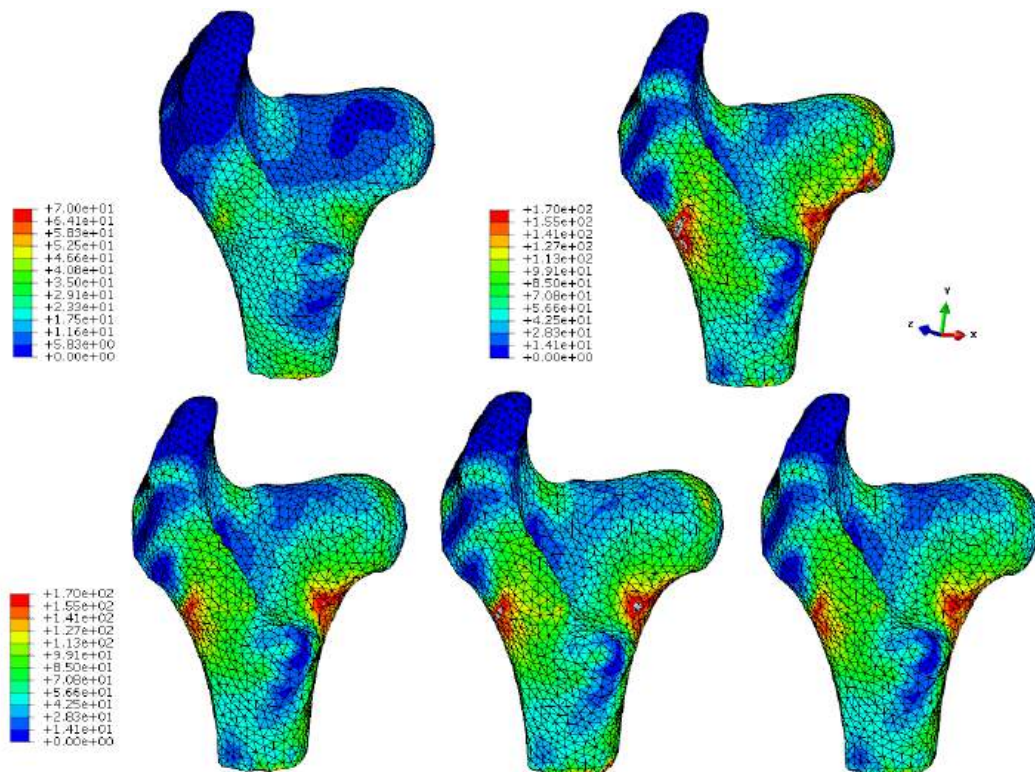
Rysunek 7.14. Rozkłady modułów Younga w 3 prostopadłych kierunkach w przypadku symetrii ortotropowej, z rozróżnieniem kości zbitej i gąbczastej, odpowiadające schematom 4–5 z tabeli 7.3.

W modelu izotropowym zależność pomiędzy modułem Younga, a BV/TV jest wykładnicza (podrozdział 2.3.2). Z tego też powodu rozkład modułu Younga w rzeczywistości odzwierciedla zmiany BV/TV. W przypadku modelu ortotropowego, składowe moduły Younga  $E_i$  są dodatkowo skalowane z uwzględnieniem wykładnika poprzez wartości własne  $m_i$  tensora struktury  $\mathbf{M}$  wyznaczone na bazie morfometrii danych  $\mu$ CT w wysokiej rozdzielczości (rozdział 5). Rysunki 7.13 i 7.14 wzbogacono o naniesione wartości modułów Younga dla modelu izotropowego oraz ortotropowego dla konkretnego elementu skończonego, które różnią się znacząco, szczególnie w głowie kości udowej. W tym przypadku (środek głowy kości udowej) dla modelu izotropowego moduł Younga ( $E_1=E_2=E_3$ ) wynosi 1324,5 MPa, podczas gdy dla modelu ortotropowego otrzymane wartości modułu Younga wynoszą:  $E_1=2136,2$  MPa,  $E_2=1072,8$  MPa,  $E_3=912,4$  MPa. W modelu Zysseta–Curniera wartości modułów Younga i modułów ścinania zależą zarówno od frakcji objętościowej, jak i wartości własnych  $m_i$ , z tego też powodu wyznaczone są one w układzie odniesienia związanym z kierunkami głównymi. Ponieważ te kierunki zmieniają się w zależności od położenia wewnątrz kości, zaprezentowane na rysunkach 7.13 i 7.14 rozkłady wartości modułów Younga niosą głównie informację o anizotropii.

Na rysunkach 7.15 i 7.16 przedstawiono przewidywany rozkład naprężeń (na powierzchni oraz wewnątrz) dla różnych zadanych własności kości (5 kolejnych przypadków z tabeli 7.3). Odpowiednie zadanie własności kości ma znaczący wpływ na wartość przewidywanych naprężeń (ilustracja na bazie kryterium von Misesa). Nie uwzględnienie parametrów kości złitej powoduje, że rozkład naprężeń jest bardziej jednorodny w całej kości (schemat 1). W obliczeniach, w których wzięto pod uwagę właściwości kości złitej, stanowiącą warstwę o różnej grubości na powierzchni kości, rozkład i zakres naprężeń jest znacząco inny (schematy 2–5 z inną legendą). Ze względu na duże różnice w uśrednionych własnościach (dla kości złitej przyjęto wartość parametru BV/TV = 0,975, podczas gdy dla kości gąbczastej BV/TV = 0,208) duże naprężenia lokalizują się na kości złitej, przez co kość gąbczasta jest znacznie mniej obciążona. Na rysunkach 7.15 i 7.16 przedstawiono także wartości naprężeń dla każdego przypadku w środku głowy kości (konkretny element skończony) - jest to miejsce w kości odpowiadające definiowanemu dla kości ludzkiej trójkątomu Warda, przez które przebiega pasmo głównego ściskania [10]. Wartość naprężeń w tym miejscu różni się w zależności od zastosowanego podejścia wykorzystanego do definicji parametrów kości. W przypadku braku kości złitej i uśrednionego BV/TV kości gąbczastej, wartość naprężenia w tym punkcie osiąga 13,4 MPa (schemat 1), natomiast po uwzględnieniu frakcji wzrasta do wartości 14,2 MPa (schemat 2). Z kolei uwzględnienie mapowania rzeczywistych wartości BV/TV powoduje prawie 2× wzrost do wartości 27,4 MPa (schemat 3). Obserwuje się także znaczące różnice w wartościach naprężenia z użyciem właściwości ortotropowych, z uwzględnieniem lub nie orientacji wektorów własnych tensora  $\mathbf{M}$  (schematy 4–5). W przypadku użycia jedynie informacji o wartościach własnych  $m_i$ , naprężenie osiąga wartość zbliżoną do właściwości izotropowych tj. 27,6 MPa, natomiast w przypadku uwzględnienia także orientacji wektorów własnych wartość ta spada do 23,7 MPa.



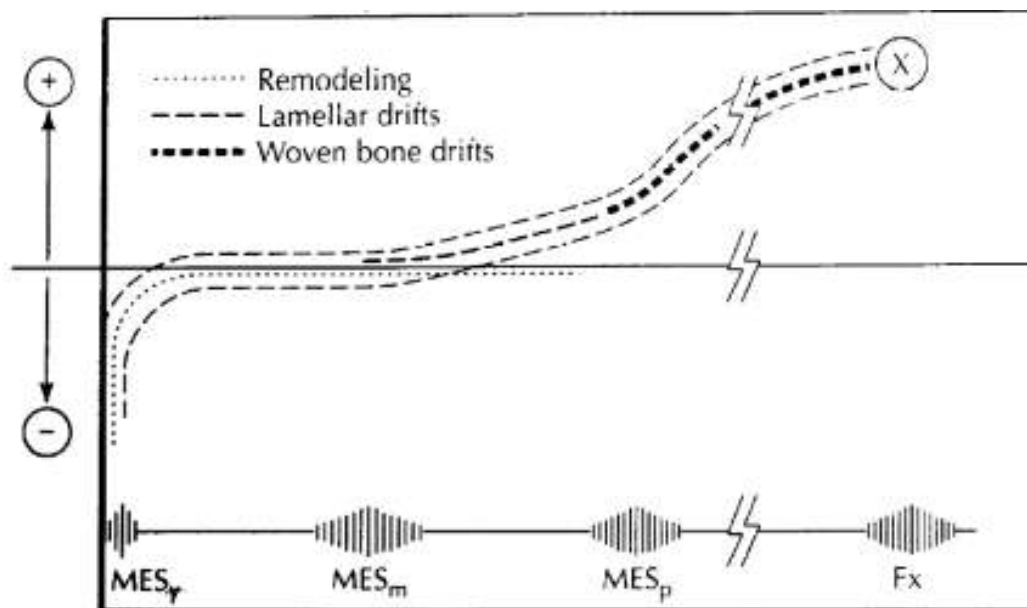
Rysunek 7.15. Rozkład naprężeń von Misesa (przekrój poprzeczny) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli 7.3.



Rysunek 7.16. Rozkład naprężeń von Misesa (na powierzchni) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli 7.3.

W kontekście interpretacji różnic w wynikach warto zauważyć, że pozornie niewielkie zmiany w naprężeniu mogą w konsekwencji prowadzić do dużych zmian w kości podczas jej adaptacji.

W trakcie tego procesu następuje przebudowa struktury beleczkowej kości gąbczastej, która jest skutkiem działania osteoklastów (komórek kościogubnych, mających zdolność rozpuszczania) oraz osteoblastów (komórek kościotwórczych, tworzących kości) [109]. Adaptacja może przebiegać poprzez zmianę gęstości kości (gdy beleczki zmieniają swoją grubość), zmianę stopnia jej mineralizacji (własności mechanicznych materiału budulcowego beleczek), lub zmianę orientacji beleczek kostnych bez zmiany gęstości pozornej. Proces adaptacji kości odgrywa ważną rolę w kontekście implantów w nich osadzanych. Kości ulegają ciągłej przebudowie w trakcie życia osobnika, dostosowując się do warunków zewnętrznych. Wiele występujących modeli opiera się na obserwacjach Frosta, które posłużyły do zbudowania całej grupy modeli nazywanych modelami mechanostatycznymi [53]. W podejściu tym zakłada się, że proces tworzenia nowej masy kostnej jest wynikiem aktywności osteoklastów oraz osteoblastów. Pod wpływem działającego bodźca, który jest sygnałem stymulującym przebudowę kości następuje przebudowa struktury beleczkowej kości gąbczastej. W wielu modelach przewidujących ten proces wykorzystuje się bodziec mechaniczny w postaci energii odkształcenia [33]. Ogólną ideę modeli bazujących na teorii mechanostatycznej Frosta zaprezentowano na rysunku 7.17, przedstawiającym zmiany gęstości kości w funkcji działającego bodźca [53] dla wydzielonych stref oraz w tabeli 7.4 z zestawionymi wartościami naprężeń i odkształceń dla punktów charakterystycznych. Jeśli bodziec działający na kość znajduje się poniżej wartości  $MES_{\gamma}$  następuje szybki zanik tkanki kostnej. Stan równowagi w którym gęstość się nie zmienia zawiera się w zakresie od  $MES_{\gamma}$  do  $MES_m$ . Jest to stan, w którym aktywność komórek kościotwórczych jest równoważone przez aktywność komórek kościogubnych. Powyżej wartości  $MES_p$  następuje przyrost gęstości, zaś osiągnięcie wartości  $F_x$  powoduje nieodwracalne uszkodzenia tkanki wynikające z przeciążenia.



Rysunek 7.17. Zmiany masy kostnej pod wpływem odkształceń według teorii Frosta [53].

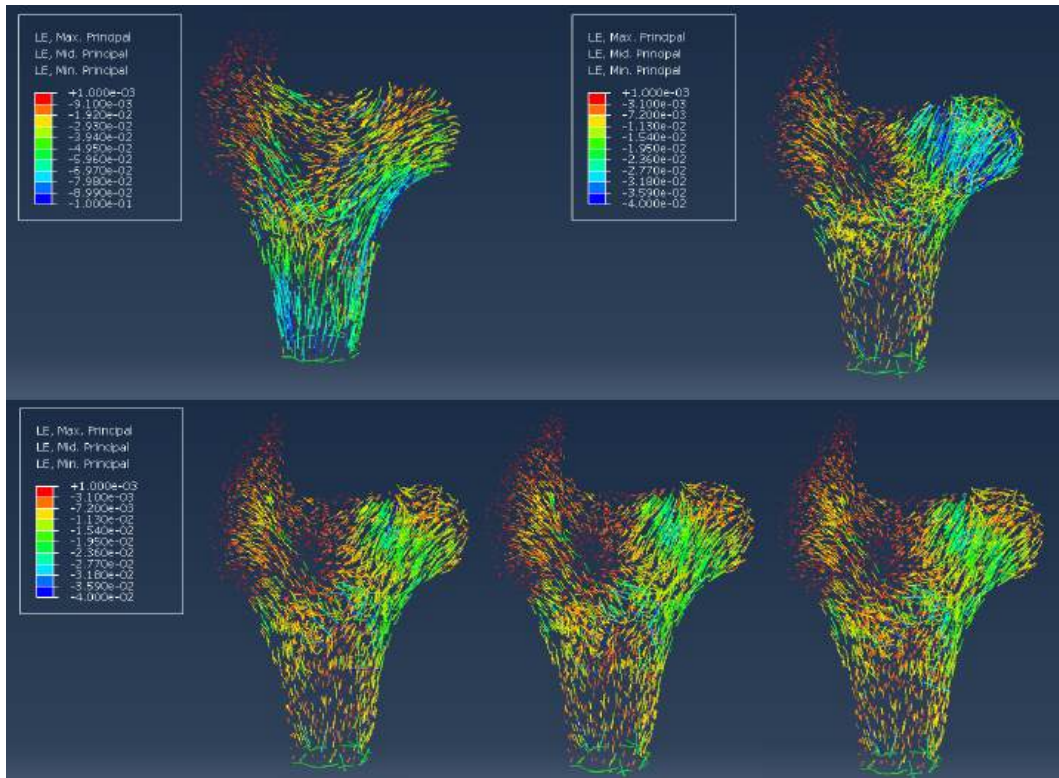
Tabela 7.4. Wartości dla stanów charakterystycznych w teorii mechanostatycznej Frosta [53].

Punkt charakterystyczny	Odształcenie	Naprężenie
MES <sub>γ</sub>	50-100 $\frac{\mu\text{m}}{\text{m}}$	1-2 MPa
MES <sub>m</sub>	1000-1500 $\frac{\mu\text{m}}{\text{m}}$	20 MPa
MES <sub>p</sub>	3000 $\frac{\mu\text{m}}{\text{m}}$	60 MPa
Fx	25000 $\frac{\mu\text{m}}{\text{m}}$	120 MPa

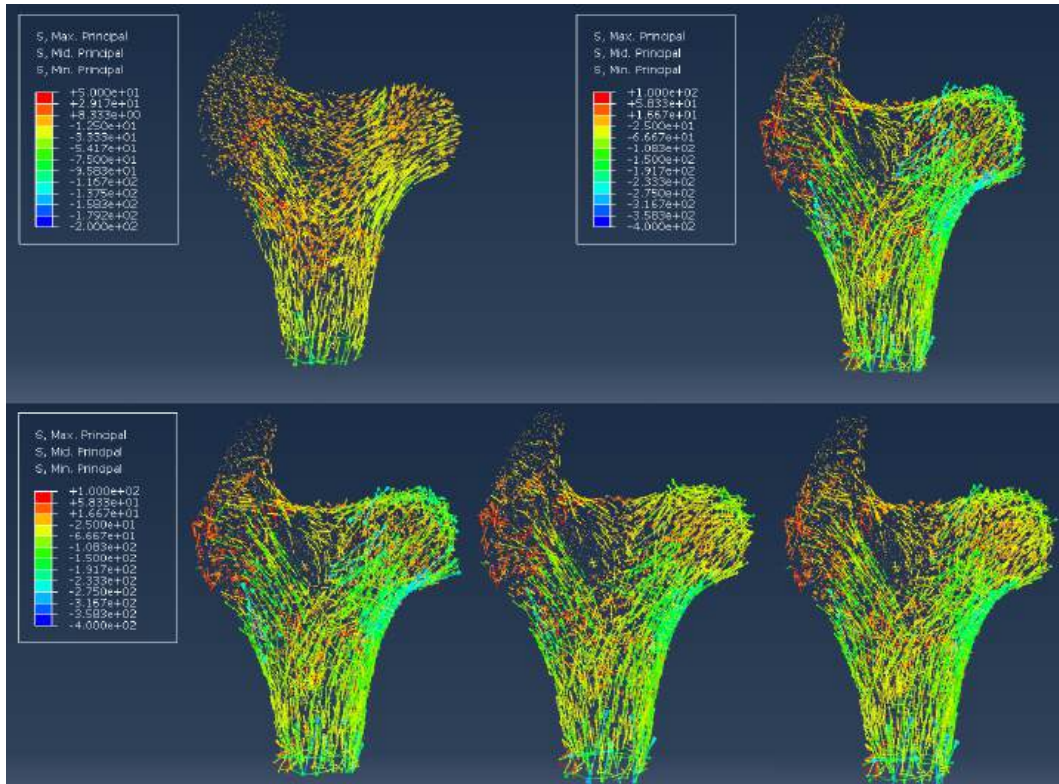
Z teorii Frosta wynika, że stan równowagi (ang. *adapted/lazy zone*), występujący pomiędzy MES<sub>γ</sub> i MES<sub>m</sub>, w którym nie następuje zmiana masy kostnej zawiera się w przedziale od 50-100  $\frac{\mu\text{m}}{\text{m}}$  do 1000-1500  $\frac{\mu\text{m}}{\text{m}}$  lub w przeliczeniu na naprężenia od 1-2 MPa do 20 MPa. Dane te pokazują, że niewielkie zmiany w rozkładzie naprężeń rzędu pojedynczych MPa mogą prowadzić do zmian gęstości. Należy zwrócić uwagę, że przedstawione dane dotyczą kości ludzkich, z tego też powodu wartości naprężeń w tabeli mogą nie odpowiadać wartościom granicznym dla kości wołowych i przytoczono je jedynie w celu pokazania konsekwencji niewielkich zmian naprężeń.

Adaptacja kości może być także uważana za proces ewolucji tensora sztywności i reorientacji związanych z nim osi symetrii materiału. W wyniku działania naprężeń kość zmienia swoją gęstość, ale także następuje reorientacja w przestrzeni beleczek kostnych tak, aby móc efektywnie przenieść działające z zewnątrz naprężenia. Kierunki ułożenia beleczek kostnych są zgodne z kierunkami naprężeń głównych aktualnie występujących w kości i zmieniają się wraz ze zmianą stanu naprężeń. Stanowi to podstawę dla podejścia charakteryzowanego przez trajektoryjną teorię rozkładu beleczek, przedstawioną przez Wolffa [204]. Z tego też powodu zbadano wpływ zadanych własności kości na główne kierunki naprężeń i odkształceń. Wszystkie główne kierunki odkształceń w konwencji logarytmicznej (ang. *principal logarithmic strain*) i naprężeń dla rozważanych przypadków przedstawiono na rysunkach 7.18 oraz 7.19. Z kolei na rysunkach 7.20 oraz 7.21 zaprezentowano minimalne główne kierunki dla odkształceń i naprężeń.

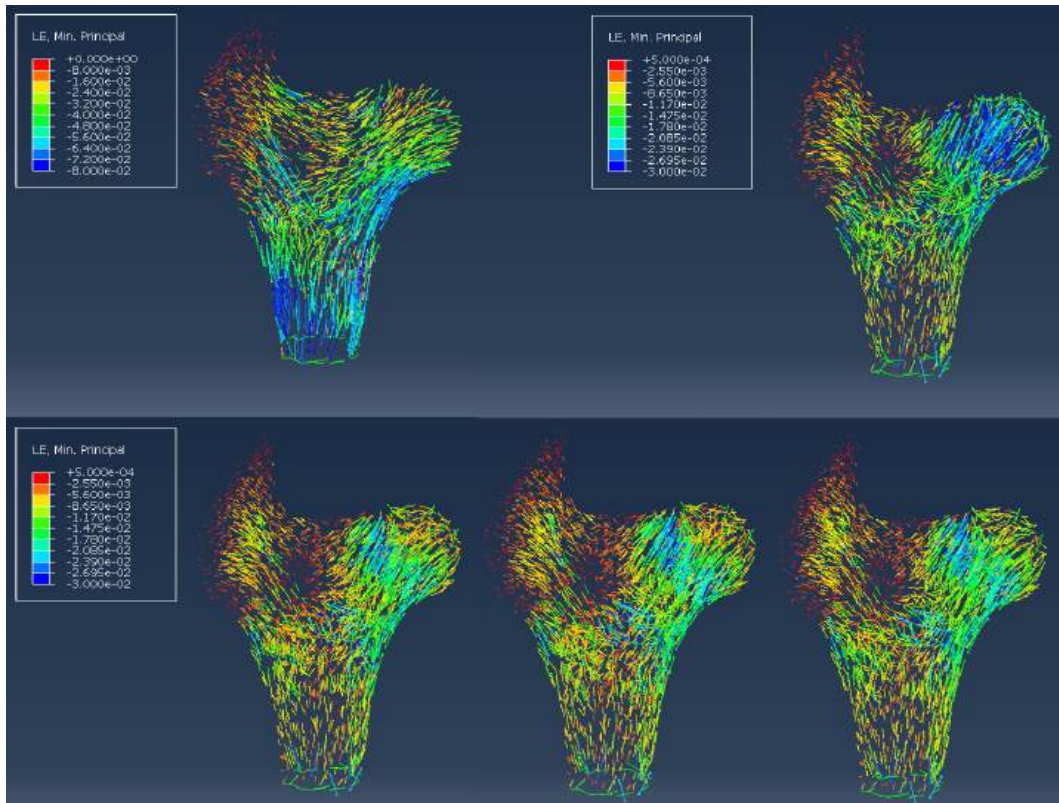
Otrzymane wyniki pozostają w zgodności z prawem Wolfa oraz obserwacjami głównych kierunków struktury na podstawie analizy morfometrycznej. Widoczne są wyraźnie różnice w otrzymanych rozkładach głównych kierunków odkształceń i naprężeń głównych dla różnych podejść, zarówno w przypadku braku uwzględnienia właściwości kości zbitej (schemat 1), jak i uśrednionych właściwości kości gąbczastej (schematy 1–2), w zestawieniu z uwzględnieniem właściwości kości zbitej (schematy 2–5) oraz mapowania rzeczywistej frakcji objętościowej (schematy 3–5). Problem wpływu uwzględnienia anizotropii jest zdecydowanie mniej widoczny, co ma odzwierciedlenie w ogólnym podobieństwie otrzymanych rozkładów dla schematów 3–5. Wynika to ze zdecydowanie większego wpływu uwzględnienia segmentacji oraz rzeczywistej frakcji objętościowej na rozkłady odkształceń i naprężeń głównych i ma swoje uzasadnienie w kontekście najistotniejszego wpływu parametru BV/TV na właściwości mechaniczne (rozdział 6).



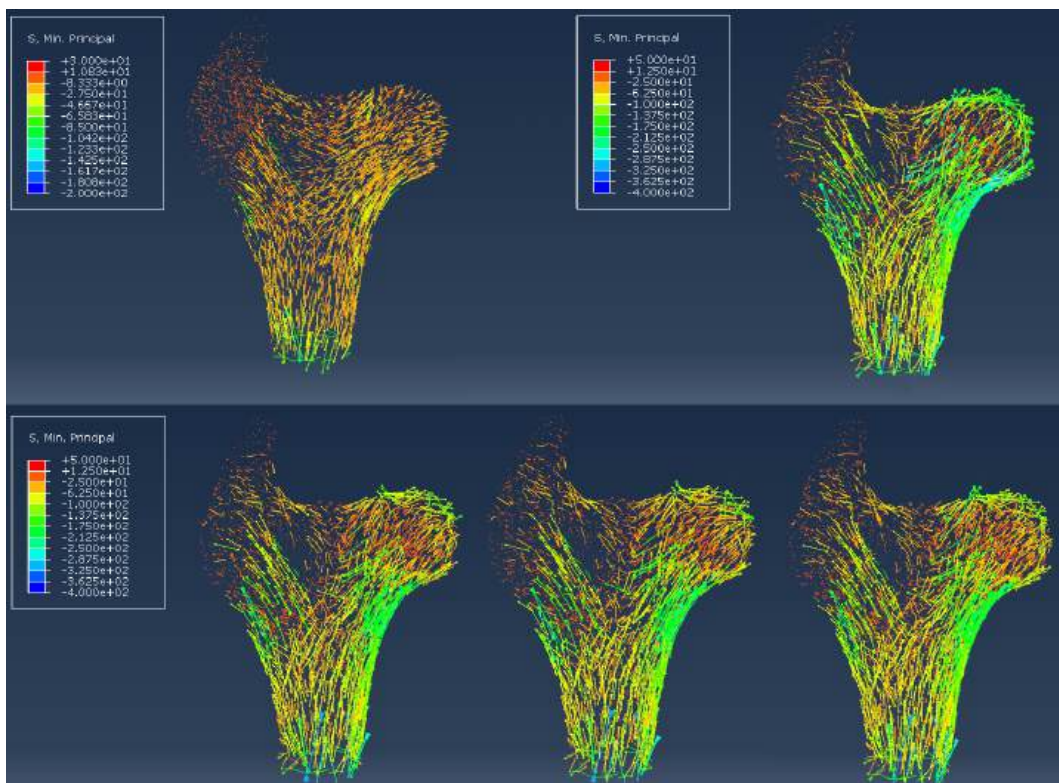
Rysunek 7.18. Odształcenia główne (wszystkie kierunki) dla schematów 1-2 (na górze) oraz 3-5 (na dole) z tabeli 7.3.



Rysunek 7.19. Naprężenia główne (wszystkie kierunki) dla schematów 1-2 (na górze) oraz 3-5 (na dole) z tabeli 7.3.



Rysunek 7.20. Odształcenia główne (minimalne) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli 7.3.



Rysunek 7.21. Naprężenia główne (minimalne) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli 7.3.

## 7.5. Dyskusja

Zarówno zestawienia ilustrujące naprężenia von Misesa oraz naprężenia i odkształcenia główne ukazują, że uwzględnienie odrębnych właściwości dla kości zbitej i gąbczastej (schematy 2–5 z tabeli 7.3) ma znaczący wpływ na rozkład naprężeń oraz odkształceń. Podobne wnioski przedstawiono także w literaturze bazując na prostszych układach biomechanicznych kości ludzkich [153]. Również miejsca koncentracji naprężeń zależą w głównej mierze od uwzględnienia segmentacji kości zbitej i gąbczastej. Odseparowanie kości gąbczastej od kości zbitej jest więc istotnym zagadnieniem i może być przeprowadzona automatycznie z użyciem wyspecjalizowanych podejść [85], opracowywanych również dla danych z obrazowania *in vivo* [111]. Mniejszy wpływ na koncentrację naprężeń ma uwzględnienie mapowania ortotropowego dla kości gąbczastej, co jest zgodne z rzeczywistymi własnościami tkanki kostnej, które wykazują anizotropię w różnych kierunkach.

Założenie własności anizotropowych dla kości jest również szczególnie ważne do wyznaczenia realnych rozkładów modułów Younga i w rezultacie poprawności wyników symulacji w tym zakresie. Z kolei, choć kość zbita jest w rzeczywistości anizotropowa, to założenie o jej izotropowych właściwościach wydaje się być dla analizowanej skali makro wystarczające (choć jest ona silnie anizotropowa), zwłaszcza w kontekście wysokiej frakcji objętościowej na poziomie kilku procent (bardzo niskiej porowatości). Należy tu podkreślić, że wykorzystywane mapowanie dla modelu Zysseta–Curniera nie pozwalałoby na uzyskanie realnych wyników obarczonych niskim błędem zarówno dla bardzo niskich jak i wysokich porowatości [129]. Założone w symulacjach parametry materiałowe (zebrane w tabeli 7.2), w tym mapowanie BV/TV oraz izotropowe właściwości beleczek kostnych (moduł Younga i wsp. Poissona) pozwalają na wykorzystanie korzyści płynących z zastosowania modelu Zysseta–Curniera do mapowania właściwości.

Stosunkowo niewielkie zmiany w rozkładzie naprężeń i odkształceń otrzymywane dla różnych zadanych własności mogą prowadzić do znaczących zmian w procesie adaptacji kości do aktualnego obciążenia. Jak pokazują dane z prac Frosta zmiany rzędu kilku MPa mogą prowadzić do zapoczątkowania zmian gęstości [52, 53].

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że dopiero pełne mapowanie ortotropowe z uwzględnieniem rzeczywistej frakcji i orientacji dla kości gąbczastej oraz przyjęciem odrębnych właściwości dla kości zbitej i gąbczastej, pozwala na uzyskanie rozkładów naprężeń i odkształceń zgodnych z aktualnym stanem wiedzy. Wykorzystane podejście wyróżnia się na tle innych rozwiązań stosowanych w tego typu badaniach, głównie przez wykorzystanie informacji o lokalnej orientacji anizotropii.

Takie podejście w przyszłości może pozwolić np. na zagęszczenie generowanych siatek obliczeniowych w miejscach, w których występują duże gradienty własności (np. frakcji lub anizotropii). Siatki gradientowe mogą pozwolić na znaczne skrócenie czasu obliczeń. Tego typu rozwiązanie może być oparte o aktualne możliwości optymalizacji siatek wykorzystywanej bi-



blioteki *CGAL*<sup>6</sup> i być przydatne również do dyskretyzacji obszarów, gdzie warstwa kości zbitej jest szczególnie mała. Problem ten może być teoretycznie wyeliminowany całkowicie wraz ze zmianą na mapowanie właściwości per-woksel, jednak uzyskane w taki sposób siatki obliczeniowe są wielokrotnie bardziej rozbudowane pod względem liczby węzłów i elementów skończonych, przez co wymagają zastosowania zrównoleglonych pakietów obliczeniowych i klastrów obliczeniowych. Tego typu możliwości posiada pakiet *ParOSol*, opisany w podrozdziale 6.2.2 w kontekście symulacji dla reprezentatywnych obszarów kości gąbczastej, jednak zastosowanie go w praktyce do symulacji w skali makro wymagałoby zoptymalizowania, bądź uproszczenia danych kosztem precyzji obliczeń.

Warto podkreślić, że w przypadku stałych materiałowych będących parametrami modelu Zysseta–Curniera ( $E_0^m$ ,  $G_0^m$ ,  $\nu_0^m$ ), stosuje się podejście bazujące na przyjmowaniu wartości zgodnych z pomiarami eksperymentalnymi [155]. Wartość modułu Younga  $E_0^m$  przyjęta jako parametr materiałowy w przeprowadzanej analizie z użyciem modelu kostno–mięśniowego (tabela 7.2), została niezależnie uzyskana w niniejszym opracowaniu na bazie regresji wielokrotnej uwzględniającej wyniki analizy morfometrycznej i symulacji kalibrowanych wartościami pomiarowymi (podrozdział 6.4.2). Jest ona jednak zgodna z literaturowymi danymi eksperymentalnymi z pomiarów wytrzymałości dla 18 pojedynczych beleczek kostnych o długości przynajmniej 3 mm, pobranych z 3 nasad bliższych wołowych kości udowych, które pozwoliły określić zróżnicowane wartości modułu Younga materiału  $E_0^e$  w zakresie 4,5–23,6 GPa z wartością średnią  $11,5 \pm 5,0$  GPa [210]. Dlatego też uzyskane obliczenia można uznać za wiarygodne, zwłaszcza dla przypadku z pełnym ortotropowym mapowaniem.

Wykorzystany pełny model kostno–mięśniowy kończyny tylnej, choć nadal znacząco uproszczony w stosunku do rzeczywistego układu biomechanicznego, pozwala na zbliżenie się do wartości obciążeń działających na tkankę kostną w okolicy końca bliższego kości udowej, a także eliminację błędów wynikających z bezpośredniego przyłożenia obciążeń. Zastosowanie w niniejszym opracowaniu głównego obciążenia przyłożonego do kopyta oraz obciążeń odpowiadających mięśniom w różnych miejscach kończyny, pozwala na optymalne umiejscowienie kości w panewce kości miednicznej w trakcie stabilizacji modelu. Dodatkowo, wykorzystana metodologia pozwala na rozwój modelu tak, aby wyniki mogły być bliższe wartościom rzeczywistym.

W symulacjach z użyciem danych tomograficznych wykorzystuję się konwencjonalnie jedynie analizowany fragment kości [47, 87, 113] (zwykle w przypadku badań wysokorozdzielczych) lub pełną utwierdzoną kość [112, 114] (zazwyczaj dla niższych rozdzielczości). Otrzymane w taki sposób wyniki mogą być obarczone znaczącymi błędami i w rezultacie wskazywać nieprawidłowe przewidywania rzeczywistego obciążenia kości, co jest związane głównie z zakładanymi warunkami brzegowymi i przyłożonymi obciążeniami. Głównym wymaganiem opracowanego modelu kostno–mięśniowego jest konieczność uzyskania stabilizacji, którą można wyeliminować wykorzystując pakiety dedykowane mechanice ruchu, pozwalające na definiowanie modeli bez rezygnacji z możliwości obliczeniowych pakietów MES. Umożliwiłoby to zrezygnowanie ze

6. Biblioteka *CGAL*: <https://www.cgal.org/>

sztucznego zabiegu polegającego na sterowaniu temperaturą do kurczenia i rozciągania mięśni, które choć bliskie rzeczywistemu działaniu, wymaga doboru ich aktywności, które nie są precyzyjnie zmapowane dla zwierząt. Z kolei dzięki wprowadzeniu dynamicznych obciążeń kopyta, model umożliwiłby w przyszłości zasymulowanie dynamicznego obciążenia kończyny, a w rezultacie uzyskanie pełniejszego obrazu obciążeń jakim poddana jest rzeczywista kość. Wykorzystanie segmentacji kości zbitej i gąbczastej pozwalałoby na wprowadzenie odmiennych własności materiałowych oraz parametrów procesu przebudowy (np. szybkości zmian gęstości).

W literaturze można też znaleźć bardziej zaawansowane prace, w których autorzy wykorzystują wysokorozdzielcze pomiary tomograficzne do stworzenia układów biomechanicznych uwzględniających działanie poszczególnych mięśni, a nie ich uśrednianie w postaci pojedynczych sił [56, 57, 208]. Tak definiowane modele kostno-mięśniowe, choć są zdecydowanie bardziej kosztowne obliczeniowo, mogą w przypadku kości ludzkich i weryfikacji na bazie wysokorozdzielczego obrazowania *in vivo* odzwierciedlać bardziej wiarygodnie zachowanie rzeczywistych układów, pozostając kompatybilnymi z technikami homogenizacji takimi jak model Zysseta-Curniera. Pokazuje to jednak rosnące zainteresowanie opracowaniem metodologii zbieżnych z niniejszą pracą, które może pozwolić w przyszłości na uzyskanie rozbudowanych narzędzi do analizy i symulacji właściwości zaawansowanych układów biomechanicznych.

Metodologia nawiązująca do zastosowanej w niniejszej pracy, została zastosowana w niedawno opublikowanej pracy [6], w której także wykorzystano pakiet obliczeniowy *Abaqus* do wykonania analizy hFE, z użyciem mapowania właściwości na bazie modelu Zysseta-Curniera ( $E_0=13758$  MPa;  $\nu_0=0,22$ ;  $G_0=4136$  MPa;  $k=2,01$ ;  $l=1,2$ ), z podziałem na kość gąbczastą i zbitą (wartości średnie gęstości odpowiednio 25.7% i 97.3%). Rezultaty użycia opracowanej i scharakteryzowanej w powyższym rozdziale metodologii w części dotyczącej użycia modelu kostno-mięśniowego, analizy morfometrycznej i mapowania na bazie modelu Zysseta-Curniera zostały opublikowane w pracach [207, 208].

# Podsumowanie

W pracy zrealizowano wszystkie postawione cele oparte na przeprowadzeniu pomiarów, analizie i symulacji komputerowych własności mechanicznych kości. Bazując na wysokorozdzielczych pomiarach  $\mu$ CT, uzyskano dane wejściowe do modelowania. W badaniach zdecydowano się na wykorzystanie kości zwierzęcych, ponieważ podstawowym założeniem było opracowanie uniwersalnej metodologii modelowania właściwości kości, opierając się na dużym zróżnicowaniu wewnętrznej struktury. Wieloskalowe symulacje były wykonane z użyciem metody elementów skończonych w celu zaadaptowania biomechanicznego modelu kostno-mięśniowego kończyny dolnej oraz modelu uśredniającego właściwości mechaniczne na bazie analizy morfometrycznej.

## Główne problemy badawcze

Skuteczne wypracowanie metodologii w trakcie realizacji niniejszej pracy wymagało rozwiązania problemów badawczych, w tym wyzwań technicznych i obliczeniowych. Najważniejsze z nich zostały wymienione poniżej, z podaniem zastosowanego rozwiązania danego problemu.

1. Opracowanie metody automatycznej rejestracji obrazów próbek i kości udowych;
  - *rozwiązanie*: skalibrowana metoda na bazie lokalnych deskryptorów (rozdział 4).
2. Opracowanie metody binaryzacji obszarów po rejestracji ze zbliżoną do próbek morfometrią;
  - *rozwiązanie*: skalibrowana metoda z użyciem progowania lokalnego (rozdziały 4 i 5).
3. Wycięcie optymalnych rozmiarowo obszarów kości zgodnych z głównymi osiami anizotropii;
  - *rozwiązanie*: metoda optymalnego wycięcia na bazie analizy anizotropii (rozdział 5).
4. Wykonanie symulacji ściskania i ścinania dla siatek 3D uzyskanych na bazie wokseli;
  - *rozwiązanie*: wydajne testy obliczeniowe mikroelementów skończonych (rozdział 6).
5. Powiązanie kierunkowości z analizy obrazów kości z orientacją uzyskaną w symulacjach;
  - *rozwiązanie*: analiza anizotropii i optymalizacja tensora sztywności (rozdziały 5 i 6).
6. Wyznaczenie wejściowych stałych materiałowych do symulacji i modelu uśredniającego;
  - *rozwiązanie*: skalibrowane parametry modelu na bazie pomiarów (rozdziały 3 i 6).
7. Wiarygodna symulacja obciążenia kończyny w oparciu o segmentację i morfometrię;
  - *rozwiązanie*: uśrednianie właściwości w modelu kostno-mięśniowym (rozdziały 6 i 7).

## Charakterystyka przeprowadzonych badań

Bazując na standardowych podejściach, nowoczesnych metodach i stworzeniu dedykowanych autorskich rozwiązań, opracowano kompletną metodologię przetwarzania danych pomiarowych i wyników symulacji. Uzyskano reprezentacje cyfrowe 6 wołowych kości udowych na podstawie pomiaru  $\mu$ CT w niższej rozdzielczości w skali makro ( $45,6 \mu\text{m}$ ). Następnie z każdej kości wy-preparowano 70 próbek reprezentatywnych sześciennych obszarów kości gąbczastej o objętości  $1 \text{ cm}^3$  i zobrazowano w 7-krotnie wyższej rozdzielczości w skali mezo ( $6,5 \mu\text{m}$ ). Wyznaczono eksperymentalnie parametry materiałowe w 3 prostopadłych kierunkach z użyciem miniaturowej maszyny do ściskania próbek, w tym również w trakcie wysokorozdzielczego obrazowania  $\mu$ CT.

Na podstawie danych z obrazowania przeprowadzono precyzyjną rejestrację cyfrową opartą na lokalnych deskryptorach pomiędzy próbkami kości gąbczastej, a kośćmi udowymi po rekonstrukcji, w celu uzyskania informacji o ich pozycji i orientacji przestrzennej. Umożliwiło to zestawienie tożsamy obszarów uzyskanych w wyższej i niższej rozdzielczości. Dzięki temu dobrano parametry binaryzacji, zestawiając ze sobą wyniki morfometrii danych z dwóch skal pomiarowych. Na bazie rejestracji zorientowano przestrzennie wyniki pomiarów mechanicznych wyciętych próbek kości względem układu odniesienia związanego z kością udową. Skorygowano wielkości obszarów po ich obrocie do orientacji zgodnej z wyznaczonymi głównymi osiami anizotropii. Wykonano analizę korelacji pomiędzy parametrami opisującymi strukturę oraz danymi eksperymentalnymi, uzyskując wartości i zależności zgodne z literaturą. Dla kości udowych przeprowadzono segmentację i binaryzację z użyciem parametrów wyznaczonych po trójwymiarowej rejestracji obszarów, tworząc maski binarne obejmujące obszar zajmowany przez kości.

Dane uzyskane po przetworzeniu i przeanalizowaniu posłużyły do wielkoskalowych symulacji komputerowych. Obszary próbek kości gąbczastej zostały zorientowane zgodnie z głównymi osiami anizotropii, po czym wykonano serię testów ściskania i ścinania z użyciem analizy mikroelementów skończonych w celu wyznaczenia pełnej postaci tensora sztywności. Wejściowe parametry określono w oparciu o zestawienie z wartościami uzyskanymi w pomiarach. Wyniki symulacji i morfometrii posłużyły do wyznaczenia parametrów modelu Zysseta–Curniera uśredniającego właściwości mechaniczne w symetrii ortotropowej. Uzyskane zależności posłużyły do zmapowania w obszarach kości udowych uśrednionych właściwości kości gąbczastej, zaś kości zbitej przypisano właściwości izotropowe. Zgodny z wartościami anatomicznymi model biomechaniczny układu kostno–mięśniowego dla kończyny tylnej krowy, został użyty do symulacji MES statycznego stanu obciążenia. Wykorzystano 5 schematów: izotropowy ze stałą frakcją objętościową dla kości zbitej i gąbczastej, izotropowy z 2 stałymi frakcjami objętościowymi dla kości zbitej i gąbczastej, izotropowy z mapowaniem frakcji objętościowej dla kości gąbczastej, ortotropowy dla kości gąbczastej nieuwzględniający orientacji głównych osi oraz ortotropowy z mapowaniem frakcji objętościowej i orientacji głównych osi. Jedynie dla pełnego mapowania frakcji objętościowej i ortotropii dla kości gąbczastej, wraz z przyjęciem odrębnych właściwości kości zbitej, uzyskano rozkłady naprężeń i odkształceń zgodne z aktualnym stanem wiedzy.

## Zastosowania i perspektywy rozwoju

Zaprezentowane badania spełniły wszystkie postawione w pracy cele. Jednak pomimo tego, że metodologia zaprezentowana w pracy jest zaawansowana, możliwy jest dalszy jej rozwój w celu zwiększenia precyzji i zakresu stosowności. W szczególności istotne jest zwiększenie zastosowań dla modeli komputerowych, pozwalających przewidywać własności mechaniczne kości na podstawie precyzyjnych pomiarów nieniszczących, tak aby mogły zostać zaadaptowane do użycia w przyszłości w praktyce klinicznej.

Opracowana metodologia została stworzona z myślą o prognozowaniu zmian w mechanicznych właściwościach kości zachodzących podczas adaptacji funkcjonalnej pod wpływem obciążeń zewnętrznych. Uzyskane dane pomiarowe oraz modele komputerowe mogą posłużyć jako kluczowe źródło informacji do dalszych specjalistycznych analiz, w tym dla danych pochodzących z nowoczesnego wysokorozdzielczego obrazowania *in vivo* kości ludzkich. Poniżej krótko scharakteryzowano potencjalne obszary rozwoju oraz zastosowania w praktyce.

### Pomiary mikrotomograficzne

Jedną z głównych motywacji modelowania kończyny tylnej krowy była możliwość pomiaru kości udowej przy pomocy aparatury mikrotomograficznej dostępnej w Laboratorium Mikro- i Nano Tomografii (LMINT) na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH w Krakowie. Dzięki temu można było uzyskać rozległe zakresy wyników analizy parametrów morfometrycznych, wielokrotnie szersze, niż w innych opracowaniach dla kości udowej. Wartościowym pomysłem byłoby otwarcie-źródłowe udostępnienie uzyskanych wysokorozdzielczych obrazów kości gąbczastej w postaci bazy danych z plikami do pobrania na potrzeby badań innych zespołów.

Zestaw narzędzi do przetwarzania i analizy danych przygotowany na potrzeby badań, może stanowić dobry punkt wyjścia do dalszych badań eksperymentalnych w oparciu o testy mechaniczne połączone z mikrotomografią rentgenowską. Wydaje się, że użytecznym narzędziem w tych badaniach będzie technika cyfrowej korelacji objętości (DVC), zweryfikowana wstępnie w zespole naukowym LMINT na potrzeby inżynierii rusztowań tkankowych. Możliwość obciążania w miniaturowej maszynie do ściskania podczas pomiaru mikrotomograficznego pozwala bezpośrednio na użycie tego typu podejścia w przyszłości.

Także możliwość użycia dedykowanych fantomów do kalibracji pomiarów mikrotomograficznych, złożonych z odpowiednich materiałów bazujących najczęściej na hydroksyapatycie, wydaje się słusznym kierunkiem w kontekście bezpośredniego przeliczania wartości w skali szarości na skalibrowaną gęstość. Pozwalałoby to na heterogeniczne przypisanie właściwości z wokseli do mikroelementów skończonych i byłoby w pełni kompatybilne z możliwością wykonania zoptymalizowanych testów obliczeniowych z użyciem takich pakietów jak *ParOSol*.

## Obrazowanie kliniczne

Jedynie w przypadku pełnego mapowania ortotropowego i frakcji objętościowej udało się uzyskać wyniki symulacji z użyciem modelu kostno-mięśniowego zgodne ze stanem wiedzy w literaturze. Dlatego tak istotny wydaje się rozwój technik wysokorozdzielczych tomografii rentgenowskiej *in vivo*, pozwalającej precyzyjnie uchwycić ortotropową mikrostrukturę kości gąbczastej. Dane z konwencjonalnie wykorzystywanej klinicznie tomografii spiralnej, pomimo rozwoju także i tej techniki, nie wydają się być wciąż wystarczająco dokładne do tego celu. Pacjent obrazowany klasyczną metodą, nawet w przypadku takiej możliwości technicznej, byłby narażony na zbyt duże dawki promieniowania rentgenowskiego.

Aby zapewnić lepszą ocenę mechaniki kości gąbczastej *in vivo*, badania powinny skupić się na urządzeniach i metodach obrazowania stosowanych w celu zwiększenia precyzji pomiaru BV/TV oraz lepszego uwzględnienia anizotropii kości, co jest już możliwe w przypadku kończyn za pomocą obwodowej tomografii komputerowej o wysokiej rozdzielczości (HR-pQCT), a także dla kości szczęki i żuchwy z użyciem tomografii wiązki stożkowej (CBCT). W szczególności poszukuje się możliwości zobrazowania w odpowiedniej rozdzielczości prostszych rodzajów kości, takich jak np. kręgi, przystosowując do obrazowania tomografy CBCT. Także uogólnione metody pomiaru stopnia anizotropii takie jak GMIL, mogą pozwolić na dokładniejsze analizy wprost z danych w skali szarości w niższej rozdzielczości niż osiągalna w mikrotomografii.

## Medycyna spersonalizowana

Odpowiednie poznanie zachowania kości pod wpływem zróżnicowanych obciążeń, pozwala również na usprawnienie projektowania i budowy implantów oraz endoprotez. Analizując współczesne podejścia do modelowania, w tym możliwość wykorzystania klastrów obliczeniowych, można przypuszczać, że symulacje w medycynie spersonalizowanej staną się coraz bardziej użyteczne, opłacalne i dostępne. Rozwój modeli przewidujących właściwości mechaniczne kości na podstawie nieniszczącego obrazowania tomograficznego, wspierany badaniami wypreparowanych kości, może przyczynić się do głębszego zrozumienia ich właściwości oraz procesów zachodzących w organizmie, również w przypadku wszczepionych implantów.

Przedstawiona w pracy metodologia przygotowania symulacji posiada potencjał do zastosowań klinicznych i w przyszłości może pozwalać wykonywać obliczenia uwzględniające indywidualną anatomię kości konkretnego pacjenta. Jedno z możliwych zastosowań dla zdefiniowanej metody modelowania wiąże się z analizą wieloskalową przebudowy kości w przypadku osteoporozy, z uwzględnieniem projektowania endoprotez i implantów.

## Model przebudowy kości

Na podstawie uzyskanych w pracy wyników, zaobserwowano zmianę architektury i właściwości kości gąbczastej wraz z wiekiem. Ważnym aspektem jest również to, że wykorzystano kości zdrowych osobników zwierząt rzeźnych, zatem potencjalne odstępstwa chorobowe od zdrowych

struktur nie wpływały na wyniki. W przypadku kości ludzkich zazwyczaj uzyskuje się dostęp do struktur, które często są dotknięte w określonym stopniu osteoporozą, ponieważ kości pochodzą z zabiegów endoprotetycznych, wykonywanych najczęściej u starszych ludzi, jak w przypadku danych z pracy [70], gdzie średnia wieku pacjentów wynosi 77 lat. Nawet jeśli kości ludzkie pochodzą od zróżnicowanych wiekiem osób, w tym zarówno od chorych jak i zdrowych [11], to przebiegi parametrów mikrostrukturalnych, nie odpowiadają tym możliwym do uzyskania dla kości zwierzęcych w różnym wieku.

Dane tego typu mogą posłużyć do wykorzystania w zaawansowanych układach biomechanicznych przewidujących przebudowę kości. Jednym z zastosowań może być opracowanie nowego podejścia do przebudowy wykorzystującego model Zysseta–Curniera, choć trzeba byłoby wziąć pod uwagę jego ograniczenia, w tym problematykę obszarów z wysoką porowatością. Niemniej jednak narzędzia takie jak *ParOSol* i *VOX-FE* mogłyby posłużyć do tego, żeby modelować przebudowę danych obszarów kości, bazując na usuwaniu bądź dodawaniu wokseli. Również możliwość przypisania wartości modułu Younga w każdym z elementów heksagonalnych w tych narzędziach, na bazie wyznaczenia gęstości z obrazowania tomograficznego przy użyciu kalibracji dedykowanymi fantomami, może zwiększyć wiarygodność modelowania przebudowy. Także potencjał uwzględnienia nieliniowego zakresu, aż do granicy plastyczności w przypadku właściwości tkanki kostnej, daje perspektywę na zbliżenie symulacji do rzeczywistych cech kości.

## Wykorzystane narzędzia obliczeniowe

Użycie w badaniach kości zwierząt ułatwiło dostęp do wielu próbek różniących się pod względem mikrostruktury i wymagało opracowania zaawansowanej analizy na bazie wielu różnych narzędzi obliczeniowych. Jednak wysiłek włożony w prace umożliwił opracowanie podejścia, które nadaje się do zastosowań dla kości ludzkich. W celu uzyskania przedstawionych rozwiązań problemów badawczych zastosowano, kiedy tylko było to osiągalne, następujące paradygmaty dla narzędzi i metod: skalibrowany, efektywny, wieloplatformowy, automatyczny, wsadowy, równoległy, interaktywny. Dzięki temu w wydajny sposób uzyskano rezultaty, które mogły być jednocześnie precyzyjne, jak i użytecznie zweryfikowane. Zaadaptowano do tego celu szereg narzędzi, których obsługa niejednokrotnie wymagała umiejętności programistycznych w celu dostosowania kodu źródłowego (C++, Java) bądź oskryptowania w celu automatyzacji (Python, IJM). Metodologia została zaplanowana w taki sposób, żeby oprzeć się głównie na standardowych formatach plików, w tym TIFF (tif), HDF5 (h5), XDMF (xmf) i Ensight (case), tak żeby można było przetwarzać je potokowo i móc łatwo wykorzystać w dalszej analizie. Tam gdzie to możliwe, wykorzystano bezpłatne otwarte-źródłowe oprogramowanie, z możliwością przystosowania do przetwarzania seryjnego. Do najważniejszych narzędzi tego typu należały: *ImageJ*, *3D Slicer*, *ParOSol*, *ParaView*. W pracy skorzystano także z możliwości zaawansowanych stacji roboczych i klastrów obliczeniowych oraz dedykowanego oprogramowania komercyjnego na bazie grantów dziekańskich i licencji badawczych: *medtool*, *Abaqus* i *HyperMesh*.

## Najważniejsze osiągnięcie pracy

Główny cel pracy został osiągnięty dzięki słuszności postawionych założeń (podrozdział 1.4). Wynik ten pokazuje, że jedynie prawidłowe uwzględnienie podczas symulacji opisywanych kluczowych aspektów modelowania (orientacja ortotropowa, mapowanie wartości frakcji objętościowej i stopnia anizotropii), pozwala na otrzymanie obciążenia struktur kostnych zgodnego z danymi pomiarowymi i stanem wiedzy w literaturze. Pominięcie któregokolwiek z tych aspektów prowadzi do uproszczeń, które mogą być użyteczne w przypadku wielu podejść i założeń do modelowania, ale nie są wystarczające do pełnego opisu właściwości kości.



## Zestawienie wyników pomiarów

### Pomiary ściskania

Poniżej przedstawiono parametry miniaturowej maszyny do ściskania *Deben CT500*, wykorzystanej do uzyskania wartości modułu Younga  $E_i^e$  podczas testu obciążenia próbki w 3 prostopadłych kierunkach:

- maksymalna siła 500 N,
- maksymalne odkształcenie bezwzględne 10 mm,
- odkształcenie mierzone za pomocą ekstensometru z dokładnością do 3  $\mu\text{m}$ ,
- prędkość odkształcenia w zakresie 0,1–1 mm/min z dokładnością poniżej 5 %,
- możliwość zmiany parametrów urządzenia w trakcie sterowania wykonywaniem pomiaru,
- możliwość generacji raportu zawierającego dane pomiarowe oraz ustawione parametry.

W tabelach **A.1**, **A.2**, **A.3**, **A.4**, **A.5** i **A.6** zostały zawarte wartości pomiarowe z testów ściskania próbek kości gąbczastej ( $n = 70$ ) z użyciem skalibrowanych wartości uzyskanych z maszyny do ściskania *Deben CT500* z podziałem na kierunki (K). Przyjęto oznaczenia:

- szerokość próbki  $w$  [mm],
- wysokość próbki  $h$  [mm],
- głębokość próbki  $d$  [mm],
- współczynniki nachylenia przed  $k_z$  i po kalibracji  $k_p$  [N/mm],
- współczynnik determinacji  $r^2$ ,
- moduł Younga z pomiarów  $E_i^e$  [MPa] w danym kierunku.

### Pomiary gęstości

W tabeli **A.7** zawarto wartości pomiarowe gęstości dla próbek kości gąbczastej w różnym wieku (w latach). Z powodu uszkodzeń niektórych próbek w trakcie wypalania, komplet wyników uzyskano jedynie dla części zestawu próbek ( $n = 44$ ). Przyjęto oznaczenia:

- frakcja objętościowa BV/TV,
- objętość próbki  $V$  [ $\text{mm}^3$ ],
- obszar zajmowany przez kość BV [ $\text{mm}^3$ ],
- masa próbki przed wypaleniem  $m_t$  i po wypaleniu  $m_o$  [g],
- gęstość materiałowa  $\rho_m$ , gęstość pozorna  $\rho_a$ , gęstość beleczek  $\rho_t$  i gęstość szpiku  $\rho_f$  [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ].

Uzyskano wartości średnie:  $\bar{\rho}_m=2,061$ ;  $\bar{\rho}_a=0,272$ ;  $\bar{\rho}_t=1,843$ ;  $\bar{\rho}_f=0,815$ .

Tabela A.1. Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K01 ( $n = 5$ ).

Próbka	K	$w$ [mm]	$h$ [mm]	$d$ [mm]	$k_z$ [N/mm]	$k_p$ [N/mm]	$r^2$	$E_i^c$ [MPa]
K01LA	1	10,3	9,6	9,9	2590,944	-5188,230	0,994	259,409
K01LA	2	9,9	10,3	9,6	1420,845	7993,435	0,996	133,766
K01LA	3	9,9	9,6	10,3	1152,470	3460,231	0,999	124,899
K01RA1	1	10,7	10,5	10,5	13569,077	-1980,172	0,851	1268,138
K01RA1	2	10,5	10,5	10,7	9604,794	-2107,086	0,917	932,166
K01RA1	3	10,5	10,7	10,5	7714,893	-2226,753	0,967	721,018
K01RC	2	10,4	9,2	9,3	5787,780	-2463,504	0,972	562,566
K01RC	3	9,3	10,4	9,2	6645,615	-2335,202	0,967	632,130
K01RA2b	1	12,1	11,9	10,5	8714,332	-2155,404	0,986	635,464
K01RA2b	2	10,5	11,9	12,1	7042,230	-2289,885	0,985	681,961
K01RA2b	3	10,5	12,1	11,9	17795,758	-1913,837	0,786	1666,820
K01RB	1	10,7	10,0	10,3	3501,854	-3411,331	0,990	337,094
K01RB	2	10,3	10,0	10,7	4049,420	-3014,275	0,997	420,668
K01RB	3	10,3	10,7	10,0	3825,418	-3151,648	0,995	347,103

Tabela A.2. Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K03 ( $n = 10$ ).

Próbka	K	$w$ [mm]	$h$ [mm]	$d$ [mm]	$k_z$ [N/mm]	$k_p$ [N/mm]	$r^2$	$E_i^c$ [MPa]
K03LB1	1	10,2	9,7	10,3	1078,684	2870,664	0,998	112,295
K03LB1	2	10,3	9,7	10,2	3409,484	-3503,803	0,987	348,081
K03LB1	3	10,3	10,2	9,7	1579,949	18440,665	0,997	145,874
K03RA1	1	10,4	10,1	10,5	2875,502	-4330,161	0,998	287,441
K03RA1	2	10,5	10,1	10,4	5747,481	-2470,878	0,990	563,638
K03RA1	3	10,5	10,4	10,1	2030,127	-11611,217	0,987	187,768
K03RB1	1	9,8	9,9	10,3	6403,385	-2366,661	0,977	679,807
K03RB1	2	10,3	9,9	9,8	3937,249	-3079,583	0,992	378,396
K03RB1	3	10,3	9,8	9,9	2864,612	-4355,092	0,996	280,956
K03LA1	1	10,3	10,5	10,0	582,397	878,473	0,997	53,851
K03LA1	2	10,0	10,5	10,3	4913,451	-2665,382	0,982	481,986
K03LA1	3	10,0	10,3	10,5	1153,050	3465,471	0,998	117,544
K03LA2	1	9,9	9,9	10,0	1231,845	4290,247	0,998	125,686
K03LA2	2	10,0	9,9	9,9	4240,910	-2916,257	0,992	424,091
K03LA2	3	10,0	9,9	9,9	1585,961	19294,301	0,999	158,596
K03LB2	1	10,5	10,4	9,5	686,219	1138,230	0,998	59,699
K03LB2	2	9,5	10,4	10,5	3178,751	-3786,234	0,995	337,823
K03LB2	3	9,5	10,5	10,4	899,436	1875,807	0,999	93,776
K03LB3	1	9,9	9,8	10,1	689,430	1147,092	0,998	71,771
K03LB3	2	10,1	9,8	9,9	2082,725	-10145,753	0,996	208,315
K03LB3	3	10,1	9,9	9,8	382,143	490,649	0,968	37,454
K03LC	1	10,2	10,0	9,6	2517,455	-5510,334	0,991	236,937
K03LC	2	9,6	10,0	10,2	1387,564	7043,047	0,998	147,429
K03LC	3	9,6	10,2	10,0	3484,618	-3427,848	0,995	355,864
K03RA2	1	10,4	9,8	10,7	4819,480	-2693,875	0,985	505,970
K03RA2	2	10,7	9,8	10,4	8357,360	-2178,418	0,985	828,882
K03RA2	3	10,7	10,4	9,8	6038,180	-2420,775	0,992	531,759
K03RB2	1	9,5	9,4	10,2	2203,759	-8004,254	0,999	251,717
K03RB2	2	10,2	9,4	9,5	2345,439	-6564,077	0,994	232,391
K03RB2	3	10,2	9,5	9,4	1420,339	7977,451	0,998	137,783

Tabela A.3. Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K04 ( $n = 11$ ).

Próbka	K	$w$ [mm]	$h$ [mm]	$d$ [mm]	$k_z$ [N/mm]	$k_p$ [N/mm]	$r^2$	$E_i^c$ [MPa]
K04LA1	1	9	9,1	9,2	1598,443	21319,731	0,994	179,557
K04LA1	2	9,2	9,1	9	387,550	499,598	0,999	41,662
K04LA1	3	9,2	9	9,1	591,044	898,297	0,997	64,958
K04RA1	1	8,8	9,4	10,1	2572,351	-5264,425	0,989	314,081
K04RA1	2	10,1	9,4	8,8	4565,593	-2780,295	0,990	423,185
K04RA1	3	10,1	8,8	9,4	4969,343	-2649,218	0,990	525,561
K04RA2	1	9,8	9,3	9,8	4422,811	-2836,049	0,994	475,571
K04RA2	2	9,8	9,3	9,8	2236,864	-7595,941	0,997	240,523
K04RA2	3	9,8	9,8	9,3	5942,545	-2436,495	0,976	575,444
K04LA3	1	8,8	10,1	9	1073,100	2831,450	0,997	108,662
K04LA3	2	9	10,1	8,8	1676,604	56369,971	0,995	162,312
K04LA3	3	9	8,8	10,1	610,489	943,996	0,992	77,853
K04LB1	1	8,8	9,8	9,1	1991,173	-13074,089	0,996	210,108
K04LB1	2	9,1	9,8	8,8	296,207	357,485	0,999	29,229
K04LB1	3	9,1	8,8	9,8	799,203	1486,895	0,999	97,805
K04LB2	1	9,8	9,2	9,8	1957,258	-14752,560	0,996	212,745
K04LB2	2	9,8	9,2	9,8	1202,241	3951,381	0,997	130,678
K04LB2	3	9,8	9,8	9,2	1295,548	5176,771	0,994	124,105
K04LC1	1	9,6	9	10,1	882,764	1804,721	0,998	103,193
K04LC1	2	10,1	9	9,6	882,566	1803,896	0,997	93,208
K04LC1	3	10,1	9,6	9	1198,355	3909,708	0,998	111,233
K04LC2	1	9,6	9,6	9,8	3279,792	-3652,216	0,995	348,763
K04LC2	2	9,8	9,6	9,6	676,917	1112,865	0,996	69,073
K04LC2	3	9,8	9,6	9,6	1043,141	2631,996	0,996	106,443
K04RB1	1	10,3	9,8	9,6	2867,288	-4348,921	0,996	272,696
K04RB1	2	9,6	9,8	10,3	743,736	1305,723	0,999	81,425
K04RB1	3	9,6	10,3	9,8	2132,001	-9119,033	0,996	211,303
K04RB2	1	9,9	9	9,9	3778,508	-3184,217	0,987	419,834
K04RB2	2	9,9	9	9,9	1183,217	3753,052	0,994	131,469
K04RB2	3	9,9	9,9	9	1449,865	9007,742	0,997	133,137
K04RC	1	9,5	9,9	8,4	1748,414	-147999,957	0,989	156,158
K04RC	2	8,4	9,9	9,5	416,227	548,296	0,998	47,549
K04RC	3	8,4	9,5	9,9	236,979	274,643	0,999	29,400

Tabela A.4. Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K05 ( $n = 11$ ).

Próbka	K	$w$ [mm]	$h$ [mm]	$d$ [mm]	$k_z$ [N/mm]	$k_p$ [N/mm]	$r^2$	$E_1^c$ [MPa]
K05LA1	1	8,8	8,9	9,5	2168,884	-8500,726	0,997	263,080
K05LA1	2	9,5	8,9	8,8	1154,377	3477,486	0,999	120,148
K05LA1	3	9,5	8,9	8,8	1603,642	22283,208	0,998	166,908
K05RA1	1	9,8	9,9	9,5	5959,711	-2433,621	0,987	583,563
K05RA1	2	9,5	9,9	9,8	8172,779	-2191,318	0,983	851,603
K05RA1	3	9,5	9,8	9,9	2899,822	-4276,155	0,989	308,359
K05RA2	1	9,5	9,6	9,6	2914,129	-4245,419	0,996	306,750
K05RA2	2	9,6	9,6	9,5	5231,697	-2580,238	0,993	539,292
K05RA2	3	9,6	9,5	9,6	7130,920	-2280,661	0,977	750,623
K05LA2	1	9,3	9,5	9,2	2782,904	-4558,573	0,986	289,787
K05LA2	2	9,2	9,5	9,3	2340,101	-6606,254	0,992	249,004
K05LB1	1	9,5	9,4	9,8	1740,553	-239596,025	0,996	191,013
K05LB1	2	9,8	9,4	9,5	576,330	864,743	0,998	59,435
K05LB1	3	9,8	9,5	9,4	517,677	739,096	0,999	52,268
K05LB2	1	9,9	9,4	9,3	3536,040	-3379,503	0,989	353,376
K05LB2	2	9,3	9,4	9,9	4058,248	-3009,402	0,994	459,582
K05LB2	3	9,3	9,9	9,4	2004,189	-12539,369	0,996	204,620
K05LC2	1	9,9	9,2	8,7	14088,356	-1969,578	0,928	1345,726
K05LC2	2	8,7	9,2	9,9	3725,979	-3222,502	0,980	460,860
K05LC2	3	8,7	9,9	9,2	2145,934	-8872,634	0,996	229,219
K05LC3	1	8,9	8,7	9,5	4359,975	-2862,503	0,995	534,932
K05LC3	2	9,5	8,7	8,9	2384,813	-6274,169	0,993	256,804
K05LC3	3	9,5	8,9	8,7	4446,369	-2826,447	0,992	457,521
K05RA3	1	9,7	10,4	9,2	957,658	2148,178	0,998	87,336
K05RA3	2	9,2	10,4	9,7	5110,557	-2610,759	0,989	518,106
K05RA3	3	9,2	9,7	10,4	2949,383	-4172,756	0,996	343,720
K05RB1	1	10,1	9,1	9,3	3597,601	-3325,124	0,994	364,027
K05RB1	2	9,3	9,1	10,1	4422,954	-2835,991	0,995	527,849
K05RB1	3	9,3	10,1	9,1	2731,413	-4703,827	0,994	264,621
K05RB2	1	10,1	9,6	10	1584,168	19032,208	0,996	163,384
K05RB2	2	10,0	9,6	10,1	2041,534	-11251,626	0,996	214,786
K05RB2	3	10,0	10,1	9,6	3257,431	-3680,350	0,996	309,617

Tabela A.5. Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K06 ( $n = 10$ ).

Próbka	K	$w$ [mm]	$h$ [mm]	$d$ [mm]	$k_z$ [N/mm]	$k_p$ [N/mm]	$r^2$	$E_i^c$ [MPa]
K06LA1	1	10,3	10,0	9,5	1528,061	13206,466	0,997	140,938
K06LA1	2	9,5	10,0	10,3	1959,139	-14646,558	0,997	212,412
K06LA1	3	9,5	10,3	10,0	1913,797	-17799,179	0,996	195,585
K06RA2	1	9,6	9,9	9,8	13221,469	-1987,798	0,905	1363,325
K06RA2	2	9,8	9,9	9,6	7005,669	-2293,777	0,974	693,202
K06RA2	3	9,8	9,6	9,9	6546,550	-2347,685	0,974	688,891
K06RA3	1	9,6	9,2	10,1	3169,081	-3800,045	0,995	362,406
K06RA3	2	10,1	9,2	9,6	4412,383	-2840,354	0,990	455,864
K06RA3	3	10,1	9,6	9,2	4586,385	-2772,640	0,996	435,177
K06LA2	1	9,4	9,4	9,4	2265,392	-7284,434	0,995	240,999
K06LA2	2	9,4	9,4	9,4	2251,7	-7429,710	0,982	239,543
K06LB	1	10,0	9,8	9,0	6033,322	-2421,556	0,969	554,081
K06LB	2	9,0	9,8	10,0	1390,643	7123,1	0,996	157,669
K06LB	3	9,0	10,0	9,8	725,521	1250,599	0,996	79,001
K06LC	1	9,6	8,9	9,0	2276,402	-7172,880	0,996	239,790
K06LC	2	9,0	8,9	9,6	1049,360	2671,954	0,993	125,766
K06LC	3	9,0	9,6	8,9	2532,229	-5440,853	0,994	260,843
K06RA11	1	9,5	9,7	10,1	6820,847	-2314,309	0,962	747,591
K06RA11	2	10,1	9,7	9,5	1558,508	15889,247	0,997	151,126
K06RA11	3	10,1	9,5	9,7	2356,150	-6481,617	0,999	238,193
K06RA12	1	8,8	9,6	9,5	6134,495	-2405,632	0,986	689,840
K06RA12	2	9,5	9,6	8,8	4485,497	-2810,860	0,984	432,811
K06RA12	3	9,5	8,8	9,6	5543,987	-2510,493	0,971	636,630
K06RB1	1	9,2	9,5	9,6	5388,296	-2543,777	0,982	591,849
K06RB1	2	9,6	9,5	9,2	8096,953	-2196,834	0,983	816,798
K06RB1	3	9,6	9,2	9,5	2976,678	-4119,316	0,993	320,182
K06RB2	1	9,8	9,6	8,4	1849,353	-26333,694	0,973	165,121
K06RB2	2	8,4	9,6	9,8	2180,380	-8328,615	0,997	264,977
K06RB2	3	8,4	9,8	9,6	3420,689	-3492,048	0,994	398,914

Tabela A.6. Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K07 ( $n = 23$ ).

Próbka	K	$w$ [mm]	$h$ [mm]	$d$ [mm]	$k_z$ [N/mm]	$k_p$ [N/mm]	$r^2$	$E_i^e$ [MPa]
K07LA2	1	10	9,6	10,2	2434,414	-5954,958	0,995	258,657
K07LA2	2	10,2	9,6	10	552,423	812,015	0,999	56,416
K07LA2	3	10,2	10	9,6	470,191	645,956	0,996	44,253
K07RA1	1	10,4	9,6	10	6398,470	-2367,333	0,958	640,872
K07RA1	2	10	9,6	10,4	7399,273	-2254,510	0,981	801,588
K07RA1	3	10	10,4	9,6	5069,188	-2621,689	0,983	467,925
K07RC2	1	10,1	9,8	10	3798,553	-3170,119	0,994	383,770
K07RC2	2	10	9,8	10,1	2741,984	-4672,805	0,996	282,592
K07RC2	3	10	10,1	9,8	2765,846	-4605,098	0,985	268,369
K07LA1	1	9	9,3	9,3	332,527	411,765	0,999	36,947
K07LA1	2	9,3	9,3	9	288,127	345,783	0,998	29,982
K07LA1	3	9,3	9	9,3	1564,029	16482,440	0,998	173,781
K07LB1	1	9,3	9,5	10,2	2233,320	-7637,094	0,996	257,837
K07LB1	2	10,2	9,5	9,3	3515,928	-3398,081	0,995	337,442
K07LB1	3	10,2	9,3	9,5	1831,941	-30455,659	0,997	183,464
K07LB2	1	9,4	9,8	9,7	1199,947	3926,706	0,998	126,351
K07LB2	2	9,7	9,8	9,4	2252,735	-7418,457	0,994	222,762
K07LB2	3	9,7	9,4	9,8	1366,996	6543,333	0,998	146,924
K07LB3	1	10,1	9,5	9,6	3248,117	-3692,313	0,988	324,981
K07LB3	2	9,6	9,5	10,1	1783,836	-55205,528	0,998	197,552
K07LB3	3	9,6	10,1	9,5	1522,957	12834,639	0,998	149,217
K07LC1	1	9,8	9,8	9,8	2117,962	-9385,106	0,998	216,119
K07LC1	2	9,8	9,8	9,8	4792,500	-2702,379	0,994	489,031
K07LC1	3	9,8	9,8	9,8	2422,133	-6029,745	0,998	247,156
K07LC3	1	9	9,5	9,7	1798,565	-44043,473	0,998	204,048
K07LC3	2	9,7	9,5	9	2689,370	-4833,968	0,985	262,662
K07LC3	3	9,7	9	9,5	1031,215	2557,375	0,997	112,217
K07LD2	1	9,8	9,4	9,8	2969,795	-4132,570	0,998	315,936
K07LD2	2	9,8	9,4	9,8	1884,846	-20765,714	0,997	200,516
K07LD2	3	9,8	9,8	9,4	1427,385	8204,930	0,996	139,707
K07LD3	1	10,7	9,8	9,4	2951,222	-4169,080	0,994	264,557
K07LD3	2	9,4	9,8	10,7	2464,698	-5781,199	0,998	286,282
K07LD3	3	9,4	10,7	9,8	3374,956	-3541,032	0,993	328,838
K07LE1	1	9,8	9,9	9,5	3329,321	-3592,701	0,998	326,000
K07LE1	2	9,5	9,9	9,8	5171,291	-2595,189	0,989	538,848
K07LE1	3	9,5	9,8	9,9	2849,906	-4389,528	0,994	303,051
K07LE2	1	10,2	9,9	9,8	2737,331	-4686,380	0,991	265,655
K07LE2	2	9,8	9,9	10,2	2084,003	-10115,523	0,993	219,097
K07LE2	3	9,8	10,2	9,9	2334,533	-6651,040	0,992	231,211
K07LF1	1	9,9	9,8	9,9	7596,675	-2236,800	0,968	975,171
K07LF1	2	9,9	9,8	9,9	2221,049	-7784,164	0,996	226,638
K07LF1	3	9,9	9,9	9,8	3872,853	-3120,163	0,989	387,246
K07LF2	1	9,6	9,6	9,1	458,358	623,831	0,983	45,259
K07LF2	2	9,1	9,6	9,6	3604,370	-3319,361	0,985	396,085
K07LF2	3	9,1	9,6	9,6	1901,778	-18910,718	0,993	208,987
K07P2	1	10,1	8,0	9,9	6720,843	-2326,053	0,983	823,470
K07P2	2	9,9	8,0	10,1	2732,618	-4700,259	0,994	348,478
K07P2	3	9,9	10,1	8,0	2038,590	-11341,922	0,996	163,103
K07RA2	1	9,7	9,6	9,1	10817,389	-2056,513	0,922	1057,112
K07RA2	2	9,1	9,6	9,7	14115,884	-1969,041	0,939	1567,354
K07RA2	3	9,1	9,7	9,6	4015,855	-3033,146	0,968	436,753
K07RA3	1	9,9	10,0	9,0	6963,329	-2298,353	0,979	633,030
K07RA3	2	9,0	10,0	9,9	9395,954	-2117,411	0,966	1033,555
K07RA3	3	9,0	9,9	10,0	4283,857	-2896,291	0,993	480,792
K07RB1	1	9,6	9,3	9,1	10021,680	-2088,031	0,944	1021,475
K07RB1	2	9,1	9,3	9,6	5103,116	-2612,706	0,991	578,872
K07RB1	3	9,1	9,6	9,3	3951,229	-3071,084	0,997	420,632
K07RB2	1	9,6	9,3	9,8	11759,895	-2025,649	0,957	1290,849
K07RB2	2	9,8	9,3	9,6	5013,026	-2636,968	0,993	528,034
K07RB2	3	9,8	9,6	9,3	4896,979	-2670,254	0,994	484,076
K07RC1	1	9,8	9,4	10,5	6149,685	-2403,305	0,981	700,952
K07RC1	2	10,5	9,4	9,8	3311,973	-3613,124	0,993	328,848
K07RC1	3	10,5	9,8	9,4	4769,627	-2709,706	0,992	435,709
K07RD1	1	9,6	9,4	8,5	3924,596	-3087,369	0,992	369,671
K07RD1	2	8,5	9,4	9,6	569,292	848,995	0,999	68,401
K07RD1	3	8,5	9,6	9,4	1239,485	4384,374	0,998	142,784
K07RD2	1	9,3	10,4	10,3	7919,534	-2210,269	0,970	843,375
K07RD2	2	10,3	10,4	9,3	1337,373	5916,083	0,998	116,109
K07RD2	3	10,3	9,3	10,4	4018,761	-3031,490	0,996	436,320

Tabela A.7. Wartości pomiarowe gęstości dla próbek kości gąbczastej ( $n = 44$ ).

Próbka	Wiek	BV/TV	V	BV	$m_t$	$m_o$	$\rho_m$	$\rho_a$	$\rho_t$	$\rho_f$
K03LA1	8	0,120	1025	123	1,100	0,157	1,900	0,153	1,735	0,865
K03LA2	8	0,138	904	125	1,029	0,165	1,974	0,182	1,784	0,892
K03LB1	8	0,119	960	114	1,047	0,146	1,907	0,152	1,740	0,883
K03LB2	8	0,114	979	112	1,044	0,134	1,792	0,137	1,662	0,877
K03LB3	8	0,104	921	96	0,985	0,113	1,755	0,122	1,638	0,899
K03RA2	8	0,325	974	317	1,322	0,422	1,992	0,434	1,796	0,774
K03RB1	8	0,205	947	194	1,149	0,263	2,025	0,278	1,818	0,841
K03RB2	8	0,144	855	123	0,958	0,160	1,940	0,187	1,762	0,867
K04LA1	2	0,132	678	89	0,763	0,111	1,846	0,163	1,699	0,902
K04LA3	2	0,156	706	110	0,820	0,134	1,822	0,190	1,682	0,900
K04LB1	2	0,144	742	107	0,768	0,120	1,680	0,162	1,588	0,806
K04LC1	2	0,156	808	126	0,869	0,148	1,752	0,183	1,636	0,820
K04RB1	2	0,182	884	161	1,002	0,191	1,776	0,217	1,652	0,834
K04RB2	2	0,207	810	168	0,945	0,201	1,791	0,248	1,662	0,822
K04RC	2	0,116	726	84	0,736	0,109	1,926	0,150	1,752	0,811
K05LA1	5	0,164	694	114	0,792	0,152	1,995	0,219	1,798	0,847
K05LA2	5	0,180	753	136	0,872	0,189	2,077	0,250	1,853	0,824
K05LB1	5	0,094	837	79	0,849	0,085	1,613	0,102	1,543	0,870
K05LC3	5	0,208	676	141	0,827	0,193	2,050	0,286	1,836	0,843
K05RA1	5	0,321	852	274	1,117	0,350	1,909	0,411	1,741	0,752
K05RA2	5	0,331	662	219	1,099	0,360	2,453	0,544	2,105	0,963
K05RA3	5	0,209	869	182	1,021	0,259	2,125	0,298	1,886	0,781
K05RB1	5	0,301	889	268	1,017	0,311	1,734	0,350	1,624	0,655
K05RB2	5	0,176	938	165	1,059	0,230	2,075	0,245	1,852	0,803
K06LA1	8	0,156	815	127	1,044	0,194	2,274	0,238	1,986	0,972
K06LA2	8	0,159	795	126	0,868	0,162	1,916	0,204	1,746	0,815
K06LC	8	0,165	724	119	0,798	0,163	2,032	0,225	1,824	0,802
K06RA1(1)	8	0,345	857	296	1,144	0,395	1,995	0,461	1,799	0,715
K06RA2(2)	8	0,400	741	297	1,054	0,399	2,010	0,539	1,809	0,699
K06RA2	8	0,374	877	328	1,212	0,440	2,004	0,502	1,805	0,708
K06RA3	8	0,265	828	219	1,046	0,295	2,005	0,356	1,805	0,785
K06RB1	8	0,289	790	228	1,011	0,295	1,926	0,373	1,752	0,774
K06RB2	8	0,197	746	147	0,873	0,196	1,988	0,262	1,794	0,818
K07LB1	5	0,149	856	128	0,930	0,505	5,912	0,590	4,423	0,427
K07LB2	5	0,124	860	107	0,906	0,152	2,126	0,177	1,887	0,819
K07LB3	5	0,161	852	137	0,956	0,193	2,096	0,226	1,866	0,822
K07LC1	5	0,149	905	135	0,972	0,181	2,004	0,200	1,805	0,806
K07LD2	5	0,185	800	148	0,933	0,202	2,035	0,252	1,825	0,830
K07LE1	5	0,192	845	162	0,979	0,215	1,978	0,254	1,787	0,815
K07LE2	5	0,158	789	125	0,984	0,173	2,067	0,219	1,847	0,955
K07LF2	5	0,184	757	139	0,869	0,213	2,277	0,281	1,988	0,782
K07RB1	5	0,265	769	204	0,974	0,281	2,060	0,366	1,842	0,779
K07RB2	5	0,244	809	197	1,011	0,276	2,088	0,341	1,861	0,797
K07RD2	5	0,169	883	149	1,004	0,200	2,004	0,227	1,805	0,833





## Zestawienie wyników morfometrii

### Analiza morfometrii

W tabelach **B.1** i **B.2** zawarto wyniki analizy morfometrycznej dla obrazów wypreparowanych próbek kości gąbczastej ( $n = 70$ ) oraz wyniki korelacji Pearsona ( $r$ ) uzyskanych na bazie pomiarów gęstości próbek kości gąbczastej, analizy morfometrycznej obrazów oraz wyników pomiarów ściskania i symulacji w postaci wartości modułów i współczynników Poissona. Przyjęto oznaczenia:

- gęstość materiałowa z pomiarów  $\rho_m$  [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ],
- gęstość pozorna z pomiarów  $\rho_a$  [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ],
- gęstość szpiku z pomiarów  $\rho_f$  [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ],
- gęstość beleczek z pomiarów  $\rho_t$  [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ],
- frakcja objętościowa BV/TV,
- stosunek powierzchni do frakcji BS/BV [ $1/\text{mm}$ ],
- średnia grubość beleczek Tb.Th  $\pm$  odchylenie  $\sigma$  [ $\text{mm}$ ],
- średnia odległość beleczek Tb.Sp  $\pm$  odchylenie  $\sigma$  [ $\text{mm}$ ],
- gęstość połączeń Conn.D [ $\text{mm}^{-3}$ ],
- współczynnik struktury EF\*,
- stopień anizotropii DA,
- moduł Younga z pomiarów  $E_i^e$  [MPa] w danym kierunku,
- moduł Younga z symulacji  $E_i^s$  [MPa] w danym kierunku,
- moduł ścinania z symulacji  $G_{ij}^s$ .

Tabela B.1. Wyniki analizy morfometrycznej dla wypreparowanych próbek kości gąbczastej ( $n = 70$ ).

Próbka	BV/TV	BS/BV	Tb.Th	Tb.Sp	Conn.D	EF*	DA
K01RA1	0,355	9,1	0,210 ± 0,060	0,525 ± 0,137	7,489	-0,25	0,498
K01RA2(b)	0,432	10,1	0,242 ± 0,069	0,478 ± 0,137	4,738	-0,18	0,599
K01RB	0,248	12,4	0,224 ± 0,065	0,767 ± 0,220	3,380	-0,27	0,709
K01RC	0,303	8,3	0,255 ± 0,070	0,733 ± 0,267	4,802	-0,23	0,588
K01LA	0,165	—	0,173 ± 0,052	0,805 ± 0,230	4,730	—	0,668
K03LA1	0,120	19,5	0,146 ± 0,043	0,827 ± 0,212	3,39	-0,20	0,738
K03LA2	0,138	20,0	0,140 ± 0,040	0,785 ± 0,181	3,70	-0,36	0,845
K03LB1	0,119	20,1	0,148 ± 0,050	0,880 ± 0,224	3,80	-0,20	0,479
K03LB2	0,114	18,6	0,152 ± 0,042	0,975 ± 0,292	1,62	-0,24	0,683
K03LB3	0,104	18,2	0,160 ± 0,045	1,102 ± 0,307	1,99	-0,27	0,770
K03RA1	0,340	—	0,211 ± 0,070	0,623 ± 0,157	1,19	-0,24	0,600
K03RA2	0,325	12,6	0,211 ± 0,070	0,671 ± 0,183	1,40	-0,28	0,415
K03RB1	0,205	16,4	0,167 ± 0,054	0,745 ± 0,158	3,53	-0,38	0,772
K03RB2	0,144	15,6	0,180 ± 0,053	0,992 ± 0,269	1,43	-0,29	0,839
K04LA1	0,132	21,7	0,127 ± 0,034	0,744 ± 0,308	7,30	-0,26	0,764
K04LA3	0,156	21,8	0,129 ± 0,038	0,645 ± 0,162	9,05	-0,27	0,734
K04LB1	0,144	15,7	0,184 ± 0,051	0,973 ± 0,333	3,98	-0,15	0,446
K04LB2	0,174	17,1	0,158 ± 0,044	0,699 ± 0,215	5,46	-0,24	0,709
K04LC1	0,156	14,9	0,198 ± 0,057	0,938 ± 0,349	3,50	-0,17	0,647
K04LC2	0,161	15,3	0,182 ± 0,052	0,923 ± 0,517	4,47	-0,17	0,611
K04RA1	0,352	16,0	0,173 ± 0,049	0,399 ± 0,129	15,90	-0,19	0,574
K04RA2	0,348	16,0	0,175 ± 0,045	0,417 ± 0,118	—	-0,23	0,566
K04RB1	0,182	15,4	0,185 ± 0,051	0,769 ± 0,207	4,30	-0,26	0,774
K04RB2	0,207	16,1	0,170 ± 0,049	0,680 ± 0,188	5,48	-0,28	0,767
K04RC	0,116	15,1	0,197 ± 0,055	1,461 ± 0,816	1,18	-0,18	0,706
K05LA1	0,164	19,4	0,148 ± 0,039	0,686 ± 0,175	5,82	-0,28	0,695
K05LA2	0,180	18,4	0,154 ± 0,040	0,637 ± 0,152	5,65	-0,20	0,774
K05LB1	0,094	17,6	0,174 ± 0,045	1,199 ± 0,378	1,95	-0,14	0,568
K05LB2	0,155	—	0,159 ± 0,051	0,770 ± 0,185	3,81	-0,24	0,625
K05LC2	0,211	—	0,177 ± 0,049	0,782 ± 0,208	2,930	-0,40	0,651
K05LC3	0,208	15,6	0,181 ± 0,054	0,778 ± 0,202	3,15	-0,33	0,756
K05RA1	0,321	13,0	0,201 ± 0,054	0,601 ± 0,144	3,63	-0,37	0,609
K05RA2	0,331	15,0	0,213 ± 0,060	0,599 ± 0,134	2,67	-0,30	0,792
K05RA3	0,209	10,2	0,191 ± 0,056	0,755 ± 0,178	2,37	-0,35	0,866
K05RB1	0,301	12,5	0,187 ± 0,049	0,594 ± 0,145	4,31	-0,34	0,629
K05RB2	0,176	15,4	0,178 ± 0,048	0,820 ± 0,197	3,16	-0,26	0,743
K06LA1	0,156	22,6	0,141 ± 0,038	0,602 ± 0,175	6,36	-0,24	0,692
K06LA2	0,159	19,7	0,142 ± 0,036	0,661 ± 0,153	6,01	-0,25	0,735
K06LB	0,158	—	0,150 ± 0,045	0,745 ± 0,183	3,70	-0,32	0,678
K06LC	0,165	15,2	0,189 ± 0,051	0,885 ± 0,242	2,11	-0,28	0,798
K06RA1(1)	0,345	12,7	0,205 ± 0,063	0,581 ± 0,156	3,48	-0,31	0,503
K06RA2(2)	0,400	11,6	0,222 ± 0,071	0,534 ± 0,143	2,97	-0,23	0,628
K06RA2	0,374	12,2	0,209 ± 0,064	0,543 ± 0,143	2,81	-0,29	0,582
K06RA3	0,265	13,5	0,196 ± 0,054	0,678 ± 0,163	3,02	-0,31	0,819
K06RB1	0,289	13,8	0,190 ± 0,049	0,626 ± 0,159	3,98	-0,36	0,641
K06RB2	0,197	15,4	0,182 ± 0,048	0,828 ± 0,276	3,40	-0,28	0,704
K07LA1	0,139	—	0,127 ± 0,040	0,675 ± 0,162	8,350	—	0,598
K07LA2	0,171	—	0,148 ± 0,046	0,678 ± 0,204	9,81	-0,22	0,511
K07LB1	0,149	21,4	0,130 ± 0,039	0,637 ± 0,144	7,82	-0,23	0,737
K07LB2	0,124	24,0	0,118 ± 0,035	0,672 ± 0,150	7,45	-0,25	0,707
K07LB3	0,161	21,2	0,133 ± 0,039	0,643 ± 0,169	7,62	-0,29	0,756
K07LC1	0,149	20,4	0,144 ± 0,051	0,676 ± 0,151	6,58	-0,24	0,635
K07LC3	0,128	22,8	0,125 ± 0,036	0,727 ± 0,166	4,73	-0,38	0,764
K07LD2	0,185	17,3	0,161 ± 0,053	0,727 ± 0,173	4,25	-0,24	0,748
K07LD3	0,187	18,8	0,131 ± 0,058	0,708 ± 0,202	12,37	-0,25	0,424
K07LE1	0,192	18,1	0,150 ± 0,044	0,773 ± 0,204	4,12	-0,30	0,766
K07LE2	0,158	17,8	0,169 ± 0,054	0,835 ± 0,254	0,96	-0,17	0,611
K07LF1	0,183	—	0,159 ± 0,054	0,764 ± 0,211	4,116	—	0,698
K07LF2	0,184	14,8	0,195 ± 0,070	0,988 ± 0,335	2,50	-0,34	0,734
K07LP2	0,170	—	0,208 ± 0,073	1,020 ± 0,308	2,37	-0,29	0,693
K07RA1	0,381	—	0,193 ± 0,057	0,532 ± 0,147	0,62	0,00	0,537
K07RA2	0,396	—	0,198 ± 0,060	0,496 ± 0,137	6,42	-0,20	0,587
K07RA3	0,362	—	0,191 ± 0,060	0,514 ± 0,133	7,00	-0,26	0,509
K07RB1	0,265	19,4	0,165 ± 0,050	0,599 ± 0,134	5,75	-0,33	0,694
K07RB2	0,244	15,7	0,173 ± 0,050	0,634 ± 0,135	4,28	-0,32	0,817
K07RC1	0,243	—	0,170 ± 0,050	0,604 ± 0,136	5,62	-0,34	0,722
K07RC2	0,205	—	0,161 ± 0,044	0,644 ± 0,152	—	-0,31	0,832
K07RD1	0,127	—	0,145 ± 0,042	0,832 ± 0,258	3,82	-0,29	0,774
K07RD2	0,169	18,3	0,146 ± 0,047	0,696 ± 0,181	3,44	-0,35	0,872

Tabela B.2. Wyniki korelacji statystycznych ( $r$ ) uzyskanych na bazie pomiarów gęstości próbek kości gąbczastej, analizy morfometrycznej obrazów oraz wyników pomiarów ściskania i symulacji w postaci wartości modułów i współczynników Poissona.

	$\rho_m$	$\rho_a$	$\rho_t$	$\rho_f$	BV/TV	BS/BV	DA	Tb.Th	Tb.Sp	SMI	Conn.D	EF*	$E_1^e$	$E_2^e$	$E_3^e$	$E_1^s$	$E_2^s$	$E_3^s$	$G_{23}^s$	$G_{13}^s$	$G_{12}^s$	
$\rho_m$	1,00																					
$\rho_a$	0,50	1,00																				
$\rho_t$	1,00	0,50	1,00																			
$\rho_f$	-0,63	-0,62	-0,63	1,00																		
BV/TV	-0,02	0,85	-0,02	-0,39	1,00																	
BS/BV	0,21	-0,47	0,21	0,31	-0,64	1,00																
DA	0,12	-0,14	0,12	0,16	-0,40	0,16	1,00															
Tb.Th	-0,20	0,50	-0,20	-0,20	0,69	-0,93	-0,29	1,00														
Tb.Sp	-0,20	-0,62	-0,20	0,27	-0,70	0,01	0,18	-0,06	1,00													
SMI	0,13	-0,72	0,13	0,28	-0,89	0,82	0,14	-0,78	0,46	1,00												
Conn.D	0,30	-0,01	0,30	-0,15	0,05	0,44	-0,21	-0,40	-0,47	0,25	1,00											
EF*	0,02	-0,38	0,02	0,14	0,04	0,17	-0,45	0,10	0,10	0,28	0,06	1,00										
$E_1^e$	0,01	0,65	0,01	-0,30	0,69	-0,44	-0,18	0,45	-0,45	-0,72	-0,11	-0,29	1,00									
$E_2^e$	0,08	0,78	0,08	-0,34	0,83	-0,50	-0,18	0,51	-0,59	-0,79	-0,04	-0,17	0,86	1,00								
$E_3^e$	0,06	0,71	0,06	-0,32	0,79	-0,39	-0,26	0,43	-0,60	-0,71	0,01	-0,09	0,76	0,86	1,00							
$E_1^s$	-0,01	0,63	-0,01	-0,21	0,96	-0,56	-0,31	0,65	-0,71	-0,90	0,00	0,15	0,82	0,90	0,84	1,00						
$E_2^s$	-0,01	0,61	-0,01	-0,24	0,97	-0,56	-0,55	0,72	-0,62	-0,81	-0,09	0,32	0,72	0,82	0,80	0,90	1,00					
$E_3^s$	-0,08	0,55	-0,08	-0,14	0,96	-0,57	-0,57	0,68	-0,62	-0,80	-0,08	0,40	0,69	0,82	0,79	0,90	0,98	1,00				
$G_{23}^s$	-0,13	0,49	-0,13	-0,10	0,95	-0,57	-0,44	0,66	-0,63	-0,83	-0,12	0,27	0,76	0,85	0,79	0,92	0,96	0,97	1,00			
$G_{13}^s$	-0,03	0,62	-0,03	-0,21	0,96	-0,57	-0,40	0,66	-0,64	-0,85	-0,07	0,28	0,81	0,92	0,86	0,94	0,94	0,93	0,91	1,00		
$G_{12}^s$	-0,06	0,53	-0,06	-0,17	0,93	-0,56	-0,57	0,66	-0,60	-0,75	-0,05	0,35	0,59	0,70	0,70	0,86	0,94	0,96	0,92	0,83	1,00	



## Zestawienie wyników symulacji

### Parametry modelu uśredniającego

W tabeli C.1 zostały zawarte wartości parametrów modelu Zysseta–Curniera i współczynników determinacji z regresji wielokrotnej. Przyjęto oznaczenia:

- moduł Younga  $E_0^m$ , moduł ścinania  $G_0^m$  [MPa] i współczynnik Poissona  $\nu_0^m$  tkanki kostnej,
- wykładniki  $k$  i  $l$  z modelu Zysseta–Curniera,
- współczynniki determinacji  $r^2$  i  $r_a^2$  z regresji wielokrotnej.

Tabela C.1. Parametry modelu Zysseta–Curniera ( $E_0^m$ ,  $\nu_0^m$ ,  $G_0^m$ ,  $k$ ,  $l$ ) uzyskane dla różnych zestawów ( $n$ ) na bazie regresji wielokrotnej wyników z symulacji ściskania i ścinania oraz przewidywanych przez model dla wyciętych obszarów i próbek z 2 różnych zwierzęcych kości udowych (K03 i K07), z uwzględnieniem optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności oraz bez uwzględnienia z oznaczeniem (\*). Dla wszystkich zestawów wylistowano wyniki regresji wielokrotnej dla wszystkich parametrów ( $p = 5$ ), jak i po wymuszeniu wartości  $E_0^m = 10$  GPa.

Oznaczenie zestawów	$n$	$E_0^m$ [MPa]	$\nu_0^m$	$G_0^m$ [MPa]	$k$	$l$	$r^2$	$r_{adj}^2$
próbki kości gąbczastej (K07) (*)	21	11687,846	0,226	3173,733	1,928	0,345	0,6413	0,6347
próbki kości gąbczastej (K07)	14	22428,013	0,200	6787,269	2,410	0,262	0,8997	0,8965
		10000,000	0,231	3726,685	2,015	0,244	0,8780	0,8741
próbki kości gąbczastej (K03) (*)	9	18734,200	0,240	4034,640	2,036	0,731	0,4980	0,4925
próbki kości gąbczastej (K03)	7	25730,682	0,196	7583,432	2,404	0,579	0,9326	0,9282
		10000,000	0,242	4005,401	2,057	0,582	0,9122	0,9066
wycięte obszary (K03)	9	6303,735	0,205	2187,182	1,692	0,367	0,9123	0,9079
		10000,000	0,204	3437,270	2,048	0,361	0,9122	0,9061
obszary i próbki (K03)	16	12261,761	0,201	3960,707	2,103	0,501	0,9234	0,9213
		10000,000	0,211	3453,224	2,013	0,508	0,9218	0,9197
obszary i próbki (K03, K07)	30	15470,935	0,203	4883,537	2,227	0,312	0,9010	0,8996
		10000,000	0,221	3588,440	2,020	0,310	0,8938	0,8923

### Zestawy z symulacji i morfometrii

W tabeli C.2 zostały zawarte wyniki symulacji ściskania i ścinania oraz analizy morfometrycznej na potrzeby kalibracji parametrów modelu Zysseta–Curniera. Przyjęto oznaczenia:

- moduł Younga  $E_i^s$  i moduł ścinania  $G_{ij}^s$  z symulacji [MPa] w danym kierunku,
- współczynnik Poissona z symulacji  $\nu_{ij}^s$  [MPa],
- frakcja objętościowa BV/TV i wartości własne  $m_i$  z morfometrii.

Tabela C.2. Zestawy wyników symulacji oraz morfometrii do kalibracji parametrów modelu Zysseta–Curniera dla próbek kości (K03, K07) oraz wyciętych obszarów (K03). Zestawy które wykluczono po uwzględnieniu optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności oznaczono (\*).

Zestaw	$E_1^s$	$E_2^s$	$E_3^s$	$G_{23}^s$	$G_{13}^s$	$G_{12}^s$	$\nu_{23}^s$	$\nu_{13}^s$	$\nu_{12}^s$	BV/TV	$m_1$	$m_2$	$m_3$	
próbki (K03)	1701,40	1547,70	1219,40	615,70	518,37	500,83	0,23	0,21	0,25	0,35	1,27	1,0	0,73	
	1651,80	1188,80	898,47	545,45	442,10	337,27	0,18	0,33	0,34	0,32	1,54	0,86	0,60	
	315,19	132,70	56,89	80,30	40,08	24,73	0,10	0,18	0,44	0,12	1,57	0,90	0,53	
	283,10	23,85	23,76	25,57	23,89	22,35	0,03	0,05	0,67	0,09	1,41	1,16	0,43	
	658,97	124,31	53,61	78,85	50,21	23,65	0,05	0,23	0,37	0,13	1,52	1,15	0,33	
	572,82	158,04	70,56	116,53	39,84	22,03	0,05	0,13	0,19	0,14	1,89	0,77	0,34	
	498,59	98,10	53,44	50,07	39,43	26,03	0,04	0,07	0,32	0,12	1,41	1,13	0,45	
	(*)	1089,30	394,30	318,25	237,43	213,19	130,56	0,31	0,37	0,39	0,22	1,42	1,11	0,47
(*)	253,59	148,26	81,63	52,87	44,37	32,69	0,31	0,32	0,50	0,12	1,21	1,06	0,73	
próbki (K07)	2124,70	1384,90	1286,60	686,81	654,69	470,50	0,18	0,29	0,30	0,37	1,32	1,15	0,53	
	2481,20	1562,10	1395,20	772,92	686,45	501,06	0,15	0,18	0,35	0,40	1,27	1,18	0,55	
	970,24	288,71	228,25	202,56	159,99	74,24	0,10	0,10	0,33	0,19	1,47	1,10	0,44	
	941,13	312,45	212,94	223,86	163,64	88,15	0,11	0,10	0,49	0,19	1,49	1,13	0,39	
	1061,60	318,66	165,15	212,42	112,74	65,03	0,05	0,11	0,51	0,20	1,64	0,98	0,38	
	1618,70	531,57	391,57	319,96	288,57	128,71	0,10	0,10	0,41	0,26	1,41	1,25	0,34	
	1464,90	628,07	354,52	390,79	221,48	150,38	0,08	0,14	0,48	0,25	1,58	0,96	0,46	
	718,70	400,34	194,37	150,67	70,03	59,21	0,08	0,13	0,41	0,17	1,63	0,84	0,53	
	497,52	241,54	71,63	100,87	45,70	28,52	0,10	0,14	0,52	0,14	1,66	0,82	0,52	
	449,63	417,06	104,73	101,58	71,23	59,01	0,10	0,17	0,53	0,16	1,50	0,81	0,69	
	1805,30	1451,80	1393,70	654,85	618,24	499,32	0,26	0,28	0,31	0,37	1,57	1,27	0,16	
	706,76	269,46	231,34	142,30	93,01	75,44	0,08	0,17	0,31	0,18	1,37	0,96	0,66	
	1590,30	816,98	631,00	408,30	350,63	229,74	0,13	0,15	0,39	0,29	1,65	1,10	0,49	
	633,85	148,63	49,95	85,55	47,62	30,14	0,05	0,06	0,24	0,14	1,84	0,83	0,32	
	(*)	1701,40	1547,70	1219,40	615,70	518,37	500,83	0,21	0,23	0,25	0,35	1,26	0,99	0,74
	(*)	1651,80	1188,80	898,47	442,10	337,27	545,45	0,18	0,33	0,34	0,32	1,54	0,86	0,60
	(*)	315,19	132,70	56,89	80,30	40,08	24,73	0,10	0,18	0,44	0,12	1,57	0,90	0,53
	(*)	283,10	23,85	23,76	25,57	23,89	22,35	0,03	0,05	0,67	0,09	1,41	1,16	0,43
	(*)	658,97	124,31	53,61	78,85	50,21	23,65	0,05	0,23	0,37	0,13	1,52	1,15	0,33
	(*)	572,82	158,04	70,56	116,53	39,84	22,03	0,05	0,13	0,19	0,14	1,89	0,77	0,34
(*)	498,59	98,10	53,44	50,07	39,43	26,03	0,04	0,07	0,32	0,12	1,13	0,45	0,34	
obszary (K03)	742,49	6619,32	425,0	236,04	180,49	178,02	0,19	0,21	0,27	0,27	1,32	0,95	0,73	
	1312,00	582,36	542,67	326,90	277,39	160,57	0,13	0,15	0,28	0,27	1,29	1,19	0,52	
	1206,70	454,05	425,69	265,63	231,51	133,75	0,12	0,13	0,31	0,25	1,30	1,20	0,51	
	1135,00	464,45	333,29	273,85	200,99	137,44	0,10	0,14	0,41	0,25	1,39	1,03	0,58	
	1202,00	599,69	467,59	325,88	253,71	190,53	0,12	0,16	0,37	0,28	1,28	1,06	0,66	
	1263,40	644,85	576,74	327,42	315,10	206,65	0,15	0,15	0,33	0,29	1,21	1,11	0,68	
	1245,00	716,06	594,66	378,49	312,14	233,38	0,14	0,16	0,29	0,31	1,17	1,11	0,72	
	1134,20	768,16	592,67	372,80	300,52	247,52	0,15	0,18	0,27	0,31	1,16	1,03	0,81	
	916,83	688,39	592,19	302,11	279,24	250,79	0,18	0,19	0,31	0,30	1,12	0,98	0,90	
	(*)	1265,30	790,85	607,01	321,13	301,83	186,57	0,17	0,17	0,29	0,28	1,30	1,07	0,64
	(*)	1199,10	395,61	355,96	247,61	226,81	136,28	0,10	0,12	0,40	0,25	1,31	1,18	0,52
	(*)	418,99	222,82	106,76	117,82	62,99	54,08	0,24	0,34	0,36	0,17	1,38	0,90	0,72
	(*)	450,38	195,04	98,53	111,69	56,05	37,35	0,17	0,41	0,46	0,16	1,38	0,95	0,67
	(*)	575,71	208,02	99,90	115,87	64,90	34,25	0,19	0,43	0,51	0,17	1,40	0,98	0,62
	(*)	255,35	710,98	104,23	132,17	72,09	39,62	0,12	0,40	0,71	0,19	1,53	0,95	0,52
	(*)	502,77	167,19	88,03	116,97	50,99	26,59	0,15	0,44	0,56	0,16	1,47	0,93	0,61
	(*)	834,65	306,84	110,88	182,47	87,82	51,08	0,31	0,53	0,67	0,20	1,55	0,93	0,52
	(*)	963,04	290,63	203,03	190,17	150,96	76,72	0,36	0,41	0,46	0,22	1,39	1,13	0,48
	(*)	1176,00	668,90	344,40	311,61	209,53	154,83	0,23	0,25	0,42	0,26	1,46	0,99	0,56

# Spis rysunków

1.1	Możliwości pomiarowe mikrotomografii komputerowej: obrazowanie kości w skali makro (po lewej), kości gąbczastej w skali mezo (w środku) i beleczek w skali mikro (po prawej). . . . .	1
1.2	Możliwości pomiarowe mikrotomografii komputerowej na przykładzie zwierzęcej kości udowej: obrazowanie beleczek kostnych w skali mikro z wokselem $0,5\ \mu\text{m}$ (po lewej), kości gąbczastej w skali mezo z wokselem $5\ \mu\text{m}$ (w środku) i całej kości w skali makro z wokselem $50\ \mu\text{m}$ (po prawej). . . . .	3
1.3	Struktura wewnętrzna kości długiej na przykładzie kości udowej z wyróżnionymi istotą gąbczastą i zbitą [31]. . . . .	5
1.4	Właściwości mineralnych i sprężystych składników kości. Do oznaczenia lewej połowy został wykorzystany wybielacz (podchloryn), aby wytrawić kolagen i pozostawić składniki mineralne. Do prawej połowy użyto kwasu solnego w celu rozpuszczenia minerałów i pozostawienia kolagenu [14]. . . . .	7
1.5	Ilustracja porowatej struktury kości gąbczastej (po lewej) i lamelarniej struktury kości zbitej (po prawej) na podstawie pomiarów mikrotomograficznych [202]. . . . .	9
1.6	Plan eksperymentalnych oraz teoretyczno-obliczeniowych badań wieloskalowych. . . . .	14
2.1	Idea podejścia wieloskalowego: wyznaczenie właściwości reprezentatywnych struktur po rekonstrukcji tomograficznej w skali mezo (struktura beleczkowa kości gąbczastej) i stworzenie reprezentacji obliczeniowej 3D w skali makro (uśrednione właściwości kości udowej po homogenizacji). . . . .	15
2.2	Typowa krzywa zależności obciążenia od przemieszczenia dla jednoosiowego testu ściskania z oznaczonymi granicami sprężystości $\sigma_Y$ (ang. <i>yield</i> ) i plastyczności $\sigma_U$ (ang. <i>strength ultimate stress</i> ), obszarem zależności liniowej z którego można wyznaczyć moduł Younga $E$ oraz punktem zniszczenia próbki (oznaczony przez $\mathbf{X}$ ) [3]. . . . .	18
2.3	Ilustracja przemieszczeń i odkształceń w przypadku testów ściskania i ścinania [3]. W przypadku ściskania (po lewej) dochodzi do przemieszczenia $\Delta\mathbf{L}$ i odkształcenia normalnego $\varepsilon$ przy obciążeniu ściskającym $\mathbf{F}$ . Obciążenie ścinające (po prawej) działające równoległe do powierzchni $\mathbf{S}$ sześciianu wywołuje odkształcenia ścinające $\gamma$ (po prawej). . . . .	19
2.4	Przekrój poprzeczny końca bliższego ludzkiej kości udowej uzyskany techniką $\mu\text{CT}$ . Konfiguracja obciążeń dla całej kości (po prawej) ilustruje test potrzebny do scharakteryzowania właściwości materiału w skali makro. Dla wskazanego podobszaru (w środku) zaprezentowano test ściskania określający właściwości kości gąbczastej w skali mezo oraz test rozciągania wycinka (po lewej) w celu wyznaczenia właściwości materiałowych tkanki kostnej w skali mikro [16]. . . . .	30

3.1	Proces pomiarów eksperymentalnych: uzyskanie danych mikrotomograficznych dla kości udowych i wypreparowanych próbek kości gąbczastej wraz z określeniem właściwości materiałowych. . . . .	33
3.2	Schematyczna ilustracja działania metody $\mu$ CT. Skolimowana płaska wiązka promieni X jest kierowana z lampy rentgenowskiej (po lewej) na próbkę obracaną z użyciem manipulatora (w środku) i umożliwia odczyt danych na detektorze (po prawej), na przeciwko lampy [96]. . . . .	35
3.3	Nanotomograf <i>phoenix nanotom s</i> znajdujący się na wyposażeniu LMINT (po lewej), miniaturowa maszyna do testów ściskania <i>Deben CT500</i> wewnątrz nanotomografu z próbką kości gąbczastej przed obciążeniem (w środku) oraz widok prześwietlenia w trakcie obrazowania próbki kości gąbczastej pod obciążeniem [LMINT WFiIS AGH]. . . . .	37
3.4	Zdjęcia końca bliższego wołowej kości udowej przed pocięciem (po lewej), w trakcie cięcia (w środku) oraz po przecięciu w celu uzyskania fragmentów nadających się do pomiaru $\mu$ CT w skali makro (po prawej), z widoczną linijką dla pokazania skali). . . . .	39
3.5	Zdjęcia fragmentów wołowej kości udowej w trakcie docięcia próbek kości gąbczastej na potrzeby pomiaru $\mu$ CT w skali mezo (po lewej i w środku) oraz podczas ważenia (po prawej). . . . .	39
3.6	Zdjęcie fragmentu końca bliższego wołowej kości udowej z uwidocznioną głowę kości przed pomiarem $\mu$ CT (po lewej), przekroje poprzeczne w 3 prostopadłych kierunkach uzyskane po rekonstrukcji (w środku) oraz trójwymiarowa wizualizacja cyfrowej reprezentacji obiektu (po prawej). . . . .	39
3.7	Krzywa zależności naprężenia od odkształcenia dla testu obciążenia próbek (po prawej) oraz struktura kości przed i w trakcie deformacji (3%) z użyciem $\mu$ CT (po lewej i w środku). . . . .	41
3.8	Wykresy z uśrednionymi wynikami wartości modułów Younga dla trzech prostopadłych kierunków ( $E_1^e \geq E_2^e \geq E_3^e$ ) oraz wartości średniej ( $\bar{E}^e$ ) z pomiarów eksperymentalnych w postaci testów jednoosiowego ściskania dla wszystkich kości z podziałem na stronę lewą (L) i prawą (R). . . . .	44
3.9	Uśrednione wyniki eksperymentalnego pomiaru gęstości dla próbek kości gąbczastej wypreparowanych z wołowych kości udowych w różnym wieku (2, 3, 5, 7, 8 lat). Oznaczenia gęstości materiału ( $\rho_m$ ), gęstości pozornej ( $\rho_a$ ), gęstości beleczek ( $\rho_t$ ) oraz gęstości szpiku ( $\rho_f$ ). Charakterystyczny przebieg wzrostowo-spadkowy dla wybranych parametrów ( $\rho_m, \rho_a, \rho_t$ ) wraz z wiekiem. . . . .	46
3.10	Wyidealizowany wykres zależności gęstości kości od wieku krowy po adaptacji danych kości ludzkich z pracy [34], ze wskazaniem momentu osiągnięcia maksymalnej gęstości w trakcie dorastania, stabilizacji gęstości kości oraz spadku masy kostnej na skutek procesów starzenia. . . . .	46
4.1	Proces rejestracji danych z pomiarów mikrotomograficznych w dwóch różnych skalach: wyznaczenie dopasowania pomiędzy kością udową (po lewej) i próbką kości gąbczastej (po prawej). . . . .	51
4.2	7-krotnie zreskalowane rekonstrukcje 3 mm próbek kości gąbczastej (K07RB2, K07LF1) z pomiaru $\mu$ CT z wokselem 6,5 $\mu$ m, pobranych z 2 różnych miejsc końca bliższego kości udowej (K07). <i>Kliknij, aby uaktywnić wersje interaktywne: klawisz shift do zbliżenia/oddalenia i ctrl do przesunięcia.</i> . . . . .	52
4.3	Przekroje poprzeczne końca bliższego kości udowej (K03) po połączeniu fragmentów z pomiarów mikrotomograficznych. Dane zreskalowane 4-krotnie w rzucie od boku (po lewej) oraz dane w oryginalnej skali pomiaru mikrotomograficznego w rzucie od góry (po prawej). . . . .	56



4.4	Uśrednienie w objętości przekrojów poprzecznych (po lewej) oraz powierzchnia ścianki próbki kości gąbczastej zbinaryzowana na podstawie uśrednienia (po prawej), pozwalająca na weryfikację jej rozmiarów w trzech kierunkach i wybór parametrów docięcia. . . . .	57
4.5	Zróznicowane pod względem struktury obszary reprezentatywne po cyfrowym docięciu: z orientacją beleczek niezgodną (po lewej) oraz zgodną z osiami docięcia (po prawej). . . . .	57
4.6	Efekt zreskalowania danych z pomiarów w skali mezo (z wokselem 6,5 $\mu\text{m}$ ): (na górze od lewej) 2-krotnego, 7-krotnego, 14-krotnego i 28-krotnego, wraz z odpowiadającymi histogramami (na dole) oraz rekonstrukcją 3D dla danych w najniższej uzyskanej rozdzielczości (po prawej). . . . .	58
4.7	Efekt użycia operatora DoG: wykryte lokalne minima ( <b>czzerwone</b> znaczniki) i maksima ( <b>zielone</b> znaczniki) naniesione na fragment przekroju poprzecznego ze strukturą kości gąbczastej. . . . .	60
4.8	Definicja lokalnego deskryptora z metody rejestracji danych ze SPIM [164]. Deskryptor $a$ jest opisany przez położenie trzech najbliższych sąsiadów: $b$ , $c$ i $d$ (a). Lokalna oś $x$ wyznaczana jest przez wektor z punktu $a$ do $d$ (b). Pierwszy oraz trzeci najbliższy sąsiad $b$ i $d$ tworzą płaszczyznę (c). Prostopadłe do tej płaszczyzny i osi $x$ biegnie oś $y$ zorientowana w kierunku $b$ (d). Oś $z$ jest prostopadła do osi $x$ i $y$ , oraz zorientowana w kierunku $c$ (e). W oparciu o tak zdefiniowany układ współrzędnych wyznaczone zostają niezmiennie względem rotacji i skalowania wartości opisujące deskryptor (f). . . . .	60
4.9	Zestawienie wyników rejestracji w przypadku cyfrowego wycięcia próbek z końca bliższego kości udowej (sztucznie wygenerowany problem). Dopasowanie dla obszaru blisko części trzonowej o wysokiej porowatości (po lewej) i blisko głowy kości o wysokiej frakcji objętościowej (po prawej). . . . .	63
4.10	Histogram obrazu referencyjnego przed i po optymalnym obcięciu, zestawiony wraz z histogramem dopasowywanej próbki (od lewej na górze). Procent dopasowanych znaczników w zależności od poziomu obciążenia histogramu obrazu referencyjnego z wartością wyznaczoną automatycznie przez algorytm zaznaczoną linią przerywaną (na dole). . . . .	64
4.11	Wyniki rejestracji dla kości K03: strona L (na górze) i R (na dole). . . . .	65
4.12	Zestawienie dopasowanych obszarów kości gąbczastej (K03RA) z 2 różnych skal pomiarowych (na górze), wraz z odpowiadającymi histogramami (na dole). Obraz z wyższej rozdzielczości (po lewej) został zreskalowany 7-krotnie. W przypadku obrazu z niższej rozdzielczości (w środku) zastosowano filtr medianowy redukujący szum bez rozmycia informacji o strukturze (po prawej). . . . .	66
5.1	Proces przetwarzania i analizy danych: binaryzacja i pomiary morfometryczne kości dla dwóch skal (mezo i makro) oraz zbadanie powiązań statystycznych między uzyskanymi parametrami. . . . .	69
5.2	Zróznicowanie struktury kości gąbczastej z wołowej kości udowej (K03) ukazujące obszary o wyższej (po lewej) i niższej (po prawej) porowatości i zmieniające się ukierunkowanie beleczek. . . . .	70
5.3	Ilustracja przetwarzania obrazów z mikrotomografii na przykładzie binaryzacji struktury beleczkowej kości gąbczastej oraz usunięcia jej rozłącznych fragmentów. Interesujący fragment usytuowany w lewym dolnym rogu obszaru (uwidoczniony jeden z przekrojów poprzecznych). . . . .	73
5.4	Zestawienie wysokorozdzielczego i niskorozdzielczego obrazu mikrostruktury kości (K03RA2) uzyskane na podstawie rejestracji, przed (na górze) i po binaryzacji (na dole), z odniesieniem do postaci odpowiadających im histogramów (w środku). . . .	76

- 5.5 Efekt progowania globalnego i lokalnego dla struktury kostnej (K03RA1). Na górze, od lewej: wysokorozdzielczy obraz w skali szarości, obraz w niższej rozdzielczości, wynik użycia filtru medianowego dla obrazu niskorozdzielczego. Na dole, od lewej: binaryzacja wysokorozdzielczego obrazu z progowaniem globalnym, binaryzacja niskorozdzielczego obrazu po użyciu filtru medianowego z użyciem dobranego automatycznie progu globalnego oraz progowania lokalnego metodą Niblacka. . . . . 76
- 5.6 Dwuwymiarowa ilustracja graficzna pomiarów wybranych parametrów morfometrycznych. W niniejszym opracowaniu wykorzystano trójwymiarowe uogólnienia metod służących do wyznaczenia przedstawianych parametrów. Frakcja objętościowa (BV/TV) jest wyznaczana jako stosunek liczby wokseli sklasyfikowanych jako beleczi kostne przez liczbę wszystkich wokseli w objętości (po lewej). Rozmiary beleczek i porów są określane na bazie średniej grubości beleczek (Tb.Th) i odległości pomiędzy beleczkami (Tb.Sp) na podstawie lokalnych pomiarów średnic (w środku). Stopień anizotropii (DA) wyznaczany dla struktury na podstawie uśrednionej we wszystkich kierunkach długości przecięć beleczek z porami (po prawej) - zanotowano liczbę przecięć dla każdego wektora. . . . . 78
- 5.7 Przekroje poprzeczne próbki kości gąbczastej (K07RD2) w 3 prostopadłych kierunkach oraz zrekonstruowana powierzchnia mikrostruktury kości. *Kliknij aby uaktywnić wersję interaktywną.* . . . . . 81
- 5.8 Ilustracja założeń metody wyznaczającej wartość współczynnika typu struktury EF. Elipsoidy odpowiadające prętowi (A, B) oraz blaszce (C), a także wyidealizowany fragment struktury kostnej po lokalnej analizie zmiany kształtu beleczi z prętowej, przez sferyczną do blaszkowej (D). . . . . 83
- 5.9 Objętość reprezentatywna kości gąbczastej (K07RB2) z uwidocznionym przekrojem poprzecznym oraz pełną strukturą w reprezentacji wokselowej i po rekonstrukcji powierzchniowej (na górze). Wyniki pomiaru stopnia anizotropii wyskalowane kolorystycznie do wartości własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  w postaci chmury wektorów MIL, elipsoidy oraz ich nałożenia (na dole). . . . . 86
- 5.10 Ilustracja przekrojów poprzecznych w płaszczyźnie  $xy$  analizowanych objętości reprezentatywnych (K07RB2, K07LF1) z 2 różnych regionów kości gąbczastej (na górze) i odpowiadających im wektorów MIL nałożonych na elipsoidę wyznaczoną z najlepszego dopasowania (na dole). Wyskalowane kolorystycznie do wartości własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  wyniki pomiaru stopnia anizotropii w postaci wektorów MIL i elipsoid odpowiadają kierunkowości beleczek obu analizowanych regionów. . . . . 87
- 5.11 Schemat przetwarzania przykładowego obrazu 3D w trakcie analizy stopnia anizotropii z ilustracją wybranych przekrojów poprzecznych. Obraz poddawany analizie (po lewej), po uwzględnieniu obrotu z zaznaczonym obszarem reprezentatywnym (w środku), oraz po wycięciu (po prawej). . . . . 89
- 5.12 Ilustracja metody pozwalającej na wyznaczenie obszaru o maksymalnej powierzchni (lub objętości), którego boki są równoległe do osi obrazu. Na podstawie punktu P wyznaczane są kolejne 2 o potencjalnie korzystniejszym położeniu - poprowadzone zostają 2 proste  $k$  i  $l$  przechodzące przez punkt i równoległe do osi X,Y. Współrzędne nowych punktów P1 i P2 to środki odcinków leżących na tych prostych i definiowanych przez punkty przecięcia z obszarem. Dla każdego z punktów szukany jest największy wpisany prostopadłościan o środku w aktualnie przetwarzanym punkcie w oparciu o wyznaczenie teoretycznie maksymalnych długości odcinków  $w_{max}$  i  $h_{max}$  na bazie długości krótszych z odcinków pomiędzy końcem obszaru, a określonym punktem dla danego kierunku. . . . . 90
- 5.13 Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej frakcji objętościowej (BV/TV). . . . . 94

5.14	Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej powierzchni na objętość kości (BS/BV).	94
5.15	Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej grubości beleczek (Tb.Th).	95
5.16	Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej odległości beleczek (Tb.Sp).	95
5.17	Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej gęstości połączeń (Conn.D).	96
5.18	Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej współczynnika typu struktury (EF*).	96
5.19	Uśrednione wyniki analizy morfometrycznej stopnia anizotropii (DA).	97
5.20	Zestawienie obejmujące wyniki progowania globalnego i lokalnego dla 2 różnych objętości reprezentatywnych kości gąbczastej (K03RA1, K03RA2) wypreparowanych z danej kości makroskopowej (K03). Od lewej: wynik progowania globalnego dla danych w wyższej rozdzielczości w skali mezo (6,5 $\mu\text{m}$ ), oraz danych z niższej rozdzielczości w skali makro (45,6 $\mu\text{m}$ ), a następnie progowania lokalnego Niblacka z użyciem 2 różnych zestawów parametrów (promień otoczenia, parametr $k$ ).	99
5.21	Mapy ciągłych obszarów kości w skali makro (K03), ukazujących stopień homogeniczności. Płynne przejścia mikrostruktury (np. od lewej do prawej strony) widoczne szczególnie w przypadku wartości frakcji objętościowej, oraz porowatości dla poszczególnych obszarów kości.	101
6.1	Proces modelowania w skali mezo: dyskretyzacja próbek kości gąbczastej, wyznaczenie ortotropowych właściwości materiałowych i optymalizacja parametrów modelu uśredniającego.	107
6.2	Zestawienie 2 typów siatek obliczeniowych 3D dla objętości reprezentatywnej kości gąbczastej z $\mu\text{CT}$ , wygenerowanych na potrzeby symulacji MES: heksagonalnej opartej na reprezentacji wokselowej (po lewej) oraz tetragonalnej opartej na rekonstrukcji powierzchniowej (po prawej).	110
6.3	Ilustracja niejednorodności w obrębie rozmiarów beleczek dla ciągłego obszaru mikrostruktury kości gąbczastej (z wołowej kości udowej K03). Pierwszy (na górze) oraz ostatni (na dole) przekrój poprzeczny części badanego obszaru struktury.	113
6.4	Ilustracja niejednorodności w obrębie rozmiarów beleczek dla ciągłego obszaru mikrostruktury kości gąbczastej (z wołowej kości udowej K03) na bazie map barwnych z wynikami analizy morfometrycznej parametru Tb.Th odpowiadającego morfologii beleczek. Pierwszy (na górze) oraz ostatni (na dole) przekrój poprzeczny badanego obszaru struktury.	113
6.5	Ilustracja niejednorodności w obrębie rozmiarów porów dla ciągłego obszaru mikrostruktury kości gąbczastej (z wołowej kości udowej K03) na bazie map barwnych z wynikami analizy morfometrycznej parametru Tb.Sp odpowiadającego odległościom międzybeleczkowym. Pierwszy (na górze) oraz ostatni (na dole) przekrój poprzeczny badanego obszaru struktury.	113
6.6	Wynik symulacji testu obciążeniowego jednoosiowego ściskania wzdłuż osi $y$ , wykonany w ramach weryfikacji mieszanych jednorodnych warunków brzegowych kompatybilnych z periodycznymi (PMUBC) na wyidealizowanych modelach obliczeniowych. Na wizualizacjach zamieszczono zestawienie przemieszczeń zgodnych z oczekiwanymi (po lewej) oraz nierównomierny rozkład naprężeń von Misesa (po prawej) dla sztucznie wygenerowanej struktury porowatej o zadanych właściwościach.	121
6.7	Wizualizacja siatki obliczeniowej $\mu\text{FE}$ dla badanego 3-krotnie zreskalowanego obszaru kości gąbczastej (po lewej), po uzyskaniu na podstawie bezpośredniej zamiany wokseli z $\mu\text{CT}$ na heksagonalne elementy skończone (liczba węzłów: 22275138, liczba elementów: 19472455). Powiększony fragment siatki obliczeniowej $\mu\text{FE}$ uwidaczniający poszczególne elementy heksaedralne (po prawej).	122

- 6.8 Wizualizacja sekwencji próbnego testu obciążeniowego ściskania wzdłuż osi  $x$  z użyciem pakietu *ParOSol* dla siatki obliczeniowej  $\mu$ FE na bazie wokseli obszaru kości gąbczastej z  $\mu$ CT z użyciem warunków PMUBC. Zestawienie przed (po lewej) i po deformacji (po prawej, z uwzględnieniem współczynnika skalowania 2-krotnego) z naniesionymi przemieszczeniami. . . . . 123
- 6.9 Zestawienie obejmujące rezultat testów obciążeniowych ściskania wzdłuż osi  $x$  (po lewej, z uwzględnieniem wsp. skalowania 2-krotnego) i ścinania w płaszczyźnie  $xy$  (po prawej, z uwzględnieniem wsp. skalowania 10-krotnego dla lepszego pokazania efektu) przed (kolor szary) i po deformacji (kolor pomarańczowy). Wykorzystano siatkę obliczeniową  $\mu$ FE na bazie obszaru kości gąbczastej z  $\mu$ CT z użyciem mieszanych jednorodnych warunków brzegowych kompatybilnych z periodycznymi (PMUBC) do obliczeń w pakiecie *ParOSol*. . . . . 123
- 6.10 Wykres przedstawiający zestawienie danych eksperymentalnych z wynikami symulacji MES w postaci modułów Younga dla 3 prostopadłych kierunków testu jednoosiowego ściskania. Wyniki zawężono do 4 próbek kości gąbczastej (K07RB2, K07LF1, K07RD2, K07RD1) z kości makroskopowej (K07) wykazujących pierwotną orientację mocno zbliżoną do zgodnej z głównymi osiami anizotropii. Dla każdej z próbek przedstawiono począwszy od lewej: wartości eksperymentalne ( $e$ ), dane z symulacji ( $s$ ) oraz przeskalowane dane z symulacji ( $s^*$ ). . . . . 126
- 6.11 Zestawienie obejmujące mikrostrukturę obszaru kości gąbczastej (K07RB2) w postaci rekonstrukcji 3D (po lewej), rozkład orientacji metody MIL w postaci elipsoidy (w środku) oraz graficzną reprezentację tensora sztywności (po prawej). Wartości odzwierciedlone kolorami na mapie barwnej naniesionej na elipsoidę MIL są bezwymiarowe (w środku), natomiast wydłużenie reprezentacji tensora sztywności (kształt) i rozkład objętości (kolor) wyrażono w MPa (po prawej). . . . 127
- 6.12 Wykresy z uśrednionymi wynikami wartości modułów Younga dla trzech prostopadłych kierunków ( $E_1^s \geq E_2^s \geq E_3^s$ ) oraz wartości średniej ( $\bar{E}^s$ ) z symulacji MES w postaci testów ściskania dla kości K07 (wiek 3 lat) i K03 (wiek 8 lat) z podziałem na stronę lewą (L) i prawą (R). . . . . 129
- 6.13 Wykres zależności wyników w skali logarytmicznej na bazie symulacji MES (na osi  $x$ ) oraz wartości wyznaczonych z modelu Zysseta-Curniera (na osi  $y$ ) po regresji wielokrotnej dla próbek kości gąbczastej z kości udowej (K07), z optymalizacją tensora sztywności oraz selekcją homogeniczności ( $n = 14$ ). Wyniki regresji dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu wartości  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej), z oznaczeniem wartości  $r_{adj}^2$ . Naniesione wartości modułów Younga (kolor **czerny**), modułów ścinania (kolor **niebieski**) i współczynników Poissona (kolor **niebieski**). . . . . 131
- 6.14 Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla próbek kości (K07), bez optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności ( $n = 23$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej). . . . . 132
- 6.15 Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla próbek kości (K03), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 7$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej). . . . . 132
- 6.16 Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla próbek kości (K03), bez optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności ( $n = 9$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów modelu (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej). . . . . 132

- 6.17 Wykres regresji wyników symulacji MES oraz wartości z modelu Zysseta-Curniera dla wyciętych obszarów kości (K03), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 9$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej). . . . . 133
- 6.18 Wykres regresji wyników symulacji MES i wartości z modelu Zysseta-Curniera zbiorczo dla próbek i wyciętych obszarów (K03), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 16$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów (po lewej) i dla  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej). . . . . 133
- 6.19 Wykres zależności wyników regresji wielokrotnej na bazie symulacji MES i wartości z modelu Zysseta-Curniera zbiorczo dla wyciętych obszarów i próbek 2 różnych kości (K03, K07), z optymalizacją tensora sztywności i selekcją homogeniczności ( $n = 30$ ). Wyniki dla wszystkich parametrów (po lewej) i po wymuszeniu  $E_0^m = 10$  GPa (po prawej), z oznaczeniem wartości  $r_{adj}^2$ . . . . . 133
- 7.1 Proces symulacji w skali makro: dyskretyzacja kości udowych i mapowanie uśrednionych ortotropowych właściwości materiałowych w celu analizy przewidywanego stanu obciążenia. . . . . 141
- 7.2 Ilustracja możliwości bazy danych *Orthoload* sił działających na stawy ludzkie dla typowych przebiegów i urazów. Rysunek zaczerpnięto z głównej strony bazy danych *Orthoload*. . . . . 142
- 7.3 Wykorzystanie uśrednionych sił do określenia obciążeń kości: zaadaptowanie sił działających na ludzki staw biodrowy z pracy [178] (po lewej), siły działające na kość udową w czasie chodzenia po płaskiej powierzchni i po schodach z pracy [72] (po prawej). . . . . 143
- 7.4 Zestawienie obejmujące kość po binaryzacji (po lewej), odpowiadającą jej maskę binarną wraz z naniesionymi markerami wyznaczającymi centra analizowanych obszarów (w środku) oraz wyodrębnione markery (kolor biały i niebieski) odpowiadające kości zbitej i gąbczastej (po prawej). . . . . 144
- 7.5 Zestawienie przedstawiające przekroje poprzeczne maski binarnej końca bliższego kości udowej (po lewej), maski obszaru zajmowanego przez kość zbitą (w środku) oraz wygenerowanej objętościowej siatki obliczeniowej (po prawej). . . . . 145
- 7.6 Zestawienie obejmujące zrekonstruowany w pomiarze mikrotomograficznym koniec bliższy kości udowej (po lewej), odpowiadającą mu siatkę obliczeniową (w środku) oraz rezultat mapowania lokalnej orientacji wektorów własnych tensora struktury  $\mathbf{M}$  dla elementów skończonych (po prawej). . . . . 146
- 7.7 Trójwymiarowy model powierzchniowy szkieletu krowy przedstawiony z boku (po lewej), od tyłu (w środku) oraz w ujęciu badanego obszaru końca bliższego kości udowej (po prawej). . . . . 147
- 7.8 Lewa kończyna tylna krowy z zaznaczonymi elementami prętowymi zaprojektowanego modelu - widok od boku (na górze) oraz widok od tyłu (na dole) [125]. . . . . 149
- 7.9 Schemat układu mięśniowego kończyny tylnej z zaznaczonymi mięśniami, których użyto podczas przygotowywania modelu kostno-mięśniowego kończyny tylnej [163]. 149
- 7.10 Model kostno-mięśniowy kończyny tylnej krowy wykorzystany podczas obliczeń (po lewej) wraz z elementami pełniącymi rolę mięśni (kolor zielony) oraz elementami reprezentującymi kość (kolor czerwony). Połączenie mięśnia dwugłowego uda oraz mięśnia obszernego szerokiego bocznego do końca bliższego kości udowej przy pomocy elementów pełniących funkcje ścięgien (po prawej, na górze) oraz model panewki stawu biodrowego (po prawej, na dole) [125]. . . . . 150

7.11	Jedna z siatek MES z bazy danych utworzonej w ramach projektu <i>VPHOP</i> (po lewej), wizualizacja lokalnej orientacji głównych kierunków anizotropii w elementach na podstawie wektorów i wartości własnych tensora $\mathbf{M}$ (kolory odpowiadają wartościom własnym), z pracy [72] (w środku) i na podstawie metodologii z niniejszego opracowania (po prawej) do weryfikacji jej poprawności. . .	153
7.12	Rozkłady frakcji (BV/TV) z uśrednieniem w elementach skończonych: schemat 2 odpowiadający jednolitej wartości w obrębie kości gąbczastej (po lewej) oraz schematy 3–5 z tabeli <b>7.3</b> odpowiadające wartościom mapowanym (po prawej). . .	155
7.13	Rozkład modułów Younga w przypadku symetrii izotropowej (po lewej), odpowiadający schematom 1–3 z tabeli <b>7.3</b> oraz obraz płaszczyzny cięcia przekroju poprzecznego (po prawej). . . . .	155
7.14	Rozkłady modułów Younga w 3 prostopadłych kierunkach w przypadku symetrii ortotropowej, z rozróżnieniem kości zbitej i gąbczastej, odpowiadające schematom 4–5 z tabeli <b>7.3</b> . . . . .	155
7.15	Rozkład naprężeń von Misesa (przekrój poprzeczny) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli <b>7.3</b> . . . . .	157
7.16	Rozkład naprężeń von Misesa (na powierzchni) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli <b>7.3</b> . . . . .	157
7.17	Zmiany masy kostnej pod wpływem odkształceń według teorii Frosta [53]. . . . .	158
7.18	Odkształcenia główne (wszystkie kierunki) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli <b>7.3</b> . . . . .	160
7.19	Naprężenia główne (wszystkie kierunki) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli <b>7.3</b> . . . . .	160
7.20	Odkształcenia główne (minimalne) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli <b>7.3</b> . . . . .	161
7.21	Naprężenia główne (minimalne) dla schematów 1–2 (na górze) oraz 3–5 (na dole) z tabeli <b>7.3</b> . . . . .	161

## Spis tabel

2.1	Porównanie wartości modułu Younga $E_0^e$ pojedynczych beleczek kostnych w kości gąbczastej dla różnych danych eksperymentalnych [135]. . . . .	31
2.2	Eksperymentalne wartości modułu Younga $E^e$ kości gąbczastej z odcinka udowego [141]. . . . .	31
2.3	Wybrane wyniki modelowania modułu Younga $E_0^s$ pojedynczych beleczek kostnych [141]. . . . .	31
2.4	Wybrane wyniki modelowania modułu Younga $E^s$ kości gąbczastej [141]. . . . .	31
3.1	Symbole wołowych kości udowych z odpowiadającym im wiekiem, liczbą wypreparowanych próbek oraz szacunkową masą osobnika, z którego daną próbkę pobrano. . . . .	38
4.1	Wyniki rejestracji dla kości K03 i K07 z informacją o dopasowanych znacznikach i błędzie. . . . .	65
5.1	Klasyfikacja parametrów wykorzystywanych w trakcie analizy morfometrycznej. . .	78
5.2	Wartości liczbowe korelacji Pearsona ( $r$ ) pomiędzy poszczególnymi wielkościami wyznaczonymi na podstawie analizy morfometrycznej danych obrazowych kości gąbczastej ( $n = 70$ ). . . . .	92
5.3	Wyniki analizy morfometrycznej dla wybranych parametrów w skali mezo ( $6,5 \mu\text{m}$ ) i makro ( $45,6 \mu\text{m}$ ) dla jednego z obszarów kości gąbczastej (K03RA1). Wyznaczone i zestawione zostały wartości frakcji objętościowej (BV/TV), stopnia anizotropii (DA) i wartości własne $m_i$ tensora struktury $\mathbf{M}$ . Wzięto pod uwagę wartości wyznaczone jako referencję z użyciem progowania globalnego dla obszaru w oryginalnej skali mezo (1), rozdzielczości 7-krotnie zmniejszonej (*), w celu otrzymania rozdzielczości tożsamej ze skalą makro, z uwzględnieniem różnej kolejności binaryzacji i reskalowania (2–3), a także zastosowaniem dwóch metod progowania lokalnego, metody Niblacka z dopasowanymi parametrami (4) i oryginalnej metody Phansalkara (5). Zestawienie uzupełniono wynikami dla danych zobrazowanych w skali makro po zastosowaniu filtra medianowego, w tym z użyciem progowania globalnego (6), metody Niblacka (7), oraz metody Phansalkara (8). . . . .	100
6.1	Definicja 6 niezależnych testów obciążeniowych na podstawie odkształceń, odpowiednio jednoosiowego ściskania w 3 prostopadłych kierunkach (C1, C2, C3) oraz prostego ścinania (S12, S13, S23) na podstawie sformułowania mieszanych jednorodnych warunków brzegowych kompatybilnych z periodycznymi (PMUBC) zgodnie z definicją nazewnictwa ścianek (E, W, N, S, T, B), a także przemieszczeń $u_i$ , odkształceń $\varepsilon_{ij}$ , długości próbki $l_i$ , oraz sił powierzchniowych $t_i$ z pracy [152]. .	120

6.2	Wartości liczbowe korelacji Pearsona ( $r$ ) pomiędzy najważniejszymi parametrami morfometrycznymi oraz wyznaczonymi eksperymentalnie wartościami modułów Younga w 3 kierunkach ( $E_1^e$ ) oraz gęstością pozorną ( $\rho_a$ ) dla wypreparowanych próbek kości gąbczastej. . . . .	128
6.3	Wartości liczbowe korelacji (parametr $r$ ) pomiędzy parametrami morfometrycznymi oraz wyznaczonymi z użyciem symulacji MES wartościami modułów Younga dla 3 kierunków ( $E_1^s$ ), 3 modułów ścinania ( $G_{ij}^s$ ) oraz 3 współczynników Poissona ( $\nu_{ij}^s$ ) dla próbek kości gąbczastej ( $n = 70$ ). . . . .	128
6.4	Zestawy parametrów złożonych z wyników symulacji MES ( $E_i^s$ , $G_{ij}^s$ , $\nu_{ij}^s$ ), analizy MIL (wartości własne $m_i$ ) oraz frakcji objętościowej (BV/TV), uzyskanych dla próbek kości gąbczastej ( $n = 14$ ) z kości udowej (K07) po selekcji do optymalizacji parametrów modelu uśredniającego. . . . .	130
6.5	Parametry modelu Zysseta–Curniera ( $E_0^m$ , $\nu_0^m$ , $G_0^m$ , $k$ , $l$ ) uzyskane dla różnych zestawów ( $n$ ) na bazie regresji wielokrotnej wyników z symulacji MES i przewidywanych przez model dla wyciętych obszarów i próbek z 2 różnych zwierzęcych kości udowych (K03 i K07), z uwzględnieniem optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności. Dla wszystkich zestawów wylistowano wyniki regresji wielokrotnej dla wszystkich parametrów ( $p = 5$ ), jak i po wymuszeniu wartości $E_0^m = 10$ GPa. . . . .	134
7.1	Parametry profilu przekroju kości użytych w trakcie symulacji. . . . .	151
7.2	Własności materiałowe elementów składowych modelu użyte w trakcie symulacji. . . . .	151
7.3	Schematy na potrzeby badania wpływu zastosowania segmentacji kości zbitej i gąbczastej oraz rzeczywistej frakcji i orientacji na stan naprężeń i odkształceń. . . . .	154
7.4	Wartości dla stanów charakterystycznych w teorii mechanostatycznej Frosta [53]. . . . .	159
A.1	Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K01 ( $n = 5$ ). . . . .	172
A.2	Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K03 ( $n = 10$ ). . . . .	172
A.3	Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K04 ( $n = 11$ ). . . . .	173
A.4	Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K05 ( $n = 11$ ). . . . .	174
A.5	Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K06 ( $n = 10$ ). . . . .	175
A.6	Wartości pomiarowe z testów ściskania próbek z kości K07 ( $n = 23$ ). . . . .	176
A.7	Wartości pomiarowe gęstości dla próbek kości gąbczastej ( $n = 44$ ). . . . .	177
B.1	Wyniki analizy morfometrycznej dla wypreparowanych próbek kości gąbczastej ( $n = 70$ ). . . . .	180
B.2	Wyniki korelacji statystycznych ( $r$ ) uzyskanych na bazie pomiarów gęstości próbek kości gąbczastej, analizy morfometrycznej obrazów oraz wyników pomiarów ściskania i symulacji w postaci wartości modułów i współczynników Poissona. . . . .	181
C.1	Parametry modelu Zysseta–Curniera ( $E_0^m$ , $\nu_0^m$ , $G_0^m$ , $k$ , $l$ ) uzyskane dla różnych zestawów ( $n$ ) na bazie regresji wielokrotnej wyników z symulacji ściskania i ścinania oraz przewidywanych przez model dla wyciętych obszarów i próbek z 2 różnych zwierzęcych kości udowych (K03 i K07), z uwzględnieniem optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności oraz bez uwzględnienia z oznaczeniem (*). Dla wszystkich zestawów wylistowano wyniki regresji wielokrotnej dla wszystkich parametrów ( $p = 5$ ), jak i po wymuszeniu wartości $E_0^m = 10$ GPa. . . . .	183
C.2	Zestawy wyników symulacji oraz morfometrii do kalibracji parametrów modelu Zysseta–Curniera dla próbek kości (K03, K07) oraz wyciętych obszarów (K03). Zestawy które wykluczono po uwzględnieniu optymalizacji tensora sztywności i selekcji homogeniczności oznaczono (*). . . . .	184



## Bibliografia

- [1] M. Abramoff, P. Magelhaes, S. Ram. Image processing with ImageJ. *Biophotonics International*, 11(7):36–42, 2004. [https://imagej.nih.gov/ij/docs/pdfs/Image\\_Processing\\_with\\_ImageJ.pdf](https://imagej.nih.gov/ij/docs/pdfs/Image_Processing_with_ImageJ.pdf).
- [2] P. Alliez, C. Jamin, L. Rineau, S. Tayeb, J. Tournois, M. Yvinec. 3D mesh generation, 2016. [http://doc.cgal.org/latest/Mesh\\_3/](http://doc.cgal.org/latest/Mesh_3/).
- [3] Y. H. An, R. A. Draughn. *Mechanical Testing of Bone and the Bone-Implant Interface*. CRC, 1999. doi:10.1201/9781420073560.
- [4] P. Arbenz, G. H. van Lenthe, U. Mennel, R. Müller, M. Sala. A scalable multi-level preconditioner for matrix-free  $\mu$ -finite element analysis of human bone structures. *International Journal for Numerical Methods in Engineering*, 73(7):927–947, 2008. doi:10.1002/nme.2101.
- [5] P. Augat, T. Link, T. F. Lang, J. C. Lin, S. Majumdar, H. K. Genant. Anisotropy of the elastic modulus of trabecular bone specimens from different anatomical locations. *Medical Engineering & Physics*, 20(2):124–131, 1998. doi:10.1016/S1350-4533(98)00001-0.
- [6] S. Bachmann, D. H. Pahr, A. Synek. Hip joint load prediction using inverse bone remodeling with homogenized fe models: Comparison to micro-fe and influence of material modeling strategy. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 236:107549, 2023. doi:10.1016/j.cmpb.2023.107549.
- [7] C. T. Badea, E. Schreibmann, T. Fox. A registration based approach for 4D cardiac micro-CT using combined prospective and retrospective gating. *Medical Physics*, 35(4):1170, 2008. doi:10.1118/1.2868778.
- [8] A. Badiei. *Non-invasive assessment of trabecular bone structural anisotropy: relevance to mechanical anisotropy*. Praca doktorska, University of Adelaide Library, 2008.
- [9] A. Badiei, M. J. Bottema, N. L. Fazzalari. Expected and observed changes to architectural parameters of trabecular bone with aging - a comparison of measurement techniques. *Digital Image Computing: Techniques and Applications*, 0:71, 2005. doi:10.1109/dicta.2005.1578169.
- [10] J. Belinha, R. N. Jorge, L. Dinis. Bone tissue remodelling analysis considering a radial point interpolator meshless method. *Engineering Analysis with Boundary Elements*, 36(11):1660–1670, 2012. doi:10.1016/j.enganabound.2012.05.009.
- [11] M. Bittner-Frank, A. G. Reisinger, O. G. Andriotis, D. H. Pahr, P. J. Thurner. Cortical and trabecular mechanical properties in the femoral neck vary differently with changes in bone mineral density. *JBMR Plus*, 8(6):ziae049, 04 2024. doi:10.1093/jbmrpl/ziae049.
- [12] J. W. Blaszczyk. *Biomechanika kliniczna*. WL PZWL, Warszawa, 2004.
- [13] T. Blöß, M. Welsch. RVE procedure for estimating the elastic properties of inhomoge-

- neous microstructures such as bone tissue. *Lecture Notes in Applied and Computational Mechanics*, 74:1–17, 2014. doi:10.1007/978-3-319-10981-7\_1.
- [14] Bone Research Society. Gallery, 2016. <http://boneresearchsociety.org/resources/gallery/>. [dostęp: 14.09.2016].
- [15] W. Bonfield. Anisotropy of nonelastic flow in bone. *Journal of Applied Physics*, 38(6):2450, 1967. doi:10.1063/1.1709926.
- [16] S. K. Boyd. Image-based finite element analysis. *Advanced Imaging in Biology and Medicine*, strony 301–318. Springer Berlin Heidelberg, 2009. doi:10.1007/978-3-540-68993-5\_14.
- [17] S. K. Boyd, S. Moser, M. Kuhn, R. J. Klinck, P. L. Krauze, R. Müller, J. A. Gasser. Evaluation of three-dimensional image registration methodologies for in vivo micro-computed tomography. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(10):1587–1599, 2006. doi:10.1007/s10439-006-9168-7.
- [18] M. L. Brandi. Microarchitecture, the key to bone quality. *Rheumatology*, 48(suppl 4):iv3–iv8, 2009. doi:10.1093/rheumatology/kep273.
- [19] Bruker. Morphometric parameters measured by skyscan™ ctanalyser software, 2016. <http://bruker-microct.com/next/CTAn03.pdf>. [dostęp: 14.09.2016].
- [20] E. Brun, J. Vicente. Volumetric segmentation of trabecular bone into rods and plates: a new method based on local shape classification. *Proc. SPIE 7623*, 2010. doi:10.1117/12.843804.
- [21] J. Buskiewicz. Podstawy konstrukcji w protetyce. [http://etacar.put.poznan.pl/jacek.buskiewicz/dydaktyka/bi/Konspekt\\_IB\\_W01.pdf](http://etacar.put.poznan.pl/jacek.buskiewicz/dydaktyka/bi/Konspekt_IB_W01.pdf). [dostęp: 14.09.2016].
- [22] R. Będziński. *Biomechanika inżynierska - zagadnienia wybrane*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 1997.
- [23] R. Będziński. *Mechanika techniczna tom XII: Biomechanika*. Komitet Mechaniki PAN, Instytut Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk, Warszawa, 2011.
- [24] J. Canny. A computational approach to edge detection. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, PAMI-8(6):679–698, 1986. doi:10.1109/TPAMI.1986.4767851.
- [25] S. Capuani, C. Rossi, M. Alesiani, B. Maraviglia. Diffusion tensor imaging to study anisotropy in a particular porous system: The trabecular bone network. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 28(2-4):266–272, 2005. doi:10.1016/j.ssnmr.2005.11.001.
- [26] L. D. Carbonare, M. Valenti, F. Bertoldo, M. Zanatta, S. Zenari, G. Realdi, V. L. Cascio, S. Giannini. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. *Micron*, 36(7-8):609–616, 2005. doi:10.1016/j.micron.2005.07.007.
- [27] D. Chappard, M.-F. Baslé, E. Legrand, M. Audran. Trabecular bone microarchitecture: A review. *Morphologie*, 92(299):162–170, 2008. doi:10.1016/j.morpho.2008.10.003.
- [28] E. Chen, J. Novakofski, W. Jenkins, W. O'Brien. Young's modulus measurements of soft tissues with application to elasticity imaging. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 43(1):191–194, 1996. doi:10.1109/58.484478.
- [29] P. Chomicki, S. Jalowski, E. Kalinowski. Ocena wytrzymałości beleczek kostnych na podstawie piśmiennictwa. *Implantoprotetyka - Stomatologia Kliniczna*, XI(1(38)):4–7, 2010.
- [30] M. J. Ciarelli, S. A. Goldstein, J. L. Kuhn, D. D. Cody, M. B. Brown. Evaluation of orthogonal mechanical properties and density of human trabecular bone from the major metaphyseal regions with materials testing and computed tomography. *Journal of Orthopaedic Research*, 9(5):674–682, 1991. doi:10.1002/jor.1100090507.
- [31] S. Cowin, S. Doty. *Tissue Mechanics*. Springer, 2007. doi:10.1007/978-0-387-49985-7.

- [32] S. C. Cowin. The relationship between the elasticity tensor and the fabric tensor. *Mechanics of Materials*, 4(2):137–147, 1985. doi:10.1016/0167-6636(85)90012-2.
- [33] S. C. Cowin. Bone stress adaptation models. *Journal of Biomechanical Engineering*, 115(4B):528, 1993. doi:10.1115/1.2895535.
- [34] S. C. Cowin. Bone mechanics handbook, second edition. *Journal of Biomechanics*, 35(5):723–724, 2001. doi:10.1016/S0021-9290(01)00251-2.
- [35] V. Creuillot, C. Dreistadt, K. J. Kaliński, P. Lipinski. Mechatronic design towards investigation of the temporo-mandibular joint behaviour. J. Awrejcewicz, K. J. Kaliński, R. Szewczyk, M. Kaliczyńska, redaktorzy, *Mechatronics: Ideas, Challenges, Solutions and Applications*, strony 15–32, Cham, 2016. Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-26886-6\_2.
- [36] L. Cyganik, M. Binkowski, G. Kokot, T. Rusin, P. Popik, F. Bolechała, R. Nowak, Z. Wróbel, A. John. Prediction of young's modulus of trabeculae in micro-scale using macro-scale's relationships between bone density and mechanical properties. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 36:120–134, 2014. doi:10.1016/j.jmbbm.2014.04.011.
- [37] K. Daszkiewicz, G. Maquer, P. K. Zysset. The effective elastic properties of human trabecular bone may be approximated using micro-finite element analyses of embedded volume elements. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 16:731–742, 2017. doi:10.1007/s10237-016-0849-3.
- [38] M. Doblaré. Mechanical behaviour of bone tissue. computational models of bone fracture. *15th CISM-IUTAM Summer School on "Bone cell and tissue mechanics"*. International Centre for Mechanical Sciences, 2007. [http://www.ugr.es/~kinetic/biomat09/biomat/Lectures\\_Doblaré.pdf](http://www.ugr.es/~kinetic/biomat09/biomat/Lectures_Doblaré.pdf).
- [39] M. Doube. The ellipsoid factor for quantification of rods, plates, and intermediate forms in 3D geometries. *Frontiers in Endocrinology*, 6, 2015. doi:10.3389/fendo.2015.00015.
- [40] M. Doube, M. M. Kłosowski, I. Arganda-Carreras, F. P. Cordelieres, R. P. Dugherty, J. S. Jackson, B. Schmid, J. R. Hutchinson, S. J. Shefelbine. Bonej: Free and extensible bone image analysis in imagej. *Bone*, 47(6):1076–1079, 2010. doi:10.1016/j.bone.2010.08.023.
- [41] R. Dougherty, K.-H. Kunzelmann. Computing local thickness of 3d structures with imagej. *Microscopy and Microanalysis*, 13(sup2):1678–1679, 2007. doi:10.1017/s1431927607074430.
- [42] K. Endo, S. Yamada, M. Todoh, M. Takahata, N. Iwasaki, S. Tadano. Structural strength of cancellous specimens from bovine femur under cyclic compression. *PeerJ*, 4:e1562, 2016. doi:10.7717/peerj.1562.
- [43] J. D. Eshelby. The determination of the elastic field of an ellipsoidal inclusion, and related problems. *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 241(1226):376–396, 1957. doi:10.1098/rspa.1957.0133.
- [44] O. Fassi-Fehri, A. Hihi, M. Berveiller. Multiple site self consistent scheme. *International Journal of Engineering Science*, 27(5):495 – 502, 1989. doi:10.1016/0020-7225(89)90002-5.
- [45] N. L. Fazzalari, I. H. Parkinson. Fractal dimension and architecture of trabecular bone. *The Journal of Pathology*, 178(1):100–105, 1996. doi:10.1002/(sici)1096-9896(199601)178:1<100::aid-path429>3.0.co;2-k.
- [46] A. Fedorov, R. Beichel, J. Kalpathy-Cramer, J. Finet, J.-C. Fillion-Robin, S. Pujol, C. Bauer, D. Jennings, F. Fennessy, M. Sonka, J. Buatti, S. Aylward, J. V. Miller, S. Pieper, R. Kikinis. 3D slicer as an image computing platform for the quantitative imaging network. *Magnetic Resonance Imaging*, 30(9):1323–1341, 2012. doi:10.1016/j.mri.2012.05.001.

- [47] J. Fernández, J. García-Aznar, R. Martínez. Numerical analysis of a diffusive strain-adaptive bone remodelling theory. *International Journal of Solids and Structures*, 49(15-16):2085–2093, 2012. doi:10.1016/j.ijsolstr.2012.04.009.
- [48] M. A. Fischler, R. C. Bolles. Random sample consensus: a paradigm for model fitting with applications to image analysis and automated cartography. *Communications of the ACM*, 24(6):381–395, 1981. doi:10.1145/358669.358692.
- [49] J. Fitzpatrick, J. West. The distribution of target registration error in rigid-body point-based registration. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 20(9):917–927, 2001. doi:10.1109/42.952729.
- [50] C. Flaig, P. Arbenz. A scalable memory efficient multigrid solver for micro-finite element analyses based on CT images. *Parallel Computing*, 37(12):846–854, 2011. doi:10.1016/j.parco.2011.08.001.
- [51] C. Flaig, P. Arbenz. A highly scalable matrix-free multigrid solver for  $\mu$ FE analysis based on a pointer-less octree. *Proceedings LSSC 2011*, wolumen 7116, strony 498–506, 07 2012. doi:10.1007/978-3-642-29843-1\_56.
- [52] H. M. Frost. The utah paradigm of skeletal physiology: an overview of its insights for bone, cartilage and collagenous tissue organs. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 18:305–316, 2000. doi:10.1007/s007740070001.
- [53] H. M. Frost. Bone’s mechanostat: A 2003 update. *The Anatomical Record*, 275A(2):1081–1101, 2003. doi:10.1002/ar.a.10119.
- [54] E. G. Garcia. *Double Experimental Procedure for Model-Specific Finite Element Analysis of the Human Femur and Trabecular Bone*. Praca doktorska, Technische Universitat Munchen, 2012.
- [55] M. Gardegaront, A. Sas, D. Brizard, A. Levillain, F. Bermond, C. Confavreux, J. Piat, H. van Lenthe, H. Follet, D. Mitton. Inter-laboratory reproduction and sensitivity study of a finite element model to quantify human femur failure load: Case of metastases. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 158:106676, 07 2024. doi:10.1016/j.jmbbm.2024.106676.
- [56] D. M. Geraldes, L. Modenese, A. T. M. Phillips. Consideration of multiple load cases is critical in modelling orthotropic bone adaptation in the femur. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 15(5):1029–1042, 2015. doi:10.1007/s10237-015-0740-7.
- [57] D. M. Geraldes, A. T. M. Phillips. A comparative study of orthotropic and isotropic bone adaptation in the femur. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 30(9):873–889, 2014. doi:10.1002/cnm.2633.
- [58] L. Gibson. The mechanical behaviour of cancellous bone. *Journal of Biomechanics*, 18(5):317–328, 1985. doi:10.1016/0021-9290(85)90287-8.
- [59] F. Gillard, R. Boardman, M. Mavrogordato, D. Hollis, I. Sinclair, F. Pierron, M. Browne. The application of digital volume correlation (DVC) to study the microstructural behaviour of trabecular bone during compression. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 29:480–499, 2014. doi:10.1016/j.jmbbm.2013.09.014.
- [60] J. K. Gong, J. S. Arnold, S. H. Cohn. Composition of trabecular and cortical bone. *Anat. Rec.*, 149(3):325–331, 1964.
- [61] R. Goulet, S. Goldstein, M. Ciarelli, J. Kuhn, M. Brown, L. Feldkamp. The relationship between the structural and orthogonal compressive properties of trabecular bone. *Journal of Biomechanics*, 27(4):375 – 389, 1994. doi:10.1016/0021-9290(94)90014-0.
- [62] P. Grad, J. Kamiński, M. Śniechowski, J. Pytko-Polończyk. Preliminary study of three-dimensional tooth model reconstruction from volumetric image of porcine mandible obtained by cone beam ct with micro-ct validation. *ICPMS Poprad 2016: I-st International Conference on Pharmaceutical and Medical Sciences*, 2016.
- [63] T. Gross, D. H. Pahr, F. Peyrin, P. K. Zysset. Mineral heterogeneity has a minor influ-

- ence on the apparent elastic properties of human cancellous bone: a SRmicro-CT-based finite element study. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 15(11):1137–1144, 2012. doi:10.1080/10255842.2011.581236.
- [64] T. Gross, D. H. Pahr, P. K. Zysset. Morphology–elasticity relationships using decreasing fabric information of human trabecular bone from three major anatomical locations. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 12(4):793–800, 2012. doi:10.1007/s10237-012-0443-2.
- [65] T. Gross, D. H. Pahr, P. K. Zysset. Morphology–elasticity relationships using decreasing fabric information of human trabecular bone from three major anatomical locations. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 12:793–800, 2013. doi:10.1007/s10237-012-0443-2.
- [66] S. Gupta, S. Chakarvarti, Zaheerudin. Image registration methods: A short review. *American Journal of Algorithms and Computing*, 2013. doi:10.7726/ajac.2013.1003.
- [67] T. P. Harrigan, M. Jasty, R. W. Mann, W. H. Harris. Limitations of the continuum assumption in cancellous bone. *Journal of Biomechanics*, 21(4):269 – 275, 1988. doi:10.1016/0021-9290(88)90257-6.
- [68] T. P. Harrigan, R. W. Mann. Characterization of microstructural anisotropy in orthotropic materials using a second rank tensor. *Journal of Materials Science*, 19:761–767, 1984. doi:10.1007/bf00540446.
- [69] S. Hazanov. Hill condition and overall properties of composites. *Archive of Applied Mechanics*, 68:385–394, 1988. doi:doi.org/10.1007/s004190050173.
- [70] J. Hazrati, K. Ito, M. Cataldi, F. Taddei, B. van Rietbergen. A novel approach to estimate trabecular bone anisotropy using a database approach. *Journal of Biomechanics*, 46(14):2356–2362, 2013. doi:10.1016/j.jbiomech.2013.07.042.
- [71] J. Hazrati, K. Ito, F. Taddei, B. van Rietbergen. Inter-individual variability of bone density and morphology distribution in the proximal femur and {T12} vertebra. *Bone*, 60:213 – 220, 2014. doi:10.1016/j.bone.2013.12.019.
- [72] J. Hazrati, K. Ito, B. van Rietbergen. A novel approach to estimate trabecular bone anisotropy from stress tensors. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 14(1):39–48, 2014. doi:10.1007/s10237-014-0584-6.
- [73] C. Hellmich, C. Kober, B. Erdmann. Micromechanics-based conversion of CT data into anisotropic elasticity tensors, applied to FE simulations of a mandible. *Annals of Biomedical Engineering*, 36(1):108–122, 2007. doi:10.1007/s10439-007-9393-8.
- [74] C. Hernandez, G. Beaupré, T. Keller, D. Carter. The influence of bone volume fraction and ash fraction on bone strength and modulus. *Bone*, 29(1):74–78, 2001. doi:10.1016/S8756-3282(01)00467-7.
- [75] T. Hildebrand, A. Laib, R. Müller, J. Dequeker, P. Rügsegger. Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bone: Microstructural data from spine, femur, iliac crest, and calcaneus. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(7):1167–1174, 1999. doi:10.1359/jbmr.1999.14.7.1167.
- [76] T. Hildebrand, P. Rügsegger. A new method for the model-independent assessment of thickness in three-dimensional images. *Journal of Microscopy*, 185(1):67–75, 1997. doi:10.1046/j.1365-2818.1997.1340694.x.
- [77] T. Hildebrand, P. Rügsegger. Quantification of bone microarchitecture with the structure model index. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 1(1):15–23, 1997. doi:10.1080/01495739708936692.
- [78] R. Hill. Elastic properties of reinforced solids: Some theoretical principles. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 11(5):357–372, 1963. doi:10.1016/0022-5096(63)90036-X.
- [79] S. Hollister, J. Brennan, N. Kikuchi. A homogenization sampling procedure for calcula-

- ting trabecular bone effective stiffness and tissue level stress. *Journal of Biomechanics*, 27(4):433–444, 1994. doi:10.1016/0021-9290(94)90019-1.
- [80] S. Hollister, D. Fyhrie, K. Jepsen, S. Goldstein. Application of homogenization theory to the study of trabecular bone mechanics. *Journal of Biomechanics*, 24(9):825–839, 1991. doi:10.1016/0021-9290(91)90308-A.
- [81] R. Huiskes. If bone is the answer, then what is the question? *Journal of Anatomy*, 197(2):145–156, 2000. doi:10.1046/j.1469-7580.2000.19720145.x.
- [82] P. A. Hulme, S. K. Boyd, P. F. Heini, S. J. Ferguson. Differences in endplate deformation of the adjacent and augmented vertebra following cement augmentation. *European Spine Journal*, 18(5):614–623, 2009. doi:10.1007/s00586-009-0910-3.
- [83] I. Hussainova, H. Ghaemi. Biobearings: where mechanics meets biology. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 57(4):232, 2008. doi:10.3176/proc.2008.4.05.
- [84] K. Janc, J. Kamiński, J. Tarasiuk, A.-S. Bonnet, P. Lipiński. Homogenization of trabecular bone microstructure based on finite element method and micro computed tomography. *WCCM XI: 11th World Congress on Computational Mechanics*, Barcelona, 2014.
- [85] K. Janc, J. Tarasiuk, A. S. Bonnet, P. Lipinski. Semi-automated algorithm for cortical and trabecular bone separation from ct scans. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 14(sup1):217–218, 2011. doi:10.1080/10255842.2011.595192.
- [86] K. Janc, J. Tarasiuk, P. Lipinski, A.-S. Bonnet, S. Wroński. Assessment of mechanical properties of bone trabeculae as an inverse problem of heterogeneous material modeling. *Archives of Mechanics*, 72(5):385–414, 2020. doi:10.24423/aom.3469.
- [87] A. John, M. Duda, G. Kokot. Wpływ kształtu endoprotezy na stan wyteżenia i odkształcenia kości udowej. *Modelowanie inżynierskie*, 44:117–124, 2012.
- [88] J. Kabel, B. van Rietbergen, A. Odgaard, R. Huiskes. Constitutive relationships of fabric, density, and elastic properties in cancellous bone architecture. *Bone*, 25(4):481 – 486, 1999. doi:10.1016/S8756-3282(99)00190-8.
- [89] J. Kamiński, B. Trzewiczek, S. Wroński, J. Tarasiuk. Automated processing of micro-ct scans using descriptor-based registration of 3d images. J. Świątek, J. Tomczak, redaktorzy, *ICSS 2016: XIX International Conference on Systems Science*, wolumen 539 serii *Advances in Intelligent Systems and Computing*. Springer International Publishing AG, 2017. doi:10.1007/978-3-319-48944-5\_7.
- [90] J. Kamiński, S. Wroński, J. Tarasiuk. Study on mechanical properties of trabecular bone based on representative three-dimensional microstructures generation and finite element method. *CMM2013: 20th international conference on Computer Methods in Mechanics*, 2013.
- [91] J. Kamiński, M. Śniechowski, S. Wroński, J. Malinowski, J. Tarasiuk. Bone tissue engineering using combined additive manufacturing and microtomography with fem verification. *ESB 2015: 27th European conference on Biomaterials*, 2015.
- [92] T. M. Keaveny, R. E. Borchers, L. J. Gibson, W. C. Hayes. Trabecular bone modulus and strength can depend on specimen geometry. *Journal of Biomechanics*, 26(8):991–1000, 1993. doi:10.1016/0021-9290(93)90059-N.
- [93] T. M. Keaveny, T. P. Pinilla, R. P. Crawford, D. L. Kopperdahl, A. Lou. Systematic and random errors in compression testing of trabecular bone. *Journal of Orthopaedic Research*, 15(1):101–110, 1997. doi:10.1002/jor.1100150115.
- [94] N. Kelly, J. P. McGarry. Experimental and numerical characterisation of the elasto-plastic properties of bovine trabecular bone and a trabecular bone analogue. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 9:184–197, 2012. doi:10.1016/j.jmbbm.2011.11.013.
- [95] K. Ken-Ichi. Distribution of directional data and fabric tensors. *International Journal of Engineering Science*, 22(2):149–164, 1984. doi:10.1016/0020-7225(84)90090-9.

- [96] R. A. Ketcham. Three-dimensional grain fabric measurements using high-resolution x-ray computed tomography. *Journal of Structural Geology*, 27(7):1217 – 1228, 2005. doi:10.1016/j.jsg.2005.02.006.
- [97] E. Klintström, B. Klintström, R. Moreno, T. B. Brismar, D. H. Pahr, Örjan Smedby. Predicting trabecular bone stiffness from clinical cone-beam CT and HR-pQCT data; an in vitro study using finite element analysis. *PLOS ONE*, 11(8):e0161101, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0161101.
- [98] E. Klintström, Örjan Smedby, R. Moreno, T. B. Brismar. Trabecular bone structure parameters from 3D image processing of clinical multi-slice and cone-beam computed tomography data. *Skeletal Radiology*, 43(2):197–204, 2013. doi:10.1007/s00256-013-1766-5.
- [99] K. Kłodowski, J. Kamiński, K. Nowicka, J. Tarasiuk, S. Wroński, M. Świątek, M. Błażewicz, H. Figiel, K. Turek, T. Szponder. Micro-imaging of implanted scaffolds using combined MRI and micro-CT. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 38(6):458–468, 2014. doi:10.1016/j.compmedimag.2014.06.014.
- [100] S. S. Kohles, J. B. Roberts. Linear poroelastic cancellous bone anisotropy: trabecular solid elastic and fluid transport properties. *Journal of Biomechanical Engineering*, 124(5):521–526, 2002. doi:10.1115/1.1503374.
- [101] B. C. W. Kot, Z. J. Zhang, A. W. C. Lee, V. Y. F. Leung, S. N. Fu. Elastic modulus of muscle and tendon with shear wave ultrasound elastography: Variations with different technical settings. *PLoS ONE*, 7(8):e44348, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0044348.
- [102] P. Kowalczyk. Elastic properties of cancellous bone derived from finite element models of parameterized microstructure cells. *Journal of Biomechanics*, 36(7):961–972, 2003. doi:10.1016/s0021-9290(03)00065-4.
- [103] P. Kowalczyk. Simulation of orthotropic microstructure remodelling of cancellous bone. *Journal of Biomechanics*, 43(3):563–569, 2010. doi:10.1016/j.jbiomech.2009.09.045.
- [104] P. A. Kowalski, J. Kamiński, S. Łukasik, J. Świebocka Więk, D. Gołńska, J. Tarasiuk, P. Kulczycki. *Application of the Flower Pollination Algorithm in the Analysis of Micro-CT Scans*, strony 1–9. Springer, 01 2019.
- [105] B. Kuipers, Y.-T. Byun. A robot exploration and mapping strategy based on a semantic hierarchy of spatial representations. *Robotics and Autonomous Systems*, 8(1-2):47–63, 1991. doi:10.1016/0921-8890(91)90014-C.
- [106] A. Latypova, G. Maquer, K. Elankumaran, D. Pahr, P. Zysset, D. P. Pioletti, A. Terrier. Identification of elastic properties of human patellae using micro-finite element analysis. *Journal of Biomechanics*, 49(13):3111–3115, 2016. doi:10.1016/j.jbiomech.2016.07.031.
- [107] P. Launeau, P.-Y. Robin. Fabric analysis using the intercept method. *Tectonophysics*, 267(1-4):91–119, 1996. doi:10.1016/S0040-1951(96)00091-1.
- [108] T. Lee, R. L. Kashyap, C. N. Chu. Building skeleton models via 3-d medial surface axis thinning algorithms. *CVGIP: Graphical Models and Image Processing*, 56:462–478, 1994. doi:10.1006/cgip.1994.1042.
- [109] T. Lekszycki. Wybrane zagadnienia modelowania w biomechanice kości. Raport Instytutowy, Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN, Warszawa, 2007.
- [110] E. Lespessailles, C. Chappard, N. Bonnet, C. L. Benhamou. Imaging techniques for evaluating bone microarchitecture. *Revue du Rhumatisme*, 73(5):435–443, 2006. doi:10.1016/j.rhum.2005.08.004.
- [111] C. Li, D. Jin, T. L. Burns, J. C. Torner, S. M. Levy, P. K. Saha. A new algorithm for cortical bone segmentation with its validation and applications to in vivo imaging. *Image Analysis and Processing – ICIAP 2013*, strony 349–358. Springer Science + Business Media, 2013. doi:10.1007/978-3-642-41184-7\_36.
- [112] Z. Lian, H. Guan, Y. Loo. Optimum degree of bone-implant contact in bone re-

- modelling induced by dental implant. *Procedia Engineering*, 14:2972–2979, 2011. doi:10.1016/j.proeng.2011.07.374.
- [113] D. Lin, Q. Li, W. Li, M. Swain. Dental implant induced bone remodeling and associated algorithms. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2(5):410–432, 2009. doi:10.1016/j.jmbbm.2008.11.007.
- [114] D. Lin, Q. Li, W. Li, S. Zhou, M. V. Swain. Design optimization of functionally graded dental implant for bone remodeling. *Composites Part B: Engineering*, 40(7):668–675, 2009. doi:10.1016/j.compositesb.2009.04.015.
- [115] T. Lindeberg. Image matching using generalized scale-space interest points. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 52(1):3–36, 2014. doi:10.1007/s10851-014-0541-0.
- [116] P. Lipinski. Skrypty do wykładu: Comportement mecanique des tissus biologiques. Ecole Nationale d'Ingénieurs de Metz, 2008. [dostęp: 14.09.2016].
- [117] W. E. Lorensen, H. E. Cline. Marching cubes: A high resolution 3d surface construction algorithm. *SIGGRAPH Comput. Graph.*, 21:163–169, 1987. doi:10.1145/37402.37422.
- [118] D. G. Lowe. Distinctive image features from scale-invariant keypoints. *International Journal of Computer Vision*, 60(2):91–110, 2004. doi:10.1023/B:VISI.0000029664.99615.94.
- [119] B. Luisier, E. Dall'Ara, D. Pahr. Orthotropic HR-pQCT-based FE models improve strength predictions for stance but not for side-way fall loading compared to isotropic QCT-based FE models of human femurs. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 32:287–299, 2014. doi:10.1016/j.jmbbm.2014.01.006.
- [120] J. Maintz, M. A. Viergever. A survey of medical image registration. *Medical Image Analysis*, 2(1):1–36, 1998. doi:10.1016/S1361-8415(01)80026-8.
- [121] J. M. Mansour. *Biomechanics of Cartilage*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2003.
- [122] G. Maquer, S. N. Musy, J. Wandel, T. Gross, P. K. Zysset. Bone volume fraction and fabric anisotropy are better determinants of trabecular bone stiffness than other morphological variables. *Journal of Bone and Mineral Research*, 30(6):1000–1008, 2015. doi:10.1002/jbmr.2437.
- [123] J. Marciniak, A. Krauze, W. Kajzer. Charakterystyka biomechaniczna układu gwoździe śródszpikowe - kość udowa z wykorzystaniem mes. *12th International Scientific Conference: Achievements in mechanical and materials engineering*, 2003.
- [124] E. H. Meijering, W. J. Niessen, M. A. Viergever. Quantitative evaluation of convolution-based methods for medical image interpolation. *Medical Image Analysis*, 5(2):111–126, 2001. doi:10.1016/S1361-8415(00)00040-2.
- [125] P. Miry. Anizotropowy model przebudowy tkanki kostnej pod wpływem działających obciążeń. Praca magisterska, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, 2015.
- [126] R. Molano, P. G. Rodríguez, A. Caro, M. L. Durán. Finding the largest area rectangle of arbitrary orientation in a closed contour. *Applied Mathematics and Computation*, 218(19):9866–9874, 2012. doi:10.1016/j.amc.2012.03.063.
- [127] R. Moreno, M. Borga, O. Smedby. Generalizing the mean intercept length tensor for gray-level images. *Medical Physics*, 39(7):4599, 2012. doi:10.1118/1.4730502.
- [128] R. Moreno, M. Borga, Örjan Smedby. *Techniques for Computing Fabric Tensors: A Review*. Springer Science + Business Media, 2014. doi:10.1007/978-3-642-54301-2\_12.
- [129] R. Moreno, Örjan Smedby, D. H. Pahr. Prediction of apparent trabecular bone stiffness through fourth-order fabric tensors. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 15(4):831–844, 2015. doi:10.1007/s10237-015-0726-5.
- [130] T. G. Morgan, M. P. Bostrom, M. C. van der Meulen. Tissue-level remodeling simulations of cancellous bone capture effects of in vivo loading in a rabbit model. *Journal of Biomechanics*, 48(5):875 – 882, 2015. doi:10.1016/j.jbiomech.2014.12.011.



- [131] T. Mori, K. Tanaka. Average stress in matrix and average elastic energy of materials with misfitting inclusions. *Acta Metallurgica*, 21(5):571 – 574, 1973. doi:10.1016/0001-6160(73)90064-3.
- [132] L. Mulder, B. van Rietbergen, N. J. Noordhoek, K. Ito. Determination of vertebral and femoral trabecular morphology and stiffness using a flat-panel c-arm-based CT approach. *Bone*, 50(1):200–208, 2012. doi:10.1016/j.bone.2011.10.020.
- [133] R. Müller, P. Rügsegger. Three-dimensional finite element modelling of non-invasively assessed trabecular bone structures. *Medical Engineering & Physics*, 17(2):126–133, 1995. doi:10.1016/1350-4533(95)91884-J.
- [134] S. Nagaraja. Spatial correlations of trabecular bone microdamage with local stresses and strains using rigid image registration. *Journal of Biomechanical Engineering*, 133(6):064502, 2011. doi:10.1115/1.4004164.
- [135] A. Natali. *Dental Biomechanics*. Taylor & Francis, 2003. doi:10.1201/9780203514849.
- [136] A. Nather. *Bone Grafts and Bone Substitutes - Basic Science and Clinical Applications*. World Scientific Publishing, 2005. doi:10.1142/5695.
- [137] U. Nations. Unece standard. bovine meat: Carcasses and cuts, 2012. [http://www.unece.org/trade/agr/standard/meat/meat\\_e.html](http://www.unece.org/trade/agr/standard/meat/meat_e.html).
- [138] S. M. Nazemi, D. M. Cooper, J. D. Johnston. Quantifying trabecular bone material anisotropy and orientation using low resolution clinical ct images: A feasibility study. *Medical Engineering & Physics*, 38(9):978–987, 2016. doi:10.1016/j.medengphy.2016.06.011.
- [139] W. Niblack. *An introduction to Digital Image Processing*. Prentice-Hall, 1986.
- [140] A. Nikodem, C. Pezowicz, J. Filipiak, A. Piątek, J. Bieżyński, Z. Kielbowicz. Effect of bisphosphonate on mechanical and structural properties of trabecular bone. *Journal of Biomechanics*, 45:S548, 07 2012. doi:10.1016/S0021-9290(12)70549-3.
- [141] E. Novitskaya, P.-Y. Chen, E. Hamed, J. Li, V. A. Lubarda, I. Jasiuk, J. McKittrick. Recent advances on the measurement and calculation of the elastic moduli of cortical and trabecular bone: a review. *Theoret. Appl. Mech.*, 38(3):209–297, 2011. doi:10.2298/tam1103209n.
- [142] M. Nowak, M. Morzyński. Simulation of trabecular bone adaptation - creating the optimal structure. *XXI International Congress of Theoretical and Applied Mechanics*, 2004.
- [143] A. Odgaard. Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone architecture. *Bone*, 20(4):315–328, 1997. doi:10.1016/S8756-3282(97)00007-0.
- [144] A. Odgaard. Quantification of cancellous bone architecture. *Bone Mechanics*, rozdział 14. CRC Press LLC, 2001. doi:10.1201/b14263-18.
- [145] A. Odgaard, H. Gundersen. Quantification of connectivity in cancellous bone, with special emphasis on 3-D reconstructions. *Bone*, 14(2):173–182, 1993. doi:10.1016/8756-3282(93)90245-6.
- [146] A. Odgaard, J. Kabel, B. van Rietbergen, M. Dalstra, R. Huiskes. Fabric and elastic principal directions of cancellous bone are closely related. *Journal of Biomechanics*, 30(5):487–495, 1997. doi:10.1016/s0021-9290(96)00177-7.
- [147] C. Ohman, M. Baleani, E. Perilli, E. Dall’Ara, S. Tassani, F. Baruffaldi, M. Viceconti. Mechanical testing of cancellous bone from the femoral head: Experimental errors due to off-axis measurements. *Journal of Biomechanics*, 40(11):2426–2433, 2007. doi:10.1016/j.jbiomech.2006.11.020.
- [148] M. Ostoja-Starzewski. Material spatial randomness: From statistical to representative volume element. *Probabilistic Engineering Mechanics*, 21(2):112–132, 2006. doi:10.1016/j.probengmech.2005.07.007.
- [149] N. Otsu. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9(1):62–66, 1979. doi:10.1109/TSMC.1979.4310076.
- [150] D. H. Pahr, H. J. Bohm. Assessment of mixed uniform boundary conditions for

- predicting the mechanical behavior of elastic and inelastic discontinuously reinforced composites. *Computer Modeling in Engineering & Sciences*, 34(2):117–136, 2008. doi:10.3970/cmcs.2008.034.117.
- [151] D. H. Pahr, F. G. Rammerstorfer. Buckling of honeycomb sandwiches: Periodic finite element considerations. *Computer Modeling in Engineering & Sciences*, 12:229–242, 2006. doi:10.3970/cmcs.2006.012.229.
- [152] D. H. Pahr, P. K. Zysset. Influence of boundary conditions on computed apparent elastic properties of cancellous bone. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 7(6):463–476, 2008. doi:10.1007/s10237-007-0109-7.
- [153] D. H. Pahr, P. K. Zysset. A comparison of enhanced continuum FE with micro FE models of human vertebral bodies. *Journal of Biomechanics*, 42(4):455–462, 2009. doi:10.1016/j.jbiomech.2008.11.028.
- [154] D. H. Pahr, P. K. Zysset. From high-resolution CT data to finite element models: development of an integrated modular framework. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 12(1):45–57, 2009. doi:10.1080/10255840802144105.
- [155] J. Panyasantisuk, D. H. Pahr, T. Gross, P. K. Zysset. Comparison of mixed and kinematic uniform boundary conditions in homogenized elasticity of femoral trabecular bone using microfinite element analyses. *Journal of Biomechanical Engineering*, 137(1):011002, 2014. doi:10.1115/1.4028968.
- [156] J. Panyasantisuk, D. H. Pahr, P. K. Zysset. Effect of boundary conditions on yield properties of human femoral trabecular bone. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 15(5):1043–1053, 2015. doi:10.1007/s10237-015-0741-6.
- [157] A. M. Parfitt, M. K. Drezner, F. H. Glorieux, J. A. Kanis, H. Malluche, P. J. Meunier, S. M. Ott, R. R. Recker. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. report of the asbmr histomorphometry nomenclature committee. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2(6):595–610, 1987. doi:10.1002/jbmr.5650020617.
- [158] E. Perilli, F. Baruffaldi, M. C. Bisi, L. Cristofolini, A. Capello. A physical phantom for the calibration of three-dimensional x-ray microtomography examination. *Journal of Microscopy*, 222(2):124–134, 2006. doi:10.1111/j.1365-2818.2006.01580.x.
- [159] N. Phansalkar, S. More, A. Sabale, M. Joshi. Adaptive local thresholding for detection of nuclei in diversity stained cytology images. *2011 International Conference on Communications and Signal Processing*. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE), 2011. doi:10.1109/ICCSP.2011.5739305.
- [160] K. Piekarski. Analysis of bone as a composite material. *International Journal of Engineering Science*, 11(6):557–565, 1973. doi:10.1016/0020-7225(73)90018-9.
- [161] W. Pistoia, B. van Rietbergen, E.-M. Lochmüller, C. Lill, F. Eckstein, P. Rügsegger. Estimation of distal radius failure load with micro-finite element analysis models based on three-dimensional peripheral quantitative computed tomography images. *Bone*, 30(6):842–848, 2002. doi:10.1016/S8756-3282(02)00736-6.
- [162] L. Podshivalov, A. Fischer, P. Bar-Yoseph. 3D hierarchical geometric modeling and multiscale FE analysis as a base for individualized medical diagnosis of bone structure. *Bone*, 48(4):693–703, 2011. doi:10.1016/j.bone.2010.12.022.
- [163] P. Popesko. *Atlas anatomii topograficznej zwierząt domowych. Miednica i kończyny*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 2008.
- [164] S. Preibisch, S. Saalfeld, J. Schindelin, P. Tomancak. Software for bead-based registration of selective plane illumination microscopy data. *Nature Methods*, 7(6):418–419, 2010. doi:10.1038/nmeth0610-418.
- [165] T. Ridler, S. Calvard. Picture thresholding using an iterative selection method. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 8(8):630–632, 1978. doi:10.1109/TSMC.1978.4310039.

- [166] B. V. Rietbergen, A. Odgaard, J. Kabel, R. Huiskes. Direct mechanics assessment of elastic symmetries and properties of trabecular bone architecture. *Journal of Biomechanics*, Volume 29(12):1653–1657, 1996. doi:10.1016/s0021-9290(96)80021-2.
- [167] R. Ruimerman. Modeling and remodeling in bone tissue. Raport instytutowy, Technische Universiteit Eindhoven, 2005.
- [168] F. A. Sabet, A. R. Najafi, E. Hamed, I. Jasiuk. Modelling of bone fracture and strength at different length scales: a review. *Interface Focus*, 6(1):20150055, 2015. doi:10.1098/rsfs.2015.0055.
- [169] J. P. Saers, Y. Cazorla-Bak, C. N. Shaw, J. T. Stock, T. M. Ryan. Trabecular bone structural variation throughout the human lower limb. *Journal of Human Evolution*, 97:97–108, 2016. doi:10.1016/j.jhevol.2016.05.012.
- [170] P. L. Salmon, C. Ohlsson, S. J. Shefelbine, M. Doube. Structure model index does not measure rods and plates in trabecular bone. *Frontiers in Endocrinology*, 6, 2015. doi:10.3389/fendo.2015.00162.
- [171] A. Sas, N. Ohs, E. Tanck, H. van Lenthe. Nonlinear voxel-based finite element model for strength assessment of healthy and metastatic proximal femurs. *Bone Reports*, 12:100263, 04 2020. doi:10.1016/j.bonr.2020.100263.
- [172] J. Sauvola, M. Pietikäinen. Adaptive document image binarization. *Pattern Recognition*, 33(2):225–236, 2000. doi:10.1016/S0031-3203(99)00055-2.
- [173] J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, V. Kaynig, M. Longair, T. Pietzsch, S. Preibisch, C. Rueden, S. Saalfeld, B. Schmid, J.-Y. Tinevez, D. J. White, V. Hartenstein, K. Eliceiri, P. Tomancak, A. Cardona. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7):676–682, 2012. doi:10.1038/nmeth.2019.
- [174] C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri. NIH image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7):671–675, 2012. doi:10.1038/nmeth.2089.
- [175] J. J. Schwiedrzik, P. K. Zysset. An anisotropic elastic-viscoplastic damage model for bone tissue. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 12(2):201–213, 2012. doi:10.1007/s10237-012-0392-9.
- [176] C. Sensen, B. Hallgrímsson. *Advanced Imaging in Biology and Medicine: Technology, Software Environments, Applications*. Springer, 2008. doi:10.1118/1.3153868.
- [177] F. Sinzinger, J. van Kerkvoorde, D. H. Pahr, R. Moreno. Predicting the trabecular bone apparent stiffness tensor with spherical convolutional neural networks. *Bone Reports*, 16:101179, 2022. doi:10.1016/j.bonr.2022.101179.
- [178] T. P. Skuban, T. Vogel, A. Baur-Melnyk, V. Jansson, B. Heimkes. Function-orientated structural analysis of the proximal human femur. *Cells Tissues Organs*, 190(5):247–255, 2009. doi:10.1159/000210065.
- [179] M. Sniechowski, J. Kamiński, M. Machniak, J. Malinowski, J. Tarasiuk. New polymeric composite biomaterials based on aperiodic structures for bone tissue engineering. *Bio-mechanics 2016: international conference of the Polish Society of Biomechanics*, 2016.
- [180] M. F. Souzauchi, P. Palacio-Mancheno, Y. A. Borisov, L. Cardoso, S. C. Cowin. Microarchitecture and bone quality in the human calcaneus: Local variations of fabric anisotropy. *Journal of Bone and Mineral Research*, 27(12):2562–2572, 2012. doi:10.1002/jbmr.1710.
- [181] P. Stefanek, A. Synek, E. Dall’Ara, D. H. Pahr. Comparison of linear and nonlinear stepwise  $\mu$ FE displacement predictions to digital volume correlation measurements of trabecular bone biopsies. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 138:105631, 2023. doi:10.1016/j.jmbbm.2022.105631.
- [182] J. Steiner, U. Hofmann, P. Christen, J. Favre, S. Ferguson, H. van Lenthe. Patient-specific in silico models can quantify primary implant stability in elderly human bone. *Journal*

- of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 36, 09 2017. [doi:10.1002/jor.23721](https://doi.org/10.1002/jor.23721).
- [183] M. Stipsitz, P. Zysset, D. Pahr. Efficient materially nonlinear  $\mu$ FE solver for simulations of trabecular bone failure. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 19, 11 2020. [doi:10.1007/s10237-019-01254-x](https://doi.org/10.1007/s10237-019-01254-x).
- [184] S. Stock. *MicroComputed tomography: Methodology and Applications*. CRC Press, 2008.
- [185] Z. Tabor. Equivalence of mean intercept length and gradient fabric tensors – 3d study. *Medical Engineering & Physics*, 34(5):598–604, 2012. [doi:10.1016/j.medengphy.2011.09.006](https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2011.09.006).
- [186] Z. Tabor, Z. Latała. 3D gray-level histomorphometry of trabecular bone - a methodological review. *Image Analysis & Stereology*, 33(1):1, 2014. [doi:10.5566/ias.v33.p1-12](https://doi.org/10.5566/ias.v33.p1-12).
- [187] Z. Tabor, R. Petryniak, Z. Latała, T. Konopka. The potential of multi-slice computed tomography based quantification of the structural anisotropy of vertebral trabecular bone. *Medical Engineering & Physics*, 35(1):7–15, 2013. [doi:10.1016/j.medengphy.2012.03.003](https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2012.03.003).
- [188] Z. Tabor, E. Rokita. Quantifying anisotropy of trabecular bone from gray-level images. *Bone*, 40(4):966–972, 2007. [doi:10.1016/j.bone.2006.10.022](https://doi.org/10.1016/j.bone.2006.10.022).
- [189] R. Tadeusiewicz, P. Korohoda. *Komputerowa analiza i przetwarzanie obrazów*. Wydawnictwo Fundacji Postępu Telekomunikacji, Kraków, 1997. [http://winntbg.bg.agh.edu.pl/skrypty2/0098/komputerowa\\_analiza.pdf](http://winntbg.bg.agh.edu.pl/skrypty2/0098/komputerowa_analiza.pdf).
- [190] M. Tomanik, A. Nikodem, J. Filipiak. Microhardness of human cancellous bone tissue in progressive hip osteoarthritis. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 64:86–93, 2016. [doi:10.1016/j.jmbbm.2016.07.022](https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.07.022).
- [191] J. Toriwaki, T. Yonekura. Euler number and connectivity indexes of a three dimensional digital picture. *FORMATOKYO*, 17(3):183–209, 2002. <http://www.scipress.org/journals/forma/pdf/1703/17030183.pdf>.
- [192] B. van Rietbergen, K. Ito. A survey of micro-finite element analysis for clinical assessment of bone strength: The first decade. *Journal of Biomechanics*, 48(5):832–841, 2015. [doi:10.1016/j.jbiomech.2014.12.024](https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2014.12.024).
- [193] B. Vasilić, C. S. Rajapakse, F. W. Wehrli. Classification of trabeculae into three-dimensional rodlike and platelike structures via local inertial anisotropy. *Medical Physics*, 36(7):3280–3291, 2009. [doi:10.1118/1.3140582](https://doi.org/10.1118/1.3140582).
- [194] P. Vieville, A. Bonnet, P. Lipiński. Modelling effective properties of composite materials using the inclusion concept. general considerations. *Archives of Mechanics*, 58(3):207 – 239, 2006. [doi:10.1016/0020-7225\(89\)90002-5](https://doi.org/10.1016/0020-7225(89)90002-5).
- [195] J. Waarsing, J. Day, J. van der Linden, A. Ederveen, C. Spanjers, N. D. Clerck, A. Sasov, J. Verhaar, H. Weinans. Detecting and tracking local changes in the tibiae of individual rats: a novel method to analyse longitudinal in vivo micro-ct data. *Bone*, 34(1):163 – 169, 2004. [doi:10.1016/j.bone.2003.08.012](https://doi.org/10.1016/j.bone.2003.08.012).
- [196] D. W. Wagner, D. P. Lindsey, G. S. Beaupre. Deriving tissue density and elastic modulus from microCT bone scans. *Bone*, 49(5):931–938, 2011. [doi:10.1016/j.bone.2011.07.021](https://doi.org/10.1016/j.bone.2011.07.021).
- [197] J. Wang. Modelling young’s modulus for porous bones with microstructural variation and anisotropy. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21:463–472, 2010. [doi:10.1007/s10856-009-3919-6](https://doi.org/10.1007/s10856-009-3919-6).
- [198] Y. Wang, Z. Wu, C. Li, C. Ma, J. Chen, M. Wang, D. Gao, Y. Wu, H. Wang. Effect of bisphosphonate on bone microstructure, mechanical strength in osteoporotic rats by ovariectomy. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 25:725, 2024. [doi:10.1186/s12891-024-07846-8](https://doi.org/10.1186/s12891-024-07846-8).

- [199] W. J. Whitehouse. The quantitative morphology of anisotropic trabecular bone. *Journal of Microscopy*, 101(2):153–168, 1974. doi:10.1111/j.1365-2818.1974.tb03878.x.
- [200] K. Wierzbowski. Skrypty do wykładu rzeczywista struktura materiałów, 2012. <http://www.ftj.agh.edu.pl/~wierzbowski/Rsm.htm>. [dostęp: 14.09.2016].
- [201] A. D. Wiles, A. Likholyot, D. D. Frantz, T. M. Peters. A statistical model for point-based target registration error with anisotropic fiducial localizer error. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 27(3):378–390, 2008. doi:10.1109/TMI.2007.908124.
- [202] A. Wit. *Analiza stanu obciążenia kości udowej człowieka w cyklu normalnego chodu z wykorzystaniem metody elementów skończonych*. Praca doktorska, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, 2023.
- [203] L. Wojnar, K. J. Kurzydłowski, J. Szala. *Praktyka analizy obrazu*. Polskie Towarzystwo Stereologiczne, 2002. [http://suw.biblos.pk.edu.pl/resources/i3/i9/i6/i4/r3964/WojnarL\\_PraktykaAnalizy.pdf](http://suw.biblos.pk.edu.pl/resources/i3/i9/i6/i4/r3964/WojnarL_PraktykaAnalizy.pdf).
- [204] J. Wolff, P. Maquet, R. Furlong. *The law of bone remodelling*. Springer-Verlag, 1986. doi:10.1007/978-3-642-71031-5.
- [205] U. Wolfram, H.-J. Wilke, P. K. Zysset. Valid micro finite element models of vertebral trabecular bone can be obtained using tissue properties measured with nano-indentation under wet conditions. *Journal of Biomechanics*, 43(9):1731–1737, 2010. doi:10.1016/j.jbiomech.2010.02.026.
- [206] D. Woo, C. Kim, D. Lim, H. Kim. Experimental and simulated studies on the plastic mechanical characteristics of osteoporotic vertebral trabecular bone. *Current Applied Physics*, 10(3):729 – 733, 2010. doi:10.1016/j.cap.2009.07.021.
- [207] S. Wronski, J. Kamiński, A. Wit, J. Tarasiuk, P. Lipinski. Anisotropic bone response based on fem simulation and real micro computed tomography of bovine bone. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 22:S465–S467, 10 2019. doi:10.1080/10255842.2020.1714983.
- [208] S. Wronski, A. Wit, J. Tarasiuk, P. Lipinski. The impact of the parameters of the constitutive model on the distribution of strain in the femoral head. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 22:1–21, 12 2022. doi:10.1007/s10237-022-01678-y.
- [209] S. Wronski, J. Kamiński, J. Tarasiuk, P. Lipiński. Anisotropic bone response simulation based on finite elements method and real micro computed tomography input data. *Biomechanics 2016: international conference of the Polish Society of Biomechanics*, 2016.
- [210] S. Yamada, S. Tadano, S. Fukuda. Nanostructure and elastic modulus of single trabecula in bovine cancellous bone. *Journal of Biomechanics*, 47(14):3482–3487, 2014. doi:10.1016/j.jbiomech.2014.09.009.
- [211] G. Yang, J. Kabel, B. V. Rietbergen, A. Odgaard, R. Huiskes, S. C. Cowin. The anisotropic hooke’s law for cancellous bone and wood. *Journal of Elasticity*, 53(2):125–146, 1998. doi:10.1023/A:1007575322693.
- [212] H. Yao. *Microstructure-based characterization and modeling of trabecular bone deformation and failure*. Praca doktorska, Southern Methodist University, 2011.
- [213] A. A. Zadpoor, H. Weinans. Patient-specific bone modeling and analysis: The role of integration and automation in clinical adoption. *Journal of Biomechanics*, 48(5):750–760, 2015. doi:10.1016/j.jbiomech.2014.12.018. In Memory of Rik Huiskes.
- [214] B. Zhou, X. S. Liu, J. Wang, X. L. Lu, A. J. Fields, X. E. Guo. Dependence of mechanical properties of trabecular bone on plate–rod microstructure determined by individual trabecula segmentation (its). *Journal of Biomechanics*, 47(3):702 – 708, 2014. doi:10.1016/j.jbiomech.2013.11.039.
- [215] P. Zioupos, R. B. Cook, J. R. Hutchinson. Some basic relationships between density values in cancellous and cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 41(9):1961–1968, 2008. doi:10.1016/j.jbiomech.2008.03.025.

- [216] P. Zysset, A. Curnier. An alternative model for anisotropic elasticity based on fabric tensors. *Mechanics of Materials*, 21(4):243–250, 1995. [doi:10.1016/0167-6636\(95\)00018-6](https://doi.org/10.1016/0167-6636(95)00018-6).
- [217] P. K. Zysset. A review of morphology–elasticity relationships in human trabecular bone: theories and experiments. *Journal of Biomechanics*, 36(10):1469–1485, 2003. [doi:10.1016/S0021-9290\(03\)00128-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9290(03)00128-3).
- [218] P. K. Zysset, E. Dall'Ara, P. Varga, D. H. Pahr. Finite element analysis for prediction of bone strength. *BoneKEy Reports*, 2, 2013. [doi:10.1038/bonekey.2013.120](https://doi.org/10.1038/bonekey.2013.120).
- [219] P. K. Zysset, R. W. Goulet, S. J. Hollister. A global relationship between trabecular bone morphology and homogenized elastic properties. *Journal of Biomechanical Engineering*, 120(5):640, 1998. [doi:10.1115/1.2834756](https://doi.org/10.1115/1.2834756).

# Publikacje autora w dyscyplinie naukowej

## Główne wskaźniki bibliometryczne z obszaru biofizyki i medycyny

- Sumaryczna liczba cytowań: 162
- Sumaryczny Impact Factor (IF): 94,6
- Liczba publikacji z Impact Factor (IF): 8
- Liczba publikacji z nadanym identyfikatorem DOI: 11
- Wskaźnik Hirscha (*h*-indeks): 5

## Artykuły w czasopismach i rozdziały w książkach w tematyce pracy

- **J. Kamiński**, A. Wit, K. Janc, J. Tarasiuk. A methodology for trabecular bone microstructure modelling agreed with three-dimensional bone properties, *ITSRCP'18 : 3<sup>rd</sup> Conference on Information Technology, Systems Research and Computational Physics. 2018. Advances in Intelligent Systems and Computing*, 945:217 – 228, Springer, Cham. 2020. [doi:10.1007/978-3-030-18058-4\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-030-18058-4_17).
- S. Wroński, **J. Kamiński**, A. Wit, J. Tarasiuk, P. Lipinski. Anisotropic bone response based on FEM simulation and real micro computed tomography of bovine bone, *44<sup>th</sup> congress of the Société de Biomécanique. 2018. Computer Methods in Biomechanics & Biomedical Engineering*, 22(sup. 1):198 – 200, 2019. [doi:10.1080/10255842.2020.1714983](https://doi.org/10.1080/10255842.2020.1714983).
- P.A. Kowalski, **J. Kamiński**, S. Łukasik, J. Świebocka-Więk, D. Goluńska, J. Tarasiuk, P. Kulczycki. Application of the Flower Pollination Algorithm in the Analysis of Micro-CT Scans, *Trends in Mathematics and Computational Intelligence. Studies in Computational Intelligence*, 796:1 – 9, Springer, Cham. 2019. [doi:10.1007/978-3-030-00485-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-00485-9_1).
- K. Kłodowski, **J. Kamiński**, K. Nowicka, J. Tarasiuk, S. Wroński, M. Świątek, M. Błażewicz, H. Figiel, K. Turek, T. Szponder. Micro-imaging of implanted scaffolds using combined MRI and micro-CT. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 38(6):458 – 468. 2014. [doi:10.1016/j.compmedimag.2014.06.014](https://doi.org/10.1016/j.compmedimag.2014.06.014).

## Publikacje i abstrakty konferencyjne w tematyce pracy

- **J. Kamiński**, B. Trzewiczek, S. Wroński, J. Tarasiuk. Automated Processing of Micro-CT Scans Using Descriptor-Based Registration of 3D Images, *Advances in Systems Science. ICSS 2016. Advances in Intelligent Systems and Computing*, 539:73 – 79. Springer, Cham. 2017. [doi:10.1007/978-3-319-48944-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48944-5_7).
- **J. Kamiński**, B. Trzewiczek, S. Wroński, J. Tarasiuk. Computer simulation of mechanical properties of bone tissue based on automated processing of micro-CT measurements and micro-FE results, *Biomechanics 2016 : International Conference of the Polish Society of Biomechanics*, 2016, Biała Podlaska, str. 129 – 130.
- S. Wroński, **J. Kamiński**, J. Tarasiuk, P. Lipinski. Anisotropic bone response simulation based on finite elements method and real micro computed tomography input data. *Biomechanics 2016 : International Conference of the Polish Society of Biomechanics*, 2016, Biała Podlaska, str. 317 – 318.
- M. Śniechowski, **J. Kamiński**, M. Machniak, J. Malinowski, J. Tarasiuk. New polymeric composite bio-

- materials based on aperiodic structures for bone tissue engineering. *Biomechanics 2016 : International Conference of the Polish Society of Biomechanics*, 2016, Białą Podlaska, str. 277 – 278.
- K. Janc, J. Tarasiuk, A.S. Bonnet, **J. Kamiński**, P. Lipiński, S. Wroński. Homogenisation model of trabecular bone tissue properties based on genetic algorithm concept and data from micro computed tomography. *Biomechanics 2016 : International Conference of the Polish Society of Biomechanics*, 2016, Białą Podlaska, str. 111 – 112.
  - **J. Kamiński**, S. Wroński, J. Tarasiuk, P. Lipinski. Experimental study and computer modeling of bone tissue behavior. *Innovative Technologies in Biomedicine : the 2<sup>nd</sup> International Conference*, 2015, Kraków, str. 19 – 20.
  - **J. Kamiński**, M. Śniechowski, S. Wroński, J. Malinowski, J. Tarasiuk. Bone tissue engineering using combined additive manufacturing and microtomography with Finite Element Method verification. *Innovative Technologies in Biomedicine : the 2<sup>nd</sup> International Conference*, 2015, Kraków, str. 41.
  - M. Śniechowski, **J. Kamiński**, S. Wroński, J. Haberko, J. Tarasiuk. Heterogeneous materials based on aperiodic structures for bone tissue substitutes. *ICCB 2015 : VI International Conference on Computational Bioengineering*, 2015, Barcelona, Hiszpania, str. 1 – 10.  
<https://congress.cimne.com/iccb2015/admin/files/FilePaper/p116.pdf>
  - **J. Kamiński**, M. Śniechowski, S. Wroński, J. Malinowski, J. Tarasiuk. Bone tissue engineering using combined additive manufacturing and microtomography with FEM verification. *ESB 2015 : 27<sup>th</sup> European conference on Biomaterials*, 2015, Kraków, str. 330.
  - K. Janc, **J. Kamiński**, J. Tarasiuk, A-S. Bonnet, P. Lipinski. Homogenisation model of trabecular bone tissue properties based on genetic algorithm concept and data from micro computed tomography. *WCCM XI ; ECCM V : 11<sup>th</sup> World Congress on Computational Mechanics ; 5<sup>th</sup> European Conference on Computational Mechanics*, 2014, Barcelona, Hiszpania, str. 1012 – 1017.  
<https://congress.cimne.com/iacm-eccomas2014/admin/files/filePaper/p2741.pdf>
  - **J. Kamiński**, S. Wroński, J. Tarasiuk. Research on biomechanical properties of trabecular bone in L-MiNT AGH-UST. *XVIII Krajowa Konferencja Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej*, 2013, Gdańsk, str. 151.
  - **J. Kamiński**, S. Wroński, J. Tarasiuk. Study on mechanical properties of trabecular bone based on representative three-dimensional microstructures generation and Finite Element Method. *CMM 2013 : 20<sup>th</sup> international conference on Computer Methods in Mechanics : Short Papers*, 2013, Poznań, str. 5 – 6.

## Pozostałe artykuły w czasopismach z obszaru biofizyki i medycyny

- J.D. Kasprzak, J. Pawłowski, J.Z. Peruga, **J. Kamiński**, P. Lipiec. First-in-man experience with real-time holographic mixed reality display of three-dimensional echocardiography during structural intervention: balloon mitral commissurotomy, *European Heart Journal*, 41(6): 801. 2019. [doi:10.1093/eurheartj/ehz127](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz127).
- J. Witowski, S. Darocha, Ł. Kownacki, A. Pietrasik, R. Pietura, M. Banaszkiwicz, **J. Kamiński**, A. Biederman, A. Torbicki, M. Kurzyna. Augmented reality and three-dimensional printing in percutaneous interventions on pulmonary arteries, *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 9(1): 23 – 29. 2019. [doi:10.21037/qims.2018.09.08](https://doi.org/10.21037/qims.2018.09.08).
- P. Rynio, J. Witowski, **J. Kamiński**, J. Serafin, A. Kazmierczak, P. Gutowski. Holographically-Guided Endovascular Aneurysm Repair, *Journal of Endovascular Therapy*, 26(4): 544 – 547. 2019. [doi:10.1177/1526602819854468](https://doi.org/10.1177/1526602819854468).
- J. Pawłowski, K. Janc, U. Kaczor, **J. Kamiński**, J.I. Kasprzak, M. Kierepka, P. Lipiec, K. Wdowiak-Okrojek, J. Witowski, D. Żebrowski, J.D. Kasprzak. Searching for ultimate cardiac data display - Mixed reality interactive visualization of three-dimensional echocardiographic datasets, *European Heart Journal*, 39(sup. 1): ehy565.P2270. 2018. [doi:10.1093/eurheartj/ehy565.P2270](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy565.P2270).
- P.R. Łodziński, P. Balsam, M. Peller, **J. Kamiński**, G. Opolski. First-in-man percutaneous pulmonary vein isolation enhanced by augmented reality system, *Polish Heart Journal*, 76(2): 475. 2018. [doi:10.5603/KP.2018.0046](https://doi.org/10.5603/KP.2018.0046).
- B. Rymuza, K. Grodecki, **J. Kamiński**, P. Scisło, Z. Huczek. Holographic imaging during transcatheter aortic valve implantation procedure in bicuspid aortic valve stenosis, *Polish Heart Journal*, 75(10): 1056. 2017. [doi:10.5603/KP.2017.0195](https://doi.org/10.5603/KP.2017.0195).



## Życiorys autora

Jakub Kamiński urodził się 23 grudnia 1988 roku w Przeworsku. Uczęszczał do klasy o profilu matematyczno-informatycznym w Liceum Ogólnokształcącym Zakonu Pijarów im. ks. Stanisława Konarskiego w Krakowie, które ukończył z wyróżnieniem. W 2007 roku rozpoczął studia I stopnia na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH w Krakowie na kierunku informatyka stosowana. Uzyskawszy bardzo dobre wyniki w nauce, od 3 roku kontynuował kształcenie w toku studiów indywidualnych pod opieką dr. hab. Jacka Tarasiuka. Praca inżynierska w dziedzinie metod numerycznych dotyczyła stworzenia oraz wdrożenia systemu skanowania 3D.

W roku akademickim 2010/2011 rozpoczął naukę na studiach II stopnia na kierunku fizyka techniczna i specjalności fizyka komputerowa. Dołączył do badań nad biomechaniką kości, odbywając w ramach współpracy naukowej kilkumiesięczny staż w ENIM w Metz we Francji. Przez cały okres studiów I i II stopnia otrzymywał stypendia za wyniki w nauce. Aktywnie działał w pracach kół wydziałowych czego rezultatem były m.in. wyróżniane podczas SSKN wystąpienia w sekcjach informatyki stosowanej, fizyki i biomechaniki, które zaowocowały wieloma nagrodami, w tym zdobyciem 1 miejsca podczas ogólnouczelnianej sesji laureatów. Studia II stopnia ukończył z wyróżnieniem w 2012 roku, otrzymując za obronioną pracę magisterską nagrodę „Diamenty AGH”, zaś podczas KBiB w Gdańsku otrzymał wyróżnienie w konkursie PTIB na najlepszą pracę magisterską z dziedziny inżynierii biomedycznej. Został również wyróżniony Nagrodą Miasta Krakowa 2013 za szczególnie wartościową pracę dyplomową.

Badania kontynuował podczas studiów III stopnia, otrzymując stypendium w ramach jednostki KNOW im. Mariana Smoluchowskiego i otworzył przewód doktorski w dyscyplinie biofizyka na WFiIS. Wyniki swoich prac publikował w czasopismach oraz prezentował na ogólnopolskich i międzynarodowych konferencjach, otrzymując nagrodę im. Jana Szmeltera za najlepszy referat prezentowany przez młodego naukowca podczas ICCMM w 2013 roku w Poznaniu. Interesuje go naukowe wykorzystanie wysokorozdzielczych technik obrazowania tomograficznego ( $\mu$ CT, CBCT, HR-pQCT) w celu analizy obrazów 3D struktur kostnych na potrzeby badania właściwości mechanicznych układu kostnego, inżynierii tkankowej i diagnostyki medycznej.

Podczas studiów był członkiem AZS AGH i grał w drużynie siatkarskiej Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej. Brał również udział w studenckich oraz doktoranckich zimowych zawodach sportowych w kategorii narciarstwa alpejskiego. Aktualnie trenuje grę w squasha oraz padla, jest również członkiem Akademickiego Koła PCK i Klubu Honorowego Dawcy Krwi przy AGH. Uzyskał dyplom szkoły muzycznej w klasie fortepianu, a rozwój muzyczny kontynuuje podczas gry na innych instrumentach (gitara, akordeon). Wolne chwile poświęca na fotografię oraz technologie 3D, w tym druk i skan przestrzenny oraz rzeczywistość rozszerzoną, co zaowocowało otrzymaniem środków finansowych w ramach 1. edycji konkursu eNgage FNP na stworzenie stanowiska pokazowego technologii 3D oraz zakwalifikowaniem do TOP30 w konkursie Microsoft Imagine Cup jako opiekun projektu do interaktywnej wizualizacji medycznej.



Akademia Górniczo-Hutnicza  
im. Stanisława Staszica w Krakowie

**AGH** Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej



---

---

**Praca doktorska**

Wersja elektroniczna

**Jakub Kamiński**

dziedzina naukowa: **nauki ścisłe i przyrodnicze**

dyscyplina naukowa: **nauki fizyczne**

**Komputerowa symulacja własności mechanicznych tkanki  
kostnej na podstawie biomechanicznego modelu kości  
w oparciu o pomiary mikrotomograficzne kości zwierzęcych**

Promotor: **dr hab. inż. Jacek Tarasiuk, prof. AGH**

Promotor pomocniczy: **dr hab. inż. Sebastian Wroński, prof. AGH**

---

---

**Kraków, wrzesień 2024**