

**Praca inżynierska**

**Natalia Milaniak**

kierunek studiów: **fizyka medyczna**

**Wyznaczanie stałych elastycznych kości gąbczastej na podstawie pomiarów tomograficznych**

Opiekun: **dr inż. Sebastian Wroński**

**Kraków, styczeń 2015**

Oświadczam, świadomy(-a) odpowiedzialności karnej za poświadczenie nieprawdy, że niniejszą pracę dyplomową wykonałem(-am) osobiście i samodzielnie i nie korzystałem(-am) ze źródeł innych niż wymienione w pracy.

.................................................................

(czytelny podpis)

**Recenzja Opiekuna**

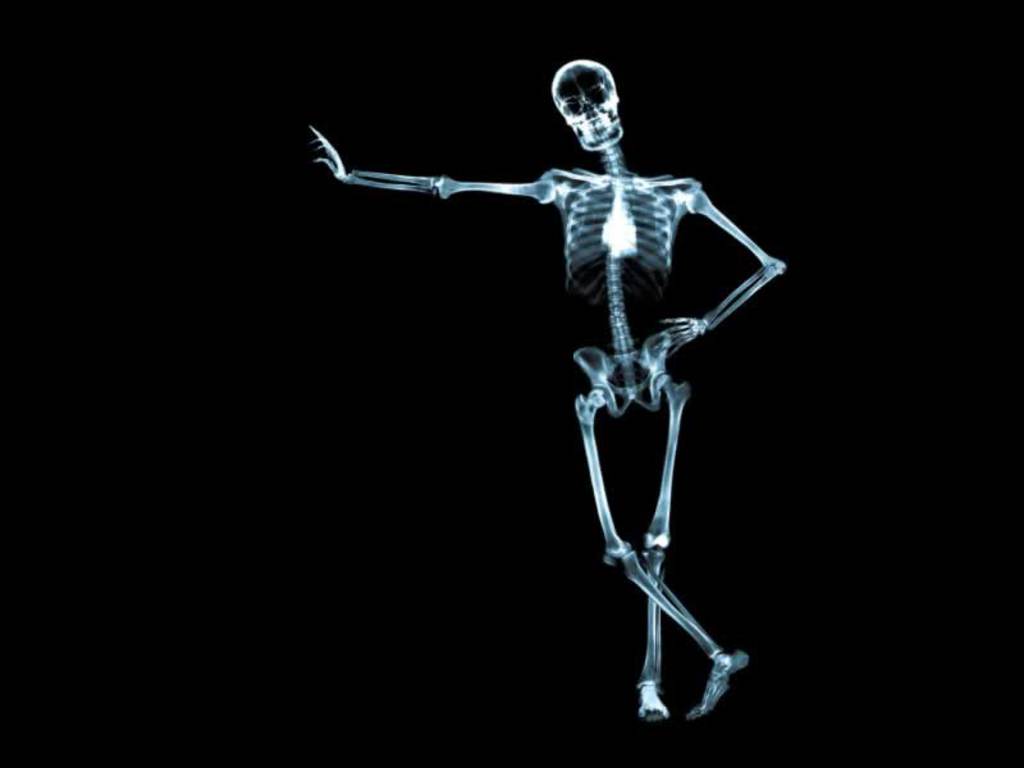
**Recenzja Recenzenta**

# Wstęp

W świecie szybko rozwijającej się technologii, ciągłego podążania za innowacjami i ułatwieniami dla ludzi, często zapomina się o najważniejszej składowej ludzkiego życia: zdrowiu. To właśnie dzięki niemu można pracować, podróżować, czy tez po prostu normalnie funkcjonować. Bez niego wszystko to byłoby nie możliwe, co więcej nawet codzienne czynności, które do tej pory nie sprawiały żadnej trudności z biegiem czasu, bądź w wyniku wypadku mogą być uciążliwe lub nawet prawie niemożliwe do wykonania. Wtedy to właśnie powinna wkroczyć nauka, zmysł inżynierski i znajomość ludzkiej anatomii – by pomóc w tych jakże fundamentalnych potrzebach – codziennym funkcjonowaniu. By jednak zabrać się za tworzenie bionicznych części ciała do zastąpienia tych niesprawnych, bądź brakujących, niezbędne jest zrozumienie jak działa ludzki organizm jako całość, a także każda jego cześć z osobna.

Celem niniejszej pracy inżynierskiej jest wyznaczanie stałych elastycznych kości gąbczastej na podstawie pomiarów tomograficznych. Temat wyznaczenia stałych elastycznych dla kości nie jest tematem nowym, natomiast sposób ich wyznaczenia jest innowacyjny. Do tej pory stosowano metody ultrasonograficzne. Dzięki wykorzystaniu urządzenia do pomiarów tomograficznych Nanotomografu –GE Nanotom S otwierają się nowe możliwości na analizę całej struktury kości, w coraz to mniejszej skali, a co za tym idzie z coraz większa dokładnością. Wyznaczanie stałych elastycznych wydaje się być sprawa trywialna w przypadku metali, natomiast jeśli praca obejmuje analizę kości, okazuje się, ze jest ona już bardziej złożona.

W celu wyznaczenia stałych elastycznych kości wykonane zostaną testy wytrzymałościowe wyciętych fragmentów kości zwierzęcych. Badana kość zostanie poddana pomiarom tomograficznym mającym na celu określenie jej struktury wewnętrznej. Dane tomograficzne posłużą do wyznaczenie porowatości, oraz innych parametrów strukturalnych takich jak połączeniowość, współczynniki anizotropii. Kość będzie ściskana w 3 prostopadłych kierunkach przy pomocy miniaturowej maszyny wytrzymałościowej podczas pomiaru tomograficznego. Otrzymane anizotropowe moduły Younga zostaną skorelowane z parametrami strukturalnymi oraz porównane z danymi literaturowymi.



# Budowa i funkcje kości

Cecha wyrozniajaca tkanke kostna od innych odmian tkanki lacznej jest występowanie w istocie miedzykomorkowej skladnikow nieorganicznych w formie krysztalow. Dlatego zaliczamy ja do tkanek zmineralizowanych, zwanych tez twardymi. Mimo dominacji istoty miedzykomorkowej, tkanka kostna, w przeciwieństwie do chrząstki wykazuje zywy metabolizm. Stanowi ona zasadniczy budulec kosci (w rozumieniu anatomicznym).

***Istota miedzykomorkowa tkanki kostnej***

Zbudowana jest ze skladnikow organicznych (30-35% masy, objetosciowo znacznie więcej) i fazy nieorganicznej (65-70% masy). Czesc organiczna tworza wlokna kolagenowe (90% składu, kolagen typu I) i macierz zlozona z proteoglikanow[[1]](#footnote-1) (glownie dekoryn[[2]](#footnote-2) i biglikanow), bialek niekolagenowych, m.in. osteonektyny[[3]](#footnote-3) i osteokalcyny[[4]](#footnote-4), fosfoprotein (osteopontyna[[5]](#footnote-5)), sialoprotein[[6]](#footnote-6), niektórych lipidow i bialek, których uwolnienie w czasie lizy kosci prowadzi do rekrutacji osteoblastów i nasilenia osteogenezy (bialka morfogenetyczne kosci).

Faza nieorganiczna zbudowana jest glownie z fosforanow wapnia tworzących krysztaly izomorficzne z dwuhydroksyapatytami[[7]](#footnote-7). Ponieważ jony wapniowe, reszty fosforanowe i grupy hydroksylowe mogą być podstawione przez inne jony lub reszty o podobnych cechach fizykochemicznych, tkanka kostna może gromadzic wiele roznych pierwiastkow. Krysztaly tkanki kostnej sa bardzi drobne (40x20x10nm), ich rozmiary leza w przedziale wielkości cząsteczek białkowych.

Istota miedzykomorkowa grupuje się w blaszki – podstawowe jednostki strukturalne tkanki kostnej. Blaszka kostna zbudowana jest z cienkich wlokien kolagenowych, wzajemnie przeplatających się, ale nietworzących peczkow i spojonych istota podstawowa. Sa one ulozone w sposób przestrzennie zorientowany (osia dluga wzdłuż wlokien kolagenowych), a z kolagenem wiaze je osteonektyna. Wystepuja dwa rodzaje blaszek ulozonych zazwyczaj naprzemiennie: blaszki o gestym układzie wlokien oraz blaszki o luźnym układzie wlokien. Pierwsze sa cieńsze, ich grubość wynosi ok. 2um i w swietle spolaryzowanym[[8]](#footnote-8) wykazują dwojlomnosc[[9]](#footnote-9) (klasycznie opisywane jako blaszki o okrężnym przebiegu wlokien). Zroznicowanie blaszek wynika z fazowego tworzenia istoty miedzykomorkowej przez komórki krwiotwórcze.

* 1. Komorki tkanki kostnej

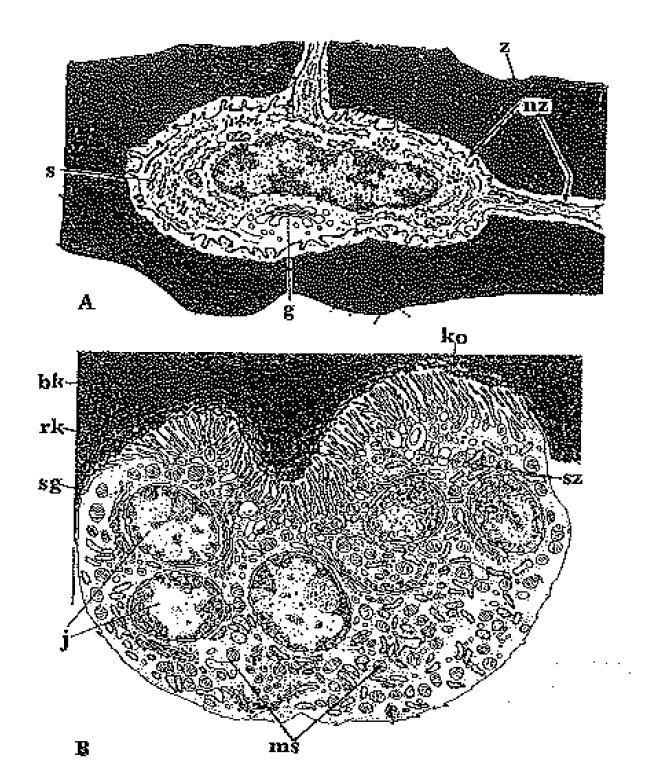
***Komorki prekursorowe (osteogenne) –*** w okresie rozwoju szkieletu przypominają wyglądem komórki mezenchymalne, w dojrzalej kosci wystepuja w okostnej, srodkostnej, wyscielaja kanaly Haversa[[10]](#footnote-10) i pokrywaja beleczki kostne w postaci jednej warstwy spłaszczonych komorek (komórki wyscielajace); dodatkowym zrodlem komorek osteogennych jest szpik kostny. Pod wpływem bodzcow indukujących tworzenie tkanki kostnej dziela ie i roznicuja w osteoblasty (w przypadku niskiego ciśnienia parcjalnego tlenu mogą roznicowac się w chondroblasty).

***Osteoblasty*** – sa komorkami produkującymi składniki organiczne blaszek kostnych i uczestniczą w procesie ich mineralizacji. Jadro osteoblastów zawiera wyraźne jąderko, a w zasadochlonnej cytoplazmie wystepuje silnie rozwinieta siateczka szorstka i aparat Golgiego. Osteoblasty leza na powierzchni zewnętrznej tworzacych się blaszek kostnych i kontaktują się z wypustkami osteocytów obecnych w najbliżej polozonych jamkach. Po wytworzeniu wlokien i macierzy, którymi się obmurowuja, przechodzą w osteocyty, których organelle ulegaja stopniowej redukcji.

Czynność osteoblastów (ich rekrutacje i aktywność wydzielnicza) stymulują hormony: parathormon[[11]](#footnote-11), hormon wzrostowy, hormon tarczycy, a także metabolity witaminy D, liczne cytokiny, w tym czynniki wzrostu i różnicowania produkwane przez komórki tkanki szpikowej oraz niektóre prostaglandyny, natomiast hamuja kortykosterydy[[12]](#footnote-12). Osteoblasty wspomagają również resorpcje kosci poprzez wydzielanie kolagenazy i stymulacje tworzenia osteoklastów.

***Osteocyty*** – stanowią podstawowy typ komorek występujących w dojrzalej tkance kostnej (ok. 2-3 x 104/mm3 tkanki). Zlokalizowane sa w jamkach lezacych w obrebie blaszek o luźnym utkaniu wlokien, sa spłaszczone i kształtem przypominają pestke sliwki. Posiadaja liczne wypustki, którymi kontaktują się z wypustkami komorek sąsiednich za pośrednictwem polaczen typu neksus[[13]](#footnote-13). Wypustki osteocytów leza w kanalikach kostnych przebijających blaszki i sa otoczone cienkim mankietem niezmineralizowanej istoty miedzykomorkowej.

Ogolna powierzchnia jamek i kanalikow przekracza 5000m2 i jest miejscem intensywnej wymiany jonow wapniowych miedz tkanka kostna a warstewka uwodnionej istoty podstawowej, otaczajacej komórki i ich wypustki; pozwala to na efektywne utrzymywanie homeostazy wapniowej. Sily mechaniczne dzialajace na kosc sciskaja krysztaly hudroksyapatytowe, co prowadzi do generowania słabego pradu elektrycznego. Otwiera on zależne od potencjalu kanaly Ca2+ w blonie osteocytów, a fala pobudzenia przenosi się na inne osetocyty i osteoblasty poprzez liczne polaczenia typu neksus. Towarzyszy temu wydzielanie przez osteocyty czynnikow regulujących czynność osteoklastów. Mechanizm ten indukuje przebudowę kosci i sprawia, ze układ jej struktur jest zgodny z kierunkiem działania obciazen mechanicznych.



Rysunek . Komorki tkanki kostnej . A. Osteocyt w jamce kostnej; s-siateczka szorstka ; g-aparat Golgiego; nz-niezmineralizowana macierz; obszar czarny (z)-zmineralizowana substancja miedzykomorkowa. B. Osteoblast; rabek koronkowy; sg-strefa gladka; sz-strefa bogata w ziarnistości i wakuole; j-jadra komórkowe; ms-region bogaty w siateczke i mitochondria; bk-beleczka kostna; ko-czesciowo odwapniona i nadtrawiona kosc

***Osteoklasty*** – sa dużymi komorkami, wielkości do 100um, zawierającymi kilka, a nawet kilkadziesiąt jader. Ich wyposazenie cytoplazmatyczne przypomina aktywna forme makrofaga, szczególnie liczne sa pęcherzyki hydrolazowe i lizosomy. Osteoklast jest komorka spolaryzowana, w jego części zwróconej do kosci można wyroznic 3 obszary:

1) powierzchniowy, wykazujący liczne, gesto ulozone pofałdowania blony komórkowej, tworzące tzw. Brzezek koronkowy, który wybitnie zwieksza powierzchnie aktywnego osteolitycznie obszaru komórki i zawiera anhydraze weglanowa[[14]](#footnote-14);

2) również powierzchniowa strefe gladka pozbawiona pofaldowan, która jest bogata w integryny[[15]](#footnote-15), zapewniające scisle polaczenie komórki z istota miedzykomorkowa. Otacza ona i uszczelnia rejon z brzeżkiem koronkowym, zapewniając w ten sposób utrzymanie odpowiedniego mikrośrodowiska dla osteolizy; w strefie tej brak jest organelli, natomiast wystepuja liczne filamenty aktynowe;

3) lezacy pomiędzy brzeżkiem koronkowym a jadrami obszar cytoplazmy bogatej w ziarnistości i wakuole. Cytoplazma po przeciwnej stronie jader zawiera większość siateczki srodplazmatycznej oraz mitochondria.

Aktywne osteoklasty leza w zagłębieniach kosci zwanych zatokami erozyjnymi. Aktywacja komórki przejawia się jej przylgnieciem do tkanki kostnej oraz zwiększeniem przemian tlenowych i beztlenowych, które prowadza do powstają pośrednich metabolitów stanowiących zrodlo protonow. Glownym zadaniem osteoklastów jest resorpcja kosci. Proces ten można umownie podzielić na kilka etapow. W pierwszym osteoklast przylega do kosci i poprzez wydzielanie protonow wywoluje lokalne zakwaszenie co prowadzi do rozpuszczenia skladnikow nieorganicznych. Odsloniete w ten sposób składowe organiczne sa w drugim etapie częściowo trawione przez wydzielone na zewnątrz enzymy lizosomowe. W trzecim etapie dochodzi do fagocytozy pofragmentowanych struktur organicznych i ich ostatecznej wewnątrzkomórkowej degradacji.

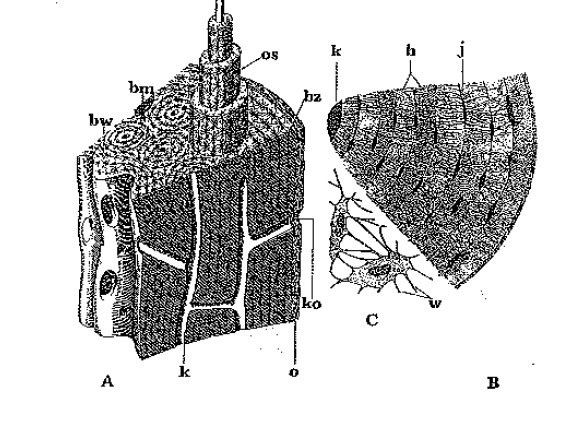
Osteoklasty powstają przez fuzje wspólnych z monocytami komorek prekursorowych szpiku (CFU-GM), nie zawierają jednak typowych dla makrofagów receptorow powierzchniowych związanych z funkcjami immunologicznymi. Aktywność osteoklastów jest regulowana działaniem hormonow i czynnikow produkowanych lokalnie. Bezpośrednie działanie hamujące maja kalcytonina i estrogeny (osteoklasty posiadaja dla nich receptory), pośrednie – produkowana przez osteoblasty osteoprotegryna[[16]](#footnote-16). Parathormon i metabolity witaminy D3 dzialaja stymulująco również za pośrednictwem osteoblastów, syntezujących pod ich wpływem czynniki powodujące powstanie osteoklastów z prekursorów lub pobudzające ich aktywność. Na czynność osteoklastów wplywaja także komórki otoczenia (szpiku) produkujące zarówno stymulatory, jak i czynniki hamujące.

# Istota zbita

Tworzy trzony kosci długich i stanowi zewnetrzna warstwę nasad oraz wszystkich kosci płaskich. Większość blaszek kosci zbitej układa się koncentrycznie wokół kanalow naczyniowych, tworząc osteony (systemy Haversa). Osteony ulozone sa swa osia dluga zgodnie z osia dluga kosci i maja postac walcow o dlugosci od kilku mm do 2-3cm (zaleznie od dlugosci naczynia biegnącego w kanale). Srednica osteonu wynosi 100-300um i zależy od średnicy kanalu (20-100um) oraz ilości otaczających go blaszek (zazwyczaj 6-15). Kolejne blaszki sa typu gęstego i luźnego; w tych ostatnich znajduja się jamki, natomiast przez blaszki geste przechodzą laczace je kanaliki. Powstaje w ten sposób system komunikacyjny umozliwiajacy przepkyw metabolitów od kanalow Haversa, a scislej od przebiegającego w nim naczynia, od obwodowych części osteonu. W jamkach zlokalizowane sa osteocyty, a w kanalikach laczace je wypustki.

Oprocz blaszek systemowych tworzących osteony w kosci zbitej wystepuja:

* blaszki międzysystemowe, które wypelniaja przestrzenie miedzy osteonami i powstają w wyniku stale zachodzącej przebudowy kosci; proces ten polega na niszczeniu jednych struktur (np. Osteonow) i tworzeniu w ich miejsce nowych. Zapewnia to pule latwo dostępnych jonow wapniowych, które sa mobilizowane przez osteocyty, ze slabo zmineralizowanej, nowo utworzonej istoty miedzykomorkowej;
* blaszki podstawowe zewnętrzne, lezace w kilku podkładach pod okostna;
* blaszki podstawowe wewnętrze, otaczajace kosc od strony jamy szpikowej. Kosc zbita pokryta jest okostna. Stanowi ona ciagla blone, nie wystepuje jedynie w obrebie stawow. Okostna zbudowana jest z dwóch warstw: warstwę zewnetrzna tworzy zbita tkanka laczna, od której odchodzą wlokna zakotwiczone okostna do kosci (wlokna Sharpeya), natomiast warstwa wewnetrzna jest luzniejsza, zawiera liczne naczynia i komórki macierzyste (osteogenne), które mogą się roznicowac w osteoblasty.



Rysunek . Budowa kosci zbitej. A. Fragment trzonu kosci długiej: os-blaszki systemowe tworzące osteon; bm-blaszki międzysystemowe; bz/bw – blaszki podstawowe wewnętrzne i zewnętrzne; k-kanal Haversa; ko-kanal odżywczy; o-okostna. B. Wycinek osteonu: k-kanal Haversa; b-blaszki kostne;j-jamka kostna z odchodzącymi od niej kanalikami kostnymi. C. Osteocyty i laczace je wypustki (w)

# Istota gąbczasta

Wystepuje w nasadach kosci długich oraz tworzy srodkoscie w kościach płaskich. Zbudowana jest z beleczek kosntych utworzonych przez rownolegle ulozone blaszki kostne, wraz z osteocytami. Grubość beleczek jest niewielka, stad osteocyty sa odżywiane poprzez kanaliki bezpośrednio od naczyń szpiku, który wypelnia przestrzenie pomiędzy beleczkami. Beleczki sa pokryte komorkami osteogennymi alo osteoblastami tworzącymi ciagla warstwę. W miejscu jej przerwania dochodzi do natychmiastowej resorpcji kosci.

* 1. **Tworzenie tkanki kostnej (kostnienie)**

Wyrozniamy dwa rodzaje kostnienia: kostnienie na podlozu mezenchymatycznym i kostnienie na podlozu chrzestnym. W obu przypadkach tkanka kostna powstaje z mezenchymy, a okresowa obecność chrząstki tworzącej pierwotny szkielet pozwala jedynie na zwiększenie szybkości procesu.

* + 1. Kostninie na podlozu mezenchymatycznym (błoniastym) dotyczy większości kosci płaskich i można je umownie podzielić na kilka etapow:

1. W mezenchymie powstają silnie unaczynione obszary

# Podstawowe pojęcia z wytrzymałości materiałów

Naprężenia i odkształcenia

Parametry materiałowe

Uogólnione prawo Hooke’a

# Własności fizyczne kości

wyznaczanie mechanicznych właściwości kości

Wartości doświadczalne parametrów wytrzymałościowych kości

Zależność między modułem Young’a, a gęstością kości

# Pomiar własności mechanicznych

Statyczna próba rozciągania obliczanie modułu Younga i innych prametrów np granicy plastyczności. wspomnieć o viscoplastyczności

# Tomografia komputerowa

Krótko jak działa i jaki daje wynik.

# Procedura przygotowania kości do pomiarów.

Tu napisać skąd są kości, że zostały czyszczone, pocięte na kawałki , dać zdjęcia kości jako całości a później, że wybrano jakieś obszary do pomiaru i z nich wycięto kostki sześcienne.

# Statyczna próba ściskania

Tu opiszemy jak ściskaliśmy kości dodamy opis ściskania a więc parametry ściskania, prędkości zdjęcia maszyny itp.

# Analiza danych eksperymentalnych

Tutaj będzie opis analizy danych a więc wyznaczanie porowatości oraz regresja liniowa można tutaj w jakimś podrozdziale opisać imageJ

# Analiza zmian wartości modułu Younga w funkcji gęstości

# Podsumowanie

# Bibliografia

1. **Proteoglikany** – wielkocząsteczkowe składniki substancji pozakomórkowej złożone z rdzenia białkowego połączonego kowalencyjnie z łańcuchami glikozaminoglikanów (siarczanu heparanu, siarczanu dermatanu, siarczanu keratanu, siarczanu chondroityny) o wysokim stopniu zróżnicowania. [↑](#footnote-ref-1)
2. **Dekoryna** – proteoglikan, jest białkiem, który jest kodowany przez gen DCN. [↑](#footnote-ref-2)
3. **Osteonektyna –** glikoproteina, u ludzi kodowana przez gen SPARC, wystepuje w kościach, gdzie wiaze jony wapnia, odgrywa wazna role w mineralizacji kosci. [↑](#footnote-ref-3)
4. **Osteokalcyna –** bialko wystepujace w tkance kostnej i zębinie, jej synteza jest Vitamin K zalezna, u ludzi kodowana przez gen BGLAP, wytwarzana jedynie przez osteoblasty. [↑](#footnote-ref-4)
5. **Osteopontyna** – fosfoproteina, u ludzi kodowana przez gen SPP1, odrywa wazna role w mineralizacji i formowaniu kosci, a także w reakcjach odpornościowych, detoksykacji i przeciwdziała apoptozie. [↑](#footnote-ref-5)
6. **Bone sialoprotein** – BSP, jest komponentem zmineralizowanych tkanek takich jak: kosci, zebina, a także wpadniona chrzastka; u ludzi wystepuje BSP 2 kodowana przez gen IBSP. [↑](#footnote-ref-6)
7. **Hydroksyapatyt** – minerał zbudowany z hydroksyfosforanu wapnia (sześcioortofosforanu(V) dwuwodorotlenku dziesięciowapnia) o wzorze chemicznym Ca10(PO4)6(OH)2 [zapisywanym też jako 3Ca3(PO4)2•Ca(OH)2)]. Stanowi mineralne rusztowanie tkanki łącznej, odpowiedzialnej za mechaniczną wytrzymałość kości. [↑](#footnote-ref-7)
8. **Polaryzacja** – właściwość fali poprzecznej polegająca na zmianach kierunku oscylacji rozchodzącego się zaburzenia w określony sposób. [↑](#footnote-ref-8)
9. **Dwójłomność** - zjawisko anizotropii optycznej kryształów odkryte w 1669 przez Duńczyka E. Bartholina. W kryształach wykazujących zjawisko dwójłomności (np. szpat islandzki, kwarc, cyrkon, lód, beryl itd.) światło załamując się, rozszczepia się na dwa promienie: zwyczajny i nadzwyczajny. [↑](#footnote-ref-9)
10. [↑](#footnote-ref-10)
11. [↑](#footnote-ref-11)
12. [↑](#footnote-ref-12)
13. **Neksus** – polaczenie synaps, typu elektrycznego, gdzie neurony niemal całkowicie się stykaja [↑](#footnote-ref-13)
14. [↑](#footnote-ref-14)
15. [↑](#footnote-ref-15)
16. [↑](#footnote-ref-16)